

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Infeções urinárias nosocomiais e na comunidade

Miriam de Fátima Luís Varela

Relatório de estágio orientado pela Prof. Doutora Maria Isabel Nobre Franco de Portugal Dias Jordão e coorientada pela Doutora Cristina Maria Rodrigues Rosa Ferreira Gomes

Mestrado em Análises Clínicas

2023

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Infeções urinárias nosocomiais e na comunidade

Miriam de Fátima Luís Varela

Relatório de estágio orientado pela Prof. Doutora Maria Isabel Nobre Franco de Portugal Dias Jordão e coorientada pela Doutora Cristina Maria Rodrigues Rosa Ferreira Gomes

Mestrado em Análises Clínicas

2023

Agradecimentos

E já se passaram dois anos de Análises Clínicas que para além de terem sido muito bons requereram muito esforço, empenho e dedicação. Gostaria de agradecer a algumas pessoas que me acompanharam e foram fundamentais durante esta etapa. A essas pessoas, expresso aqui, através de palavras sinceras, a importância que tiveram na conquista que foi a realização do meu Projeto final de curso. Para todas elas, o meu mais profundo e sincero obrigado!

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora de Projeto, a Professora Doutora Maria Isabel Nobre Franco de Portugal Dias Jordão, por me ter dado a mão neste projeto, um muito obrigado pela sua orientação.

Aos meus pais, que são os meus principais impulsionadores e que permitiram que tudo isto fosse possível, um enorme obrigada por acreditarem sempre em mim e por estarem sempre do meu lado em todos os momentos. Espero dar-vos sempre motivos para se orgulharem de mim. Um enorme obrigado à minha família!

Às minhas amigas, Filipa e Patrícia, um especial agradecimento por terem sido os meus pilares, não só ao longo da realização deste Projeto, como também no estágio.

Ao meu namorado, Miguel Santa Maria, por todo o apoio, amizade, amor e também paciência, um muito obrigado. Obrigado por me ajudares a manter o foco e por me mostrares aquilo que realmente é importante e, principalmente, por teres acreditado sempre que eu iria conseguir.

Aos restantes amigos que de alguma forma contribuíram para a realização deste Projeto e percurso académico, um muito obrigado!

Obrigado a todos por tudo!

Declaro ter desenvolvido e elaborado o presente trabalho em consonância com o Código de Conduta e de Boas Práticas da Universidade de Lisboa. Mais concretamente, afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de fraude académica, que aqui declaro conhecer, e que atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, assumindo na íntegra as responsabilidades da autoria.

Resumo

O estágio descrito neste relatório integra o plano de estudos do Mestrado em Análises Clínicas pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa e decorreu no Laboratório Lumilabo, A.P., nas áreas Pré-Analítica, Bioquímica/Endocrinologia, Microbiologia e Hematologia.

Este relatório apresenta um resumo da experiência e conhecimentos adquiridos ao longo de seis meses, e descreve: os produtos biológicos, a execução dos parâmetros analíticos, as metodologias, sistemas e equipamentos utilizados. Refere ainda os procedimentos para a implementação do Controlo de Qualidade Interno e Avaliação Externa da Qualidade.

O estágio realizado foi fundamental para colocar em prática e aprofundar conhecimentos teóricos adquiridos durante o mestrado, aprender a execução de metodologias e adquirir experiência profissional na área das Análises Clínicas.

Neste documento é também apresentada, no âmbito da área da Microbiologia, uma monografia, com o título: Infecções urinárias nosocomiais e na comunidade.

As Infecções do Trato Urinário (ITUs) são um problema de saúde comum e significativo que afeta tanto o ambiente hospitalar quanto a comunidade em geral e estão associadas a elevados custos económicos. Esta monografia fornece uma visão geral das ITUs, incluindo as suas causas, sintomas, métodos de diagnóstico, opções de tratamento e medidas preventivas.

As ITUs ocorrem quando bactérias ou outros agentes patogénicos entram no trato urinário. O agente causador mais comum é a *Escherichia coli* (*E. coli*), embora outras bactérias, como *Klebsiella*, *Proteus* e *Enterococcus*, também possam estar envolvidas. Os fatores de risco para ITUs incluem o género feminino, afetam cerca de 50% das mulheres em algum momento das suas vidas sendo menos frequentes em homens, atividade sexual, anomalias do trato urinário, uso de cateteres e função imunológica comprometida.

As cistites agudas não complicadas são as ITU mais comuns em oposição às pielonefrites. Quando há o aparecimento de infeções em crianças, mulheres pós-menopáusicas, grávidas, imunodeficientes, diabéticos ou portadores de uropatias (refluxo vesico-ureteral, disfunção vesical neurogénica, cateteres urológicos) as ITU são consideradas complicadas.

Os sintomas das ITUs variam, mas geralmente incluem micção frequente, urgência intensa de urinar, ardor ou dor durante a micção, urina turva ou com sangue e dor abdominal inferior. Em casos mais graves, pode haver febre e dor lombar, indicando uma possível infeção renal.

Para diagnosticar uma ITU, é recolhida uma amostra de urina para análise e cultura. A análise de urina examina as propriedades físicas e químicas da urina, como pH, presença de células sanguíneas e bactérias. A cultura de urina é realizada para identificar as bactérias específicas causadoras da infecção e determinar a sua suscetibilidade aos antibióticos.

O tratamento das ITUs geralmente envolve um curso de antibióticos com base no patógeno identificado e no seu perfil de suscetibilidade. Antibióticos comumente prescritos incluem trimetoprim-sulfametoxazol, nitrofurantoína e ciprofloxacina. É importante completar todo o curso de antibióticos para garantir a erradicação da infecção e prevenir recorrências.

A resistência aos antibióticos pode ocorrer se a bactéria possuir características estruturais ou enzimáticas que levam à resistência de um determinado antibiótico ou pode ser uma resistência adquirida.

Medidas preventivas para ITUs incluem manter uma boa higiene pessoal, beber uma quantidade adequada de água, urinar com frequência, esvaziar a bexiga antes e depois da atividade sexual, evitar o uso de produtos de higiene feminina irritantes e usar roupas íntimas que permitam a respiração. A prevenção depende de fatores do próprio paciente como também de fatores externos sendo assim ainda difícil prevenir as infecções do trato urinário.

Em conclusão, as ITUs são uma condição comum que pode causar desconforto significativo e complicações se não for tratada adequadamente. Compreender as causas, sintomas, métodos de diagnóstico, opções de tratamento e medidas preventivas é essencial para o manejo eficaz e prevenção das infecções do trato urinário.

Palavras-chave: Pré-Analítica, Bioquímica, Endocrinologia, Microbiologia, Hematologia, Infecções urinárias, Infecções do Trato Urinário (ITUs), Causas, Sintomas, Diagnóstico, Tratamento, Prevenção, *Escherichia coli* (*E. coli*), Bactérias, Urina, Antibióticos.

Abstract

The internship described in this report is part of the study plan for the Master's Degree in Clinical Analysis at the Faculty of Pharmacy of the University of Lisbon and took place at the Lumilabo Laboratory, A.P., in the Pre-Analytical, Biochemistry/Endocrinology, Microbiology, and Hematology areas.

This report presents a summary of the experience and knowledge acquired over six months, and it describes: the biological products, the execution of analytical parameters, the methodologies, systems, and equipment used. It also refers to the procedures for implementing Internal Quality Control and External Quality Assessment.

The internship was crucial to put into practice and deepen the theoretical knowledge acquired during the master's degree, learn the execution of methodologies, and gain professional experience in the field of Clinical Analysis.

This document also includes, within the scope of the Microbiology field, a monograph titled: Nosocomial and Community-Acquired Urinary Tract Infections.

Urinary Tract Infections (UTIs) are a common and significant health problem that affects both the hospital environment and the general community, and are associated with high economic costs. This monograph provides an overview of UTIs, including their causes, symptoms, diagnostic methods, treatment options, and preventive measures.

UTIs occur when bacteria or other pathogens enter the urinary tract. The most common causative agent is *Escherichia coli* (*E. coli*), although other bacteria such as *Klebsiella*, *Proteus*, and *Enterococcus* may also be involved. Risk factors for UTIs include female gender, affecting about 50% of women at some point in their lives and being less common in men, sexual activity, urinary tract abnormalities, catheter use, and compromised immune function.

Acute uncomplicated cystitis is the most common type of UTI, as opposed to pyelonephritis. When infections occur in children, postmenopausal women, pregnant women, immunocompromised individuals, diabetics, or individuals with uropathies (vesicoureteral reflux, neurogenic bladder dysfunction, urological catheters), UTIs are considered complicated.

The symptoms of UTIs vary but generally include frequent urination, intense urgency to urinate, burning or pain during urination, cloudy or bloody urine, and lower abdominal pain. In more severe cases, there may be fever and back pain, indicating a possible kidney infection.

To diagnose a UTI, a urine sample is collected for analysis and culture. Urinalysis examines the physical and chemical properties of urine, such as pH, presence of blood cells and bacteria. Urine culture is performed to identify the specific bacteria causing the infection and determine their susceptibility to antibiotics.

The treatment of UTIs usually involves a course of antibiotics based on the identified pathogen and its susceptibility profile. Commonly prescribed antibiotics include trimethoprim-sulfamethoxazole, nitrofurantoin, and ciprofloxacin. It is important to complete the entire course of antibiotics to ensure eradication of the infection and prevent recurrences.

Antibiotic resistance can occur if the bacteria possess structural or enzymatic characteristics that lead to resistance to a particular antibiotic or it can be acquired resistance.

Preventive measures for UTIs include maintaining good personal hygiene, drinking an adequate amount of water, urinating frequently, emptying the bladder before and after sexual activity, avoiding the use of irritating feminine hygiene products, and wearing breathable underwear. Prevention depends on factors related to the patient themselves as well as external factors, making it still challenging to prevent urinary tract infections.

In conclusion, UTIs are a common condition that can cause significant discomfort and complications if not properly treated. Understanding the causes, symptoms, diagnostic methods, treatment options, and preventive measures is essential for the effective management and prevention of urinary tract infections.

Keywords: Pre-Analytical, Biochemistry, Endocrinology, Microbiology, Hematology, Urinary Tract Infections, Urinary Tract Infections (UTIs), Causes, Symptoms, Diagnosis, Treatment, Prevention, *Escherichia coli* (*E. coli*), Bacteria, Urine, Antibiotics.

Lista de abreviaturas

Relatório de Estágio

AEQ Avaliação Externa da Qualidade

AGJ Anomalia de Glicemia de Jejum

ALP Fosfatase Alcalina

ALT Alanina Aminotransferase

aPTT Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada, do inglês *Activated Partial Thromboplastin Time*

ATCC *American Type Culture Collection*

BASO Basófilos

CEA Antígeno carcinoembrionário

CIVD Coagulação Intravascular Disseminada

CHGM Concentração de Hemoglobina Globular Média

CMIA Micropartículas por Quimioluminescência

CMV Citomegalovírus

CQI Controle de Qualidade Interno

DGS Direção-Geral da Saúde

DIG Diagnóstico Imunológico de Gravidez

DNA Ácido Desoxirribonucleico, do inglês *Desoxyribonucleic acid*

ECLIA Eletroquimioluminescência

EDTA Ácido etilenodiamino tetra-acético

EIC Entidade Internacional de Certificação

ELISA *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*

ETAR Estação de Tratamento de Águas Residuais

FSC Dispersão Frontal da Luz, do inglês *Forward Scatter*

GGT Gama-glutamil transferase

Hb Hemoglobina

HbA Hemoglobina A

HbA1c Hemoglobina Glicada

HbF Hemoglobina Fetal

hCG Gonadotropina Coriônica Humana

HDL Lipoproteína de alta densidade, do inglês *High Density Lipoprotein*

HFR Reticulócitos de alta fluorescência, do inglês *High Fluorescence Reticulocyt*

HGM Hemoglobina Globular Média

HPLC Cromatografia Líquida de Alta Resolução

HTC Hematócrito

IFR Fração de Reticulócitos Imaturos, do inglês *Immature Fluorescence*

Reticulocyt

Ig Imunoglobulina

INR Razão Normalizada Internacional

INSA, I.P. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.

ISE Eléctrodo Seletivo de Iões, do inglês *Ion-Selective Electrode*

ISO Organização Internacional de Normalização, do inglês *International*

Organization for Standardization

LAC Laboratório de Análises Clínicas

LFR Reticulócitos de baixa fluorescência, do inglês *Low Fluorescence*

Reticulocyt

LDL Lipoproteínas de Baixa Densidade, do inglês *Low Density Lipoprotein*

MBL Manual de Boa Práticas Laboratoriais

MFR Reticulócitos de Média Fluorescência, do inglês *Medium Fluorescence*

Reticulocyt

NEQAS *United Kingdom External Quality Assessment Schemes*

PCC1 PreciControl ClinChem Multi I

PCC2 PreciControl ClinChem Multi II

PCR Proteína C reativa

PDW Coeficiente de Dispersão Plaquetária, do inglês *Platelet Distribution*

Width

PLT Plaquetas

PSOF Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes

PTGO Prova de Tolerância à Glicose Oral

RBC Eritrócitos, do inglês *Red Blood Cell*

RDW Coeficiente de Dispersão Eritrocitária, do inglês *Red Cell Distribution*

Width

RET Reticulócito

Rh Rhésus

RIQAS Randox International Quality Assessment Schemes

Rpm Rotações por minuto

RNA Ácido Ribonucleico, do inglês *Ribonucleic acid*

SFL Fluorescência Lateral da luz, do inglês *Side Fluorescence*

SGQ Sistema de Gestão da Qualidade

SLS Lauril Sulfato de Sódio

SRC Síndrome da Rubéola Congénita

SSC Difusão Lateral da luz, do inglês *Side Scatter*

T3 Tiroxina

T4 Triiodotironina

TA Temperatura Ambiente

TDJ Tolerância Diminuída à Glicose

TP Tempo de Protrombina

TSA Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

TSH Hormona Estimulante da Tireoide

UA Urina Asséptica

VLDL Lipoproteína de muito baixa densidade, do inglês *Very Low Density*

Lipoprotein

VGM Volume Globular Médio

VS Velocidade de Sedimentação

WBC Leucócito, do inglês *White Blood Cell*

Infeções urinárias nosocomiais e na comunidade

ASB Bacteriúria assintomática

BPH Hiperplasia benigna da próstata (em inglês, *Benign prostatic hyperplasia*)

CAUTI Infeções do trato urinário associada a cateter

CNF1 Fator Necrosante Citotóxico 1 (em inglês, *Cytotoxic Necrotizing Factor 1*)

Mestrado em Análises Clínicas

CV Cateter Vesical

CXCR1 e CXCR2 Recetor de quimiocina 1 e 2 (em inglês, *C-X-C chemokine receptor 1 e C-X-C chemokine receptor 2*)

ECDC Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças e a Organização Mundial da Saúde (em inglês, *European Centre for Disease Prevention and Control*)

E.coli *Escherichia coli*

EUCAST Comitê Europeu de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana (em inglês, *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*)

GPIU Estudo de Prevalência de Infecções em Urologia

HAUTIs Infecções do Trato Urinário Adquiridas no Hospital (em inglês, *Hospital-Acquired Urinary Tract Infections*)

HIV Vírus da Imunodeficiência Humana

HlyA Hemolisina A

IDSA *Infectious Disease Society of America*

IL-6/ IL-8 Interleucina 6/ 8

IgA Imunoglobulina A

ITU Infecção do trato urinário

MIC Concentração inibitória mínima (em inglês, *Minimum inhibitory concentration*)

MRSA Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

PSP Punção Suprapúbica

TLR4 Toll-like receptor 4

TSA Teste de sensibilidade aos antibióticos

UPEC *Escherichia coli* Uropatogénica

Índice

Agradecimentos	I
Resumo	II
Abstract	V
Lista de abreviaturas	VII
Lista de Figuras	XIV
Lista de Tabelas	XV
Parte I – Relatório de estágio	XVI
Objetivo	- 12 -
Caracterização do Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo	- 12 -
Missão	- 13 -
Visão	- 13 -
Valores.....	- 13 -
Higiene e Segurança	- 14 -
Gestão de Resíduos.....	- 14 -
Controlo da qualidade	- 16 -
Controlo da qualidade interno	- 17 -
Química Clínica e Endocrinologia	- 17 -
Microbiologia	- 18 -
Hematologia	- 18 -
Avaliação Externa da Qualidade	- 20 -
Química Clínica e Endocrinologia	- 21 -
Microbiologia	- 21 -
Hematologia	- 21 -
Fase pré-analítica	- 22 -
.....	- 23 -
Colheita de Amostras Biológicas.....	- 24 -
Colheita de Sangue	- 25 -
Colheita de Urina	- 26 -
Colheita de Exsudado	- 26 -
Colheita de fezes	- 28 -
Critérios de rejeição de amostras biológicas.....	- 29 -

Triagem.....	- 30 -
Fase Analítica.....	- 31 -
Bioquímica e Endocrinologia	- 32 -
Ionograma	- 35 -
Avaliação do Metabolismo dos Hidratos de Carbono	- 36 -
Hemoglobina Glicada (HbA1c).....	- 38 -
Avaliação do Metabolismo Lipídico.....	- 39 -
Avaliação das Proteínas	- 42 -
Avaliação da Função Hepática.....	- 44 -
Avaliação da Função Renal.....	- 47 -
Avaliação da Função Pancreática	- 49 -
Avaliação do Metabolismo do Ferro.....	- 50 -
Sistema endócrino	- 52 -
Metabolismo Mineral-Ósseo	- 57 -
Rastreamento de doenças infecciosas na gravidez	- 58 -
Análise Sumária de Urina	- 61 -
Diagnóstico Imunológico da Gravidez (DIG)	- 66 -
Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes (PSOF).....	- 66 -
Eletroforese de Proteínas	- 67 -
Microbiologia.....	- 69 -
Marcha Laboratorial em Microbiologia.....	- 69 -
Exame Microscópico	- 69 -
Exame Cultural	- 72 -
Teste de Sensibilidade aos Antibióticos (TSA)	- 75 -
Testes de Identificação Presuntiva.....	- 76 -
Exsudado Faríngeo.....	- 77 -
Exsudado Nasal	- 78 -
Exsudado Vaginal e Uretral.....	- 78 -
Urocultura	- 79 -
Coprocultura	- 80 -
Hematologia	- 81 -
Hemograma	- 81 -
Velocidade de Sedimentação	- 88 -
Eletroforese de Hemoglobinas	- 89 -
Avaliação da Hemostase e Coagulação	- 90 -
Imunohematologia.....	- 93 -

Fase Pós-Analítica	- 96 -
Conclusão	- 97 -
Parte II - Infecções urinárias nosocomiais e na comunidade	- 98 -
Introdução	- 99 -
Infeções urinárias.....	- 99 -
Classificação das Infecções do Trato Urinário	- 101 -
Cistite aguda não complicada.....	- 102 -
Pielonefrite	- 102 -
Infecções urinárias nosocomiais.....	- 102 -
Epidemiologia	- 103 -
Etiopatogenia	- 104 -
Fatores do hospedeiro	- 109 -
Fatores bacterianos.....	- 111 -
Mecanismos de defesa	- 111 -
Mecanismos de virulência	- 112 -
Sintomatologia	- 113 -
Diagnóstico das infecções do trato urinário	- 114 -
Análises da Urina	- 116 -
Tiras-teste.....	- 116 -
Urocultura	- 116 -
Hemocultura.....	- 118 -
Imagiologia	- 118 -
Bioluminescência	- 118 -
Sistema de classificação para as ITU	- 119 -
Cistite Aguda não complicada	- 120 -
Pielonefrite Aguda	- 121 -
Tratamento	- 122 -
Cistite não complicada	- 124 -
Pielonefrite	- 124 -
Resistências aos antibióticos	- 125 -
Resistências em bactérias de Gram-negativo.....	- 126 -
Prevenção	- 127 -
Conclusão	- 129 -
Referências Bibliográficas	- 130 -

Lista de Figuras

Figura 1 – Fluxograma referente ao Processo Pré-Analítico do Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo S.A.....	-23-
Figura 2 -Figura 2 - Equipamento Cobas® 6000 Modular Analyzer Series, da Roche Diagnostics.....	-32-
Figura 3 -- Equipamento Architect i2000 SR, da Abbott.....	-33-
Figura 4 - Equipamento VIDAS®, da bioMérieux.....	-34-
Figura 5 - Equipamento D-10TM Hemoglobin Testing System, da Bio Rad®.....	-38-
Figura 6 – Aparelho UC-MAX, da Menarini Diagnóstics.....	-63-
Figura 7 – Aparelho HM-JACKarc da A. MENARINI diagnostics. Adaptado de (67).....	-67-
Figura 8 - Gráfico de corrida eletroforética normal. Adaptado de (69).....	-67-
Figura 9 - Equipamento V8 NEXUS da Helena Biosciences.....	-68-
Figura 10 - Representação esquemática de técnicas de sementeira: a) por quadrantes e da b) para quantificação de colónias (urina). c) para a realização do teste de sensibilidade a antibióticos. Adaptado de (70).....	-74-
Figura 11 - Aspeto Macroscópico das Colónias, β -hemólise (hemólise total), α -hemólise (hemólise parcial) e γ -hemólise. Adaptado de (70).....	-75-
Figura 12- Resultado positivo para Streptococcus β -hemolíticos quando ocorre aglutinação em menos de dois minutos.....	-77-
Figura 13 - Analisador Hematológico Sysmex XT-2000iTM.....	-83-
Figura 14- Método Citometria de Fluxo de Fluorescência. Adaptado de (80).....	-84-
Figura 15- Diagrama de dispersão do canal RET com distribuição celular normal. (78).....	-86-
Figura 16 - Equipamento da Alifax Test1 THL.....	-89-
Figura 17 - Equipamento hematológico STA Compact®, da Stago.....	-91-

Figura 18 - Exemplo de um cartão DiaClon ABD– Confirmation for patients, da Bio-Rad®. Adaptado de (97).....-94-

Figura 19 - Exemplo de cartão Liss/Coombs ID-Card, da Bio-Rad®. Adaptado de (105).....-95-

Figura 20 - Diferentes fatores e características entre a cistite vs pielonefrite. Adaptado de (5).....-100-

Figura 21 - Prevalência de espécies bacterianas uropatogénicas nos vários tipos de ITU. CoNS – Estafilococos coagulase negativo. Adaptado de (33).....-106-

Figura 22 - Aspectos fisiopatológicos da ITU complicada e da pielonefrite. Adaptado de (35,41). CAUTIs, ITUs associadas a cateter; HAUTIs, ITUs associadas aos cuidados de saúde.....-108-

Figura 23 - Fatores que podem levar a infeção do trato urinário. Adaptado de (27).....-109-

Figura 24 - Mecanismos de virulência na ITU. Adaptado de (40).....-113-

Figura 25 – Confirmação do diagnóstico de uma ITU. Adaptado de (8).....-115-

Figura 26 – Definição alternativa e sistema de classificação para as ITU (60).....-119-

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Triagem e acondicionamento de resíduos do laboratório Lumilabo. (Adaptado de (3)). - 15 -

Tabela 2 - Tipos de Meios de Cultura. Adaptado de (76). - 73 -

Tabela 3 – Sintomas da cistite vs pielonefrite. - 113 -

Tabela 4 – Contagens de Kass, realização da colheita e se se considera bacteriúria. Adaptado de (157)..... - 117 -

Tabela 5 – Características do antibiótico vs eficácia clínica. (172–174) - 122 -

Tabela 6 – Antibióticos para o tratamento da cistite aguda não complicada..... - 124 -

Tabela 7 - Tratamento em ambulatório para doentes com pielonefrite. Adaptado de (180). - 124 -

Parte I – Relatório de estágio

Introdução

O relatório de estágio foi realizado tendo como base o estágio curricular que foi proporcionado pelo Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia, da Universidade de Lisboa.

Decorreu no Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A., sob a tutoria da Dr.^a Cristina Ferreira Gomes, especialista em Análises Clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos.

O presente relatório de Estágio pretende fazer uma apresentação do local onde decorreram os estágios, descrever as atividades desenvolvidas nas três fases fundamentais de um laboratório de análises clínicas – as fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica e realçar a importância do controlo de qualidade interno (CQI) e da avaliação externa da qualidade (AEQ).

Serão destacadas as atividades realizadas em cada valência, bem como o tipo de produto biológico necessário para a análise dos diferentes parâmetros analíticos, quais os equipamentos utilizados ou técnicas manuais desenvolvidas e o fundamento dos métodos.

Objetivo

O estágio curricular tem como principal objetivo a aprendizagem e consolidação de conhecimentos, assim como adquirir capacidade de execução das tarefas diárias num Laboratório clínico.

Caracterização do Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo

O Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A. foi fundado em 1980, em Santo António dos Cavaleiros. Desde cedo, mostrou ser uma empresa promissora, com uma administração dinâmica, que sempre apostou na inovação e na procura de uma constante melhoria dos serviços prestados (1).

Em 1993, com o aumento das exigências, e com a aposta no carácter e nas potencialidades da organização, a administração adquiriu instalações no centro de Lisboa, transferindo a Sede para esse local (1).

Em 2005, o Laboratório Lumilabo transferiu a sua sede para a Avenida Columbano Bordalo Pinheiro, em Lisboa. Com automatização dos processos e a aquisição de equipamentos topo de

gama e softwares de última geração foi possível não só melhorar a comodidade dos seus clientes, como também a qualidade dos resultados fornecidos (1).

Missão

O Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A. garante aos seus clientes um serviço de diagnóstico de elevada qualidade, empenhando-se na valorização dos recursos humanos e materiais (2).

Visão

O Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A. pretende ser uma referência no sector das Análises Clínicas (2).

Valores

- Procura constante da satisfação das necessidades do cliente, através de atendimento personalizado, técnicos de colheita treinados, equipamentos topo de gama, resultados fiáveis que levam a um diagnóstico rápido e exato;
- Formação contínua da sua equipa de trabalho, levando a uma melhor execução técnica e estimulando a procura do conhecimento na área da saúde;
- Segurança dos resultados obtidos, através do cumprimento de normas de Boas Práticas Laboratoriais, da legislação nacional e internacional, monitorização e Melhoria Contínua da Qualidade;
- Evolução continuada do sistema informático, automatizando os processos pré-analítico, analítico e pós-analítico, reduzindo ao máximo a intervenção humana e permitindo a monitorização e evidência em todas as fases dos processos;
- Garantia da qualidade dos resultados fornecidos, através de: programa de controlo de qualidade interno e externo (nacional e internacional) criteriosamente selecionado e exigente;
- Rigor na escolha de fornecedores de equipamentos e reagentes (2).

Higiene e Segurança

No Laboratório existe um procedimento de Higiene e Segurança com o objetivo de minimizar o risco de acidentes e estabelecer normas que garantam a proteção pessoal dos profissionais, que contempla os requisitos para a segurança de pessoas e instalações, planos de emergência, tratamento de resíduos, requisitos para a limpeza das instalações, bem como para a lavagem e esterilização de materiais.

De acordo com o Despacho conjunto n.º242/96 de 5 de julho bem como a Portaria n.º 209/2004 de 3 de março são assim classificados os resíduos hospitalares na gestão de resíduos do Laboratório (3,4).

O Manual de Higiene e Segurança no Trabalho, do laboratório Lumilabo, S.A., foi elaborado com o intuito de fomentar um ambiente de trabalho protegido (2).

Gestão de Resíduos

De acordo com a Portaria n.º 209/2004 (Lista de Resíduos), de 3 de março, os resíduos hospitalares são classificados em quatro grupos. Na Tabela 1, encontra-se uma descrição sucinta de cada grupo de resíduos e dos métodos de acondicionamento e eliminação dos mesmos, com base no Manual de Higiene e Segurança no Trabalho do Laboratório Lumilabo, S.A.

Tabela 1 - Triagem e acondicionamento de resíduos do laboratório Lumilabo. (Adaptado de (3)).

	Classificação de resíduos	Acondicionamento e eliminação de resíduos
Resíduos não perigosos	<p>Grupo I (Resíduos equiparados a urbanos): provenientes de salas de trabalho, como embalagens, invólucros de cartão de papel, resíduos provenientes de alimentos e higiene pessoal.</p> <p>Grupo II (Resíduos hospitalares não perigosos): resíduos não contaminados ou suspeito de contaminação, como por exemplo, material não contaminado e sem vestígios de sangue ou de reagentes, embalagens vazias de produtos utilizados na execução das análises (papel e cartão).</p>	<p>O acondicionamento dos resíduos sólidos do Grupo I e II é efetuado na zona de produção permitindo uma identificação da sua origem e grupo. Embalados em sacos de plástico preto são recolhidos e encaminhados para contentores de lixo comum.</p>
Resíduos perigosos	<p>Grupos III e IV (Resíduos hospitalares específicos): resíduos como seringas, tubos de sangue ou soros, materiais sólidos descartáveis utilizadas na produção de análises serológicas, zaragatoas, pontas descartáveis, meios de cultura, agulhas, lancetas, entre outros.</p> <p>Resíduos Líquidos (Grupo III): produtos de reação de reagentes químicos com amostras biológicas e resíduos de urina.</p>	<p>Estes resíduos são armazenados em local próprio. Os resíduos do Grupo III são triados e acondicionados em contentores identificados, de pedal de inox com sacos brancos. Os resíduos sólidos do Grupo IV (agulhas e lancetas) são também triados e acondicionados em contentores com cor amarela estanques, resistentes e imperfuráveis. Estes contentores são recolhidos pela empresa de tratamento de resíduos hospitalar.</p> <p>Todos os produtos líquidos contaminados e produtos de reação resultantes de atividade laboratorial são depositados num contentor para recolha posterior por uma empresa contratada por o tratamento dos resíduos.</p>

Controlo da qualidade

A qualidade, segundo o Sistema Português da Qualidade (SPQ), é definida como um conjunto de atributos e características de uma entidade ou produto que determinam a sua aptidão para satisfazer necessidades e expectativas da sociedade (5).

Também foi definida na ISO 9000 como o grau de satisfação de requisitos dado por um conjunto de características intrínsecas (6) e no Manual de Boas Práticas Laboratoriais de Patologia Clínica ou Análises Clínicas (Despacho 10009/2019, de 5 de novembro) como a aptidão de um produto ou serviço para satisfazer as necessidades expressas ou implícitas do utilizador (7).

Com base na qualidade, surge o Controlo de Qualidade (CQ) que num Laboratório de Análises Clínicas trata-se de um processo estatístico útil na monitorização e avaliação dos processos analíticos, assegurando a qualidade e fiabilidade dos resultados, através de um conjunto de ações pré-estabelecidas e sistemáticas, que abrange as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica (7).

A informação acima faz-se cumprir no Manual de Qualidade do Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, SA.

O Manual de Qualidade foi elaborado com base nas normas NP EN ISO 9000:2015 (Sistemas de Gestão da Qualidade, Fundamentos e Vocabulário), NP EN ISO 9001:2015 (Sistemas de Gestão da Qualidade), Manual de Boas Práticas Laboratoriais (MBPL) e na legislação em vigor.

Em 2007, o Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A. implementou um Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ), que é reconhecido pela Entidade Internacional de Certificação (EIC) para a NP EN ISO 9001:2015 (Sistemas de Gestão da Qualidade). Em 2014, o laboratório obteve dupla certificação pela Ordem dos Farmacêuticos com o cumprimento das Normas para Laboratório Clínico.

O SGQ do laboratório Lumilabo transmite confiança na compreensão, implementação, a eficácia do sistema, cumprimento dos requisitos, a consideração das necessidades da sociedade, comunidade, meio envolvente e setor de saúde e a melhoria contínua da eficácia dos processos. O SGQ abrange a realização de análises clínicas em áreas como Bioquímica, Microbiologia, Hematologia, Endocrinologia e Imunologia.

Os procedimentos de controlo incluem o controlo de qualidade interno (CQI) e a avaliação externa da qualidade (AEQ), sendo que as matérias de controlo devam ser examinadas periodicamente, com uma frequência baseada na estabilidade do procedimento e tendo em conta o risco de danos para o utente de um resultado errado.

Controlo da qualidade interno

Segundo o Despacho n.º 10009/2019, de 5 de novembro, o Controlo de Qualidade de Interno (CQI) é o conjunto de procedimentos posto em prática num laboratório com vista a permitir um controlo da qualidade dos resultados dos exames laboratoriais ao longo de todo o processo analítico (8).

O controlo de qualidade interno (CQI) é um controlo Intra laboratorial, que consiste na análise diária de amostras controlo cujos valores analíticos são conhecidos permitindo assim avaliar a precisão dos ensaios analíticos durante a execução de análises laboratoriais. Este controlo permite garantir a reprodutibilidade dos resultados, verificar a calibração dos sistemas analíticos e a ocorrência de não conformidades que desencadearão ações corretivas (9).

Com a realização de um CQI adequado é possível avaliar em cada momento o desempenho dos procedimentos analíticos (10).

No Laboratório Lumilabo, S.A., os níveis de controlo e periodicidade com que são processados depende do que está estabelecido na instrução de trabalho aprovada pelo diretor técnico.

O CQI é processado diariamente antes da realização da análise das amostras biológicas ou sempre que necessário, uma vez que existem situações em que é essencial a sua execução. Para além do que está estipulado na rotina diária, existem outras situações em que é necessário passar CQI: após uma calibração ou recalibração, sempre que se utilize um novo reagente, após uma manutenção específica ou procedimentos de resolução rápida de um problema no equipamento, quando se verifica uma possível tendência nos resultados, e sempre que se achar necessário.

Após o processamento dos controlos é de extrema importância a validação dos resultados, de forma a ser possível iniciar o processamento das amostras nos equipamentos. Caso algum resultado do controlo seja violado ou observada uma tendência nos valores obtidos, os resultados das amostras podem estar suscetíveis a erros. Portanto, após a correção do erro, as amostras devem ser processadas novamente. Com o objetivo de corrigir o erro no valor do controlo obtido, deve recalibrar-se o equipamento, verificar e/ou substituir os reagentes necessários ou executar manutenções.

Química Clínica e Endocrinologia

As amostras controlo de qualidade são analisadas diariamente. Os valores esperados são conhecidos e os resultados realmente obtidos são comparados com valores anteriores para monitorizar o desempenho. Devem ser sempre anotadas ocorrências que impliquem ações preventivas ou corretivas

Controlo de Qualidade Interno do equipamento Cobas 6000: As amostras controlo são processadas no início do dia, todos os dias, antes da análise das amostras dos utentes. Consoante os valores obtidos consultam-se os gráficos de Levey-Jennings para cada um dos parâmetros em análise. A análise dos resultados obtidos das amostras controlo permitem a validação analítica dos resultados. Mensalmente, através dos gráficos Levey-Jennings analisam-se o comportamento dos controlos, a média dos valores, o desvio-padrão e o coeficiente de variação.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento Architect i2000SR (Abbott): os controlos utilizados são específicos para cada ensaio e são constituídos por três níveis, o nível baixo, o nível médio e nível alto. O CQI é realizado diariamente, alternando o nível de controlo utilizado.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento VIDAS®: o CQI é realizado quinzenalmente, de acordo com as especificações da casa comercial. Ou em caso de mudança de lote.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento MINICAP® (Sebia): o CQI é realizado com um perfil eletroforético normal e um perfil patológico, comercializado pelo fornecedor Normal Control Serum (Sebia). Este controlo é efetuado semanalmente, pois o equipamento apenas é ligado uma vez por semana, e antes de se iniciar a análise de amostras.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento UC MAX (A. MENARINI): são realizados diariamente dois níveis de controlo, o patológico (high) que é o controlo em que a urina tem os parâmetros elevados e o normal (low) que é o controlo em que a urina tem os parâmetros normais, comercializado pela A. MENARINI diagnostics.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento HM-JACK arc (A. MENARINI): são realizados diariamente dois níveis de controlo, o patológico (high) que é o controlo que demonstra aparecimento de sangue nas fezes e o normal (low) que é o controlo com parâmetros de fezes normais, comercializado pela A. MENARINI diagnostics.

Microbiologia

O CQI da área de microbiologia é executado semanalmente, com alternância da estirpe utilizada, e compreende duas estirpes de ATCC (American Type Culture Collection) para o controlo da maioria dos meios e antibióticos (a estirpe *Escherichia coli* ATCC 25922 e a estirpe *Staphylococcus aureus* ATCC 25923).

Hematologia

O Controlo de Qualidade Interno dos equipamentos hematológicos requer a utilização de amostras controlo de sangue de diferentes níveis, o nível alto, normal e baixo. Diariamente devem ser utilizados dois ou três níveis de controlo nos equipamentos.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento STA Compact MAX: Este controlo é efetuado todos os dias e antes de se iniciar a análise de amostras.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento Sysmex XT-2000iTM: os controlos internos são realizados todos os dias, antes da execução analítica diária, e monitoriza a exatidão e precisão dos resultados.

Como controlo dos parâmetros hematológicos são utilizadas amostras controlo, de três níveis (baixo, médio e alto). Os critérios de aceitação ou rejeição são estabelecidos pelo fornecedor (controlo interno do mesmo lote).

A conformidade dos resultados do controlo é importante, uma vez que determina a validação analítica dos resultados das amostras. Os resultados dos controlos para os diferentes parâmetros são aceites quando se encontram dentro do intervalo de valores para os controlos. Se os valores obtidos de um ou mais parâmetros se encontrarem fora dos valores estabelecidos é necessário repetir a análise do controlo. Caso o valor obtido, após repetição da análise, se encontre dentro dos limites estabelecidos, inicia-se a análise das amostras dos utentes. No entanto, se o valor obtido continuar fora dos limites é preciso contactar a assistência técnica para resolução do problema.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento Test1 THL, da Alifax: o controlo para este equipamento contém dois níveis – um nível normal e um nível patológico – de modo a avaliar a exatidão e a precisão dos resultados obtidos. Os resultados obtidos são aceites quando se encontram dentro do intervalo de valores estabelecidos pelo fornecedor. Quando os valores obtidos se encontram fora dos valores estabelecidos é necessário repetir a análise do controlo.

Controlo de Qualidade Interno do equipamento D-10TM Hemoglobin Testing System, da Bio Rad: o controlo para este equipamento contém dois níveis – um nível normal e um nível patológico – de modo a avaliar a exatidão e a precisão dos resultados obtidos. Os resultados obtidos são aceites quando se encontram dentro do intervalo de valores estabelecidos pelo fornecedor. Quando os valores obtidos estão fora dos valores estabelecidos é necessário repetir a análise do controlo.

Controlo de Qualidade Interno do Grupo Sanguíneo e Fator Rh: Os reagentes são testados diariamente com amostras cujo resultado é conhecido.

Avaliação Externa da Qualidade

A Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) corresponde à avaliação, por um organismo exterior, da qualidade dos resultados obtidos pelo laboratório (8).

O Controlo de Qualidade Externo (CQE) é um controlo interlaboratorial em que o resultado de cada parâmetro realizado no laboratório participante é comparado com a média de consenso do seu grupo, determinando assim a exatidão dos resultados (9).

Para a determinação desta média os fornecedores do programa de CQE usam os resultados enviados pelos laboratórios e agrupam-nos de acordo com as metodologias utilizadas nos ensaios, para cada parâmetro. O CQE tem como objetivo padronizar os resultados de alíquotas da mesma amostra, executadas em laboratórios diversos, permitindo determinar e ajustar a exatidão dos métodos utilizados (9).

O laboratório Lumilabo S.A. com a participação nos programas de CQE assegura que os resultados obtidos dos diversos parâmetros realizados se aproximam o máximo do valor real (exatidão) dentro de uma variabilidade analítica permitida. Este controlo permite garantir a reprodutibilidade dos resultados, verificar a calibração dos sistemas analíticos e a ocorrência de não conformidades que desencadearão ações corretivas (9).

Com o intuito de abranger o maior número de parâmetros para avaliação, o Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A. participa nos seguintes programas de AEQ (9):

- External Quality Assurance Services (EQAS)Bio-Rad;
- Randox International Quality Assessment Schemes (RIQAS);
- Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P. (INSA, I.P.).

Após a receção dos relatórios de AEQ procede-se à análise dos resultados, de modo a avaliar os possíveis desvios. A percentagem de respostas corretas (+/-2SD, com exceção do programa de imunologia em que o critério é +/-3SD) são registadas após o seu cálculo. A percentagem de respostas corretas é obtida da seguinte forma:

$$\frac{\text{Número de respostas corretas}}{\text{Número total de resultados}}$$

100

Química Clínica e Endocrinologia

O Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A. participa no programa de Avaliação Externa da Qualidade da Randox (International Quality Assessment Scheme) e do INSA, I.P.

Microbiologia

O laboratório Lumilabo participa no Programa AEQ da Bioportugal One World Accuracy. Trimestralmente recebe cinco amostras de diferentes produtos biológicos para a realização de exame direto, exame cultural e testes de sensibilidade aos antibióticos.

Hematologia

O Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A. participa no programa de Avaliação Externa da Qualidade RIQAS, da identidade Randox. São enviadas mensalmente amostras controlo ao laboratório. As amostras controlo são processadas como se se tratasse da amostra de um utente e os resultados obtidos são posteriormente enviados e tratados pela identidade. Após a análise dos resultados pela Randox, esta envia ao laboratório um relatório onde avalia o seu desempenho, com comentários e, sempre que necessário, indicando as correções a fazer.

Fase pré-analítica

Atividades realizadas na secção:

- Colheitas de produtos biológicos
- Triagem dos produtos biológicos;
- Avaliação da conformidade das amostras biológicas;
- Distribuição das amostras biológicas pelas diversas secções analíticas.

A fase pré-analítica é um processo fundamental na atividade de um laboratório clínico e engloba uma panóplia de procedimentos na preparação, colheita, tratamento e transporte das amostras biológicas. Para além disso, devido à complexidade da comunicação com doentes, clínicos e outros profissionais, a dispersão geográfica dos pontos de colheita, a diversidade dos profissionais do laboratório envolvidos é aqui que ocorre o maior número de não conformidades e de erros laboratoriais (11).

De modo a prevenir a ocorrência de erros ou de repetição de colheitas e garantir a qualidade dos resultados dos exames laboratoriais, o diretor técnico deve aprovar e fazer distribuir em todos os locais de colheita instruções escritas que contenham: os métodos de preparação do doente, confirmação da sua identidade, correta identificação e rotulagem dos recipientes para colheita, e ainda, as condições de conservação das amostras e do seu transporte, triagem e tratamento (11). Quando os utentes pretendem realizar análises clínicas devem dirigir-se ao laboratório ou a um dos postos pertencentes ao laboratório. Na receção é-lhes solicitada a requisição médica e consoante a mesma, a rececionista confirma se o utente cumpre os requisitos necessários para realizar a colheita. Quando os requisitos não são cumpridos, não se realiza a colheita nesse mesmo dia, e a rececionista informa o utente sobre as condições necessárias a realização da colheita.

Antes da realização da colheita, o técnico de análises clínicas deve não só confirmar os dados do utente e os pré-requisitos da colheita, como também adicionar informação extra acerca do doente. Como por exemplo, se o utente está a tomar alguma medicação ou se tem alguma doença. As colheitas efetuadas fora do laboratório devem ser conservadas e transportadas nas devidas condições para o laboratório. Após a receção das amostras biológicas colhidas, estas são triadas e distribuídas pelas diversas secções analíticas.

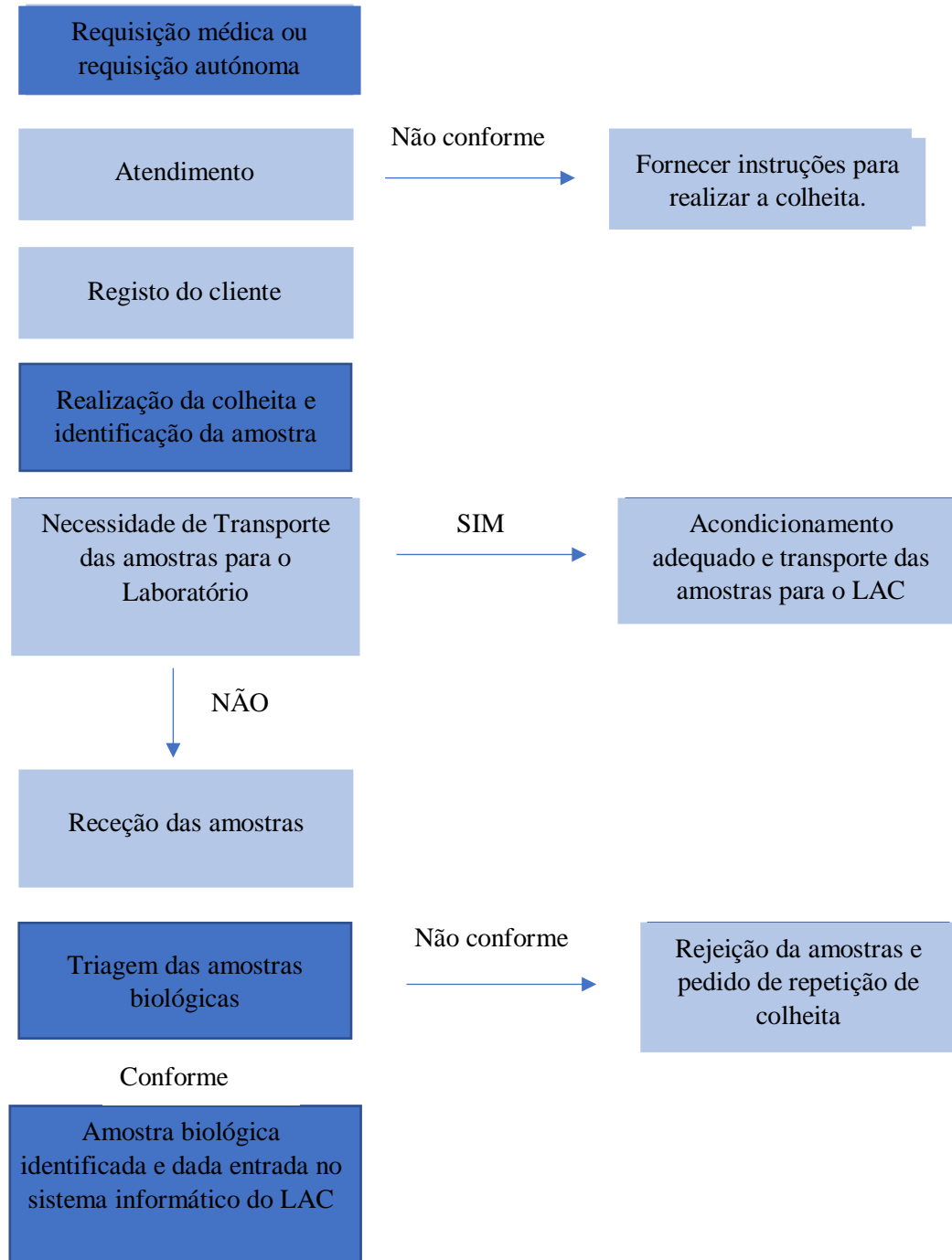


Figura 1 - Fluxograma referente ao Processo Pré-Analítico do Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo S.A.

Colheita de Amostras Biológicas

Segundo o Despacho n.º 10009/2019 de 5 de novembro, a colheita de amostras biológicas deve ser efetuada sob a responsabilidade do diretor técnico/diretor de serviço, por profissionais legalmente habilitados ao exercício dessas funções, como: médicos; farmacêuticos e enfermeiros inscritos nas respetivas Ordens; biólogos especialistas em análises clínicas inscritos na Ordem dos Biólogos; pessoal técnico cuja competência resulta de cursos, equivalências ou reconhecimento adequados previstos nos n.ºs 1 e 2 do artigo 4.º do Decreto-Lei n.º 320/99 de 11 de agosto; ou pessoal com vínculo contratual ao laboratório, abrangidos pelo artigo 8.º do mesmo diploma (8).

Antes da realização da colheita, o técnico responsável deve confirmar a requisição médica do utente e se este se encontra nas condições prévias necessárias à colheita. Deve registar a data, hora, local da colheita e identificação de quem colheu a amostra, bem como confirmar de forma inequívoca a identidade do utente. Todas as ocorrências relevantes para o processo analítico durante a colheita devem ser registadas e qualquer colheita efetuada em condições incorretas deve ser recusada. A colheita deve ser efetuada cumprindo a legislação nacional e internacional (CE) específica (8).

O recipiente tal como a quantidade ou concentração dos aditivos deve ser adaptado à natureza da amostra e dos exames laboratoriais a efetuar. O recipiente deve ser concebido de modo a evitar riscos de contaminação dos colaboradores ou do ambiente. A utilização, manipulação, segurança e eliminação das agulhas e restante material utilizados nas colheitas devem ser efetuadas de acordo com as leis específicas em vigor (8).

A colheita de algumas amostras exige preparação prévia. Por exemplo, certas colheitas devem ser realizar-se durante o período da manhã, com o utente em jejum há, pelo menos, 8 horas. Já para o estudo do metabolismo lipídico, o jejum deve ser de 10-12 horas. Nos recém-nascido e nos lactentes, a colheita deve ser realizada 30 minutos antes da refeição. Sempre que pedida uma determinação de alcoolemia, a solução de Etanol a 70% deverá ser substituída por uma solução sem álcool, como por exemplo o Betadine® ou Soro fisiológico (12).

As amostras biológicas que se destinem a exame microbiológico, devem ser colhidas preferencialmente antes de iniciada qualquer terapêutica antibiótica. Se o utente já tiver iniciado a terapêutica, só deverá proceder-se à colheita pelo menos 10 dias após a última toma do antibiótico (12).

O laboratório Lumilabo possui um Manual de Colheitas e um Manual de Colheitas de Microbiologia. A elaboração destes manuais contribui para a melhoria da fase pré analítica, que é fundamental para a obtenção de bons resultados (13).

Colheita de Sangue

A colheita adequada de uma amostra é importante para a aquisição de dados laboratoriais precisos. A fase pré-analítica concentra a grande maioria dos erros laboratoriais que geram a rejeição de amostras biológicas, com possibilidade de vir a ser necessário a repetição da colheita, logo, as amostras devem ser colhidas de forma padronizada de modo a diminuir a variabilidade dos dados (14).

A colheita é feita por punção venosa. Antes de iniciar a colheita, a técnica deve confirmar a identificação do doente, preparar o material necessário e colocar luvas descartáveis. Depois deve colocar etiquetas nos tubos com a identificação do doente e confirmar que o doente está em repouso e fez a preparação prévia para a colheita (15,16).

Em seguida, a técnica deve garrotar o braço do utente acima do local de punção e selecionar uma veia palpável. Desinfeta-se a zona de punção com compressa impregnada em Etanol a 70% (Betadine® ou Soro na determinação de alcoolemia), deixa-se secar a pele ao ar e só então efetuar a punção (restos de álcool, podem causar hemólise) (15).

Assim que o sangue começara a correr pede-se ao utente que vá abrindo a mão e alivia-se o garrote, pois não deve permanecer garrotado durante mais de um minuto. A quantidade de sangue a colher varia com as análises pedidas. Nos tubos com anticoagulantes é importante respeitar a marca de enchimento porque a relação amostra/anticoagulante é essencial para a qualidade dos resultados (15).

Após a colheita fazer pressão sobre o local da punção até parar a hemorragia. Por fim, retirar a agulha e encoste o orifício da seringa à parede do tubo, esvaziando a seringa lentamente para evitar a hemólise (15).

O sangue deve ser distribuído sempre em primeiro lugar para o tubo seco e só depois para os outros tubos para evitar possíveis contaminações com os anticoagulantes. Da seguinte forma:

- 1.º Tubo para coagulação (citrato de sódio);
- 2.º Tubo para soro, com gel separador;
- 3.º Tubo com heparina;
- 4.º Tudo com EDTA (ácido etilenodiaminotetra-acético), com ou sem gel separador.

Os tubos devem ser homogeneizados cuidadosamente por inversões sucessivas. Este procedimento é essencial para garantir a homogeneização do sangue com o aditivo presente nos tubos (15).

Todo o material utilizado deve ser descartado para os recipientes próprios e o transporte deve ser cuidadoso e o envio ao laboratório deve ser rápido (15,16).

Colheita de Urina

No Laboratório Lumilabo, S.A. existem várias maneiras de fazer a colheita de urina dependendo do tipo de análise e do tipo paciente.

Na colheita de **Urina Tipo II (análise sumária de urina)** o utente deve recolher uma amostra da primeira urina da manhã para o contentor respetivo (13).

Já na colheita **Assética de Urina** antes de realizar a recolha da amostra, o utente deve proceder à higiene íntima diária. Após a higiene, deve rejeitar o primeiro jato de urina. De seguida, recolher o jato médio de urina diretamente para o recipiente estéril fornecido e fechá-lo de imediato com a tampa. Sempre que possível, colher a primeira urina da manhã, caso contrário deve esperar 4 horas, no mínimo, após a última micção antes de efetuar a recolha da amostra (13).

Se a colheita for de **urina assética (UA) com saco pediátrico**, no sexo feminino, deve-se limpar os órgãos genitais com um toalhete desinfetante apropriado, executando movimentos de frente para trás. Já no sexo masculino deve puxar-se o prepúcio e limpar o meato uretral com um toalhete desinfetante apropriado. Em seguida, expor a zona adesiva do saco pediátrico para colheita da UA. Colocar o saco, de modo a cobrir a zona genital. Se ao fim de 30 segundos a criança não urinou, retirar o saco, lavá-la novamente e colocar outro saco. Após o bebé urinar, retirar o saco e fechá-lo colando as superfícies adesivas (13).

Na **Urina de 24 horas** basta recolher, para o recipiente respetivo, a totalidade de urina excretada durante um período de 24 horas. Rejeitar a 1ª urina da manhã (13).

As amostras de urina colhidas devem ser entregues ao laboratório no próprio dia ou, caso o utente não possa fazê-lo, refrigeradas até à hora da sua entrega (13).

Colheita de Exsudado

No Laboratório Lumilabo, S.A. também existem vários procedimentos para a recolha de exsudados dependendo do local onde é recolhido o material biológico.

Exsudado nasal

Exame bacteriológico: introduzir suavemente uma zaragatoa esterilizada, com meio de transporte, numa narina até encontrar resistência ao nível do osso turbinado; rodar a zaragatoa de encontro à

mucosa nasal; colocar a zaragatoa no meio de transporte; repetir este procedimento para a outra narina. Com uma zaragatoa em tubo seco, proceder da mesma forma e realizar esfregaços em duas lâminas de vidro identificadas e repetir este procedimento na outra narina com uma nova zaragatoa. As amostras colhidas são conservadas à temperatura ambiente (TA) e enviadas para o laboratório (13).

Pesquisa de eosinófilos: introduzir suavemente uma zaragatoa esterilizada, em tubo seco, numa narina até encontrar resistência; rodar a zaragatoa de encontro à mucosa nasal; fazer esfregaços em duas lâminas de vidro identificadas e repetir este procedimento para a outra narina. As lâminas são conservadas à TA e enviadas para o laboratório (13).

Exsudado faríngeo

Antes da colheita deve-se observar com cuidado a garganta, com auxílio de uma espátula. Coloca-se uma zaragatoa entre as amígdalas por detrás da úvula, evitando o contacto com bochechas, língua, úvula e lábios. Passa-se a zaragatoa na faringe posterior, amígdalas e em áreas ulceradas ou inflamadas; coloca-se a zaragatoa no meio de transporte. Com uma zaragatoa seca procede-se do mesmo modo e faz-se dois esfregaços em lâminas de vidro identificadas. As amostras inoculadas no meio de transporte são conservadas à TA e enviadas para o laboratório (13).

Exsudado vaginal

Antes da colheita de exsudado vaginal, a utente deve proceder à higiene íntima diária (13).

Exame bacteriológico: introduz-se o espéculo na vagina e posiciona-se o mesmo até à observação correta do colo uterino. Introduce-se a zaragatoa e pressiona-se contra as paredes da vagina, na proximidade do colo uterino e no fundo do saco; retira-se a zaragota e cola-se no meio de transporte de carvão. Procede-se do mesmo modo com outra zaragatoa, sem meio de transporte e fazem-se dois esfregaços em lâminas de vidro identificadas. Retira-se o espéculo. A zaragatoa sem meio de transporte deve ser preservada em soro fisiológico e a amostra inoculada no meio de transporte é conservada à TA. As amostras devem ser enviadas para o laboratório (13).

Pesquisa de *Streptococcus* do grupo B: introduz-se a zaragatoa e pressiona-se contra as paredes do primeiro terço da vagina; retirar-se a zaragatoa e cola-se no meio de transporte. Procede-se do mesmo modo com outra zaragatoa sem meio de transporte e fazem-se dois esfregaços em lâminas de vidro identificadas. Introduzir outra zaragatoa a 2-4 cm no esfíncter anal; colocar a zaragatoa no meio de transporte. As amostras inoculadas no meio de transporte são conservadas à TA e enviadas para o laboratório (13).

Pesquisa de *Chlamydia trachomatis*: introduz-se o espéculo na vagina e posiciona-se o mesmo até à observação correta do colo uterino. Remove-se o muco em excesso do endocolo com uma

zaragatoa estéril e rejeita-se. Introduce-se a zaragatoa própria para colheita de *Chlamydia trachomatis* no endocolo e roda-se durante 10 a 30 segundos contra a superfície do canal cervical com uma pressão suficiente para obter células do epitélio colunar. Retira-se a zaragatoa, evitando tocar em qualquer superfície vaginal e colocá-la num tubo de transporte. Retira-se o espéculo. A amostra deve ser conservada 6 horas à temperatura ambiente ou 72 horas entre 2°C e 8°C (13).

Exsudado uretral

Antes da colheita, o utente deve ficar sem urinar durante, pelo menos, 1 hora.

Exame bacteriológico: Insere-se a zaragatoa esterilizada com meio de transporte, cerca de 2 a 4 cm na uretra, roda-se suavemente 2 a 3 vezes; retira-se a zaragatoa e coloca-se no meio de transporte. Com outra zaragatoa, sem meio de transporte, procede-se do mesmo modo, finalizando com dois esfregaços em lâminas de vidro identificadas. A amostra inoculada no meio de transporte é conservada à TA e enviada para o laboratório (13).

Colheita de fezes

Pesquisa de Sangue Oculto e Pesquisa de ovos, quistos e parasitas: colher uma pequena amostra de fezes com a colher da tampa e acondicionar no recipiente estéril. Se o médico requisitar três amostras para exame, repetir a colheita de mais duas amostras, nos dois dias seguintes. O utente deve manter as amostras refrigeradas e entregá-las logo a seguir à colheita da terceira amostra (13).

Coprocultura: recolher as fezes até metade do recipiente estéril. Se o médico requisitar três amostras para exame, repetir a colheitas de mais duas amostras, nos dois dias seguintes. Cada amostra deve ser entregue no posto ou no laboratório no próprio dia, não podendo ser refrigerada (13).

Critérios de rejeição de amostras biológicas

A fase pré-analítica concentra a grande maioria dos erros laboratoriais que geram a rejeição de amostras biológicas, com possibilidade de vir a ser necessário a repetição da colheita. São aplicados critérios de rejeição de modo a garantir que todas as amostras se encontram nas condições adequadas à análise.

Durante o atendimento, são rejeitas as amostras biológicas colhidas em casa que não respeitem as normas estabelecidas no Manual de Colheitas (13).

Durante a colheita, neste caso, o técnico responsável pela colheita deve rejeitar a amostra se esta tiver quantidade insuficiente, quando o cliente não se encontra nas condições necessárias para proceder à colheita e quando a amostra está fora das condições necessárias para análise (13).

E durante a triagem, devem ser rejeitadas todas as amostras que não respeitem as regras de acondicionamento exigidas, tenham perdido qualidades necessárias para a análise e/ou que não se encontrem devidamente identificadas (13).

Por fim, sempre que uma amostra biológica é rejeitada deve ser preenchido o impresso referente à repetição de colheita e encaminhá-lo para o local de colheita responsável pela mesma (13).

Triagem

A triagem corresponde à recepção, conferência, tratamento pré-analítico e distribuição de todos os produtos biológico pelos diferentes departamentos do laboratório. É também função da triagem, quando necessário, o acondicionamento de produtos biológicos para o envio a laboratórios externos contratados para a execução de análises específicas.

Segundo o Processo Analítico, escrito e aprovado pelo laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A., a triagem ocorre da seguinte forma (16):

- Registrar e medir a temperatura das geleiras de transporte, quando os produtos biológicos chegam ao laboratório;
- Separar os diversos produtos pelas áreas respectivas;
- Organizar as amostras de acordo com o tipo e posto;
- Através do software eDeiaLab e com o auxílio do leitor ótico para leitura dos códigos de barras, dar a entrada das amostras biológicas;
- As amostras que não possuam código de barras devem ser introduzidas manualmente no software;
- Depois de introduzidas no sistema, separar as amostras pelos diversos equipamentos ou metodologias de acordo com a informação no software;
- Após a triagem de todas as amostras, imprimir a lista de produtos em falta;
- Conferir a lista impressa, tomar medidas para assegurar que toda a informação está correta e informar os postos de colheitas acerca dos produtos em falta;
- Quando necessário, preencher o impresso referente à Repetição de Colheita;
- Arquivar a lista de falta de produtos em falta na pasta correspondente e emitir listas de trabalho.

Fase Analítica

Após a realização de triagem das amostras biológicas, estas são distribuídas para as respectivas valências, para a execução dos testes laboratoriais requisitados.

Esta fase inclui o que geralmente é considerado o teste de laboratório que consiste nos procedimentos de diagnóstico, processos e produtos que, em última análise, fornecem os resultados que permitem a realização de um prognóstico ou rastreio de doenças na ausência de sinais ou sintomas clínicos. A fase analítica tem início quando a amostra do utente é preparada para a realização do teste e termina quando o resultado obtido é validado (17,18).

Antes das análises laboratoriais, deve proceder-se à manutenção de rotina dos equipamentos—através da realização diária do CQI. Quando os resultados do CQI não são os previstos, é necessário repetir o procedimento, verificar os reagentes ou calibrar os equipamentos. Todos os resultados de CQI devem ser arquivados (18).

Uma vez efetuado o CQI dos equipamentos, procede-se à análise das amostras biológicas. Os resultados obtidos são validados observando: a coerência dos resultados com os valores de CQI, a ausência de alarmes dos equipamentos, a coerência do conjunto de parâmetros para o mesmo utente e o cumprimento das boas práticas laboratoriais. Os resultados validados são então gravados e submetidos a validação biopatológica (17).

O Processo Analítico do Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo S.A consiste:

- 1º. Centrifugação (se necessário) das amostras biológicas que foram anteriormente distribuídas e triadas de acordo com as diferentes secções analíticas.
- 2º. As amostras que não são processadas no Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, devem ser acondicionadas para serem enviadas para um outro laboratório.
- 3º. Realização do CQI de cada equipamento. Equipamento com CQI não conforme, é necessário efetuar a verificação da execução do CQI e, se necessário, calibrar. Repetir a realização do CQI.
- 4º. Execução Analítica, se não tiver de acordo com os parâmetros rejeita-se as amostras e pede-se repetição de colheita.
- 5º. Validação dos Resultados, se não tiver de acordo com os parâmetros rejeita-se as amostras e pede-se repetição de colheita.
- 6º. Gravação e Validação biopatológica dos resultados.

Bioquímica e Endocrinologia

A bioquímica é uma área extremamente importante em qualquer laboratório de análises clínicas, uma vez que é onde se realizam o maior volume de trabalho das análises, ou seja, engloba todo o tipo de parâmetros essenciais que complementam qualquer boletim de análises. Os exames bioquímicos são instrumentos valiosos no rastreio de patologias, na obtenção do diagnóstico, na avaliação do prognóstico e na monitorização de terapêuticas. Além disso, esta área é também fundamental para a execução de testes clínicos de novos fármacos.

Esta área tem como objetivo estudar os diversos sistemas metabólicos, a sua homeostasia e relacionar com a fisiologia e fisiopatologia de cada indivíduo.

Na área de Bioquímica do laboratório Lumilabo, conforme os analitos a analisar, as amostras eram encaminhadas para os respetivos equipamentos.

O Cobas® 6000 Modular Analyzer Series (Figura 2) é um equipamento automático da Roche Diagnostics, com um software de química clínica e de imunoensaios que analisa amostras de soro. Destina-se tanto a determinações *in vitro* quantitativas como qualitativas, utilizando uma grande diversidade de testes. Este equipamento é constituído por dois módulos analíticos ligados entre si: o módulo c501® (módulo de química clínica e de ionograma) e módulo e601® (módulo de imunoensaios) (19).



Figura 2 - Equipamento Cobas® 6000 Modular Analyzer Series, da Roche Diagnostics.

O módulo c501® é composto por uma unidade fotométrica que analisa uma ampla gama de amostras de química clínica. A fotometria baseia-se na medição da intensidade ou quantidade de luz incidente numa determinada superfície (19,20).

Este módulo também permite a realização de ionogramas, a partir do método de potenciometria indireta, que faz determinações de iões de sódio (Na), potássio (K) e cloreto (Cl) em amostras de

soro, plasma ou urina. A potenciometria consiste na medição de uma diferença de potencial elétrico entre dois elétrodos numa célula eletroquímica. O módulo c501® utiliza o Eléctrodo Seletivo de Iões (ISE) (19,20).

Por outro lado, o módulo c601® efetua determinações quantitativas e qualitativas de ensaios *in vitro* para uma ampla gama de aplicações. O c601® utiliza uma tecnologia eletroquimioluminescência (ECLIA), que se baseia na emissão de luz a partir da aplicação de potenciais de oxidação-redução num eléctrodo imerso em soluções que emitem radiações para análise de imunoenaios(19,20).

O Architect i2000SR (Figura 3), da Abbott, é um equipamento automático que realiza imunoenaios *in vitro* e tem como base uma tecnologia de micropartículas por quimioluminescência (CMIA). A tecnologia CMIA é um método de deteção usado para a medição, a quantificação e a deteção de antigénios, anticorpos e analitos presentes em amostras de sangue total (21).

A CMIA utiliza micropartículas paramagnéticas revestidas com moléculas de captura (antigénio, anticorpo ou partícula viral) específica, que são misturadas na amostra a analisar. Durante a incubação, o analito presente na amostra liga-se às moléculas de captura que revestem as micropartículas e formam um complexo imune. Após a incubação, um íman atrai as micropartículas paramagnéticas para a parede interna da célula de reacção. Posteriormente, a mistura de reacção passa por um processo de lavagem para remover os materiais ligados. O conjugado quimioluminescente liga-se ao complexo imune para completar a mistura de reacção. Esta mistura sofre novamente uma lavagem para remover o conjugado não ligado. Por último, é adicionada uma solução de peróxido de hidrogénio e é realizada uma leitura do branco (21).



Figura 3 - Equipamento Architect i2000 SR, da Abbott.

O laboratório Lumilabo S.A. também possui o equipamento VIDAS® (Figura 4), da bioMérieux, é um imunoanalisador de bancada automático e multiparamétrico utilizado em imunoserologia. Este equipamento baseia-se no método de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), com detecção de ponto final por fluorescência através da tecnologia ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) (22).



Figura 4 - Equipamento VIDAS®, da bioMérieux.

Este equipamento utiliza um dispositivo plástico (SPR®) capaz de capturar proteínas solúveis, vírus e bactérias presentes nas amostras de soro. O SPR® é usado para pipetar amostras e reagentes e corresponde à fase sólida da reação imunológica. As paredes interiores do dispositivo são revestidas por anticorpos ou antígenos que capturam o analito alvo (22).

O VIDAS realiza vários testes de rotina, tais como (22):

- Sorologia- Detecção de anticorpos (o SPR® tem a parede interna coberta com antígeno. Se a amostra contiver o anticorpo esperado, ocorre uma reação de hidrólise); os níveis de fluorescência medidos são diretamente proporcionais à quantidade de anticorpo ou antígeno presente na amostra.
- Imunoquímica - Detecção de Imunoglobulinas M (O SPR® tem a parede interna revestida com anti-IgM, que irá capturar as IgM presentes na amostra); os níveis de fluorescência medidos são diretamente proporcionais à quantidade de anticorpo ou antígeno presente na amostra.
- Detecção de antígenos (a parede interna do dispositivo é revestida com anticorpo, com o objetivo de capturar o antígeno presente na amostra); os níveis de fluorescência medidos são diretamente proporcionais à quantidade de anticorpo ou antígeno presente na amostra.

- Detecção de haptenos (o SPR® encontra-se revestido por uma quantidade limitada de anticorpo); o nível de fluorescência medido é inversamente proporcional à quantidade de haptenos presentes na amostra.

Ionograma

Os eletrólitos estão envolvidos nas principais funções metabólicas do organismo. O ionograma determina a concentração dos iões sódio (Na^+), do potássio (K^+) e do cloreto (Cl^-) nas amostras biológicas em termos de atividade iónica (23).

Os iões sódio e cloreto são considerados os principais iões extracelulares e intracelulares, sendo responsáveis pela osmolalidade do plasma e desempenham um papel fundamental na manutenção da distribuição da água e da pressão osmótica no compartimento líquido extracelular. (23) A hiponatremia leva a convulsões, letargia, desorientação, edema pulmonar, cefaleias, coma ou até mesmo à morte. A hipernatremia pode levar à agitação, espasmos musculares, letargia e irritação (24).

Já o ião potássio é considerado o ião intracelular mais importante, sendo responsável por manter o equilíbrio da água, em conjunto com o sódio, regular processos metabólicos e excitabilidade muscular (23). A hipocaliémia leva a fraqueza muscular, diminuição dos reflexos e arritmias cardíacas. A hipercaliémia pode levar a confusão mental, fraqueza, dormência, formigamento nas extremidades, fraqueza muscular e paragem cardíaca (24).

Estes iões são obtidos através da dieta, absorvidos no trato gastrointestinal e excretados pelos rins.

A determinação da concentração do sódio, dos cloretos e do potássio nas amostras de soro/plasma e urina é feita por potenciometria (Eléctrodo Seletivo de Iões) e tem o seu principal valor semiológico no diagnóstico e na monitorização da evolução clínica e da resposta ao tratamento dos doentes com patologias que cursam com alterações do equilíbrio hidro-eletrolítico, ácido-base ou ambos (25).

O Eléctrodo Seletivo de Iões, presente no módulo c501® do equipamento Cobas 6000®, desenvolve um potencial eléctrico para a medição dos iões em solução. O potencial eléctrico da membrana do eléctrodo é determinado pela diferença de concentração do ião a analisar na solução teste e na solução de enchimento interna. A concentração dos iões é calculada com recurso à Equação de Nernst (25).

Os níveis dos três íons encontram-se diminuídos em casos de vômitos prolongados, diarreia ou redução de reabsorção renal. Os níveis de cloreto podem estar também diminuídos devido a algumas situações de acidose e alcalose. Por outro lado, o íon de Na^+ encontra-se elevado quando ocorre perda excessiva de líquidos, elevada ingestão de sal ou aumento de reabsorção renal. Os níveis elevados de potássio verificam-se quando ocorre desidratação ou choque, queimaduras graves, cetoacidose diabética ou retenção dos íons nos rins. E, por fim, os valores do íon cloreto encontram-se elevados em casos de desidratação, insuficiência renal aguda, acidose metabólica e diabetes *insipidus* (25).

Método de determinação: Potenciometria

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro, plasma em EDTA, urina e LCR.

Valores de referência: Soro: Na^+ : 136-150 mEq/L, K^+ : 3,4-5,5 mEq/L, Cl^- : 94-111 mEq/L;
Urina: Na^+ : 85-260 mEq/24h, K^+ : 26-123 mEq/24h, Cl^- : 94-250 mEq/24h.

Avaliação do Metabolismo dos Hidratos de Carbono

Glucose

A glucose é o principal hidrato de carbono presente no sangue periférico. A principal fonte de energia celular do organismo proveniente da dieta é a oxidação da glucose. A glucose é convertida em glicogénio para armazenamento no fígado e em ácidos gordos para armazenamento no tecido adiposo. A concentração da glucose no sangue é mantida dentro de limites estreitos por ação de muitas hormonas, sendo as mais importantes produzidas pelo pâncreas (26).

A causa mais frequente do aumento da glicemia no sangue (hiperglicemia) é o diagnóstico de Diabetes mellitus, originado por um défice da secreção ou da ação da insulina (26).

Outros fatores que contribuem para a existência de níveis elevados de glucose no sangue são a pancreatite, a disfunção da tiróide, a insuficiência renal e hepatopatias. Já a diminuição de glucose no sangue (hipoglicemia) observa-se com menos frequência e ocorre em casos de insulínoma, o hipopituitarismo e a hipoglicemia induzida por insulina (26).

A determinação da glucose na urina (glicosúria), pode ser utilizado para o despiste ou monitorização da diabetes mellitus e para detetar defeitos tubulares renais (26).

Diagnóstico e Monitorização da Diabetes Mellitus

De acordo com a Norma da Direção-Geral da Saúde (DGS) n.º 002, de 14 de janeiro de 2011, o diagnóstico de diabetes é realizado com base nos seguintes parâmetros e valores:

- Glicemia em jejum ≥ 126 mg/dl;
- Sintomas clássicos e glicemia ocasional ≥ 200 mg/dl;
- Glicemia ≥ 200 mg/dl às 2 horas, na prova de tolerância à glucose oral (PTOG), com 75g de glucose;
- Hemoglobina glicada A1c (HbA1c) $\geq 6,5\%$.

Os parâmetros para diagnóstico da hiperglicemia intermédia ou identificação de categorias de risco aumentado para diabetes são os seguintes:

- Anomalia da Glicemia em Jejum (AGJ): $110 \leq$ glicemia de jejum < 126 mg/dl
- Tolerância Diminuída à Glucose (TDG): glicemia às 2 horas na PTOG ≥ 140 e < 200 mg/dl.

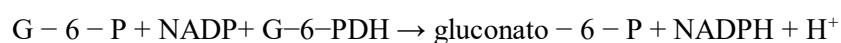
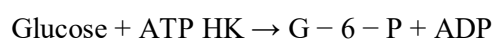
O diagnóstico de diabetes gestacional é feito com base nos seguintes valores (25):

- Glicemia de jejum (a realizar na 1ª consulta de gravidez) ≥ 92 mg/dl e < 126 mg/dl;
- Caso a glicemia de jejum < 92 mg/dl, é feito PTOG com 75g de glucose, às 24-28 semanas de gestação.

É critério para diagnóstico gestacional a confirmação de um ou mais valores:

- a) às 0 horas, glicemia ≥ 92 mg/dL;
- b) à 1 horas, glicemia ≥ 180 mg/dL;
- c) às 2 horas, glicemia ≥ 153 mg/dl.

A determinação da glucose baseia-se no método enzimático de referência da hexoquinase. A hexoquinase catalisa a fosforilação da glucose em glucose-6-fosfato por ATP. A Glucose-6-fosfato desidrogenase oxida a glucose-6-fosfato na presença de NADP em gluconato-6-fosfato. A taxa de formação de NADPH durante a reação é diretamente proporcional à concentração de glucose, a qual é determinada fotometricamente (26).



Método de determinação: Teste UV, método enzimático de referência com hexoquinase.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro, plasma em EDTA, urina e LCR.

Valores de referência: Glicemia em jejum: <106 mg/dL

Hemoglobina Glicada (HbA1c)

O doseamento da hemoglobina glicada (HbA1c) é um indicador de grande utilidade clínica, principalmente nos doentes diabéticos, pois permite obter uma retrospectiva dos níveis médios de glicemia dos últimos 120 dias. É uma hemoglobina formada através de uma reação não-enzimática. Como a quantidade de HbA1c formada depende da quantidade de glicose presente no sangue periférico, esta fornece informações importantes sobre o estado glicémico do utente (27).

A HbA1c resulta de uma reação não enzimática, lenta e irreversível (glicação), que ocorre entre a glucose que circula no sangue e os grupos amina livres existentes na hemoglobina A (HbA) dos eritrócitos. Esta reação varia em função da concentração da glucose a que os eritrócitos são expostos, ao longo do seu tempo de vida (27).

O D-10TM Hemoglobin Testing System (Figura 5), da Bio-Rad, é um equipamento com um método integrado para a separação e determinação da percentagem relativa de hemoglobinas (por exemplo, A2, F, A1c) no sangue total. A separação baseia-se em princípios de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) por troca de iões (28).



Figura 5 - Equipamento D-10TM Hemoglobin Testing System, da Bio Rad®.

As amostras (sangue total em tubo com anticoagulante EDTA) são automaticamente diluídas no D10TM e injetadas na coluna de análise. O analisador fornece um gradiente tamponado programado para aumentar a força iônica da coluna, onde as hemoglobinas são separadas com base nas suas interações iônicas com o material da coluna. De seguida, as hemoglobinas separadas passam pela célula de fluxo do fotómetro de filtro, onde as absorvências são medidas a 415 nm (28).

Valores de referência: 5,7-6,5 %: risco de Diabetes Mellitus; > 6,5 %: Diabetes Mellitus.

Microalbuminúria

Quando ocorre excreção diminuta, mas anómala, de albumina na urina estamos perante um caso de microalbuminúria. As causas da microalbuminúria podem ser glomerulares (devidas a microangiopatia diabética, hipertensão, lesão glomerular menor), tubulares (inibição da reabsorção) ou pós-renais (29).

A determinação da microalbuminúria é utilizada como parâmetro de avaliação e prevenção da nefropatia diabética, que se desenvolve em cerca de 40% dos indivíduos diabéticos(29).

Método de determinação: Ensaio imunoturbidimétrico.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: urina de 24 horas ou amostra de urina aleatória para determinação qualitativa (29).

Valores de referência: Urina de 24 horas: < 30mg/24h (29).

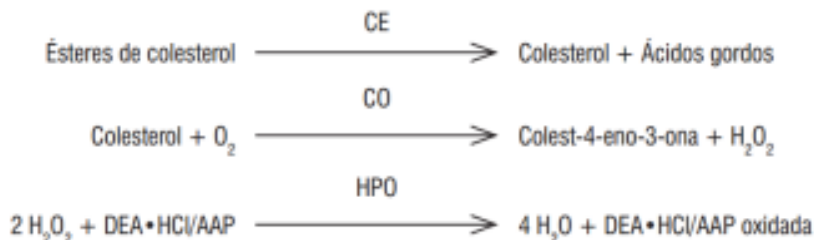
Avaliação do Metabolismo Lipídico

Colesterol Total

O colesterol é um esteroide sintetizado em vários tecidos, mas principalmente no fígado e parede intestinal. A maior parte do colesterol é recém sintetizado e uma pequena parte provém da ingestão alimentar. A sua determinação é importante no despiste de risco aterosclerótico e no diagnóstico e tratamento de distúrbios envolvendo níveis elevados de colesterol, bem como distúrbios metabólicos de lipídios e lipoproteínas (30).

O método de determinação do colesterol é através de colorimetria enzimática. A esterase do colesterol (CE) catalisa a hidrólise dos ésteres de colesterol para produzir colesterol livre que, juntamente com o colesterol livre pré-existente, é oxidado numa reação catalisada pela colesterol

oxidase (CO) para formar colest-4-eno-3-ona e peróxido de hidrogénio. Na presença da peroxidase (HPO), o peróxido de hidrogénio irá oxidar a N,N-dietilanolina-HCl/4-aminoantipirina (DEA-HCl/AAP), produzindo um cromóforo. A absorvência é medida utilizando uma técnica policromática de ponto final, sendo diretamente proporcional à concentração de colesterol total presente na amostra (30).



Método de determinação: A determinação é feita por colorimetria enzimática.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: <190 mg/dL.

Colesterol HDL (do inglês, High Density Lipoproteins)

As lipoproteínas de alta densidade (HDL) têm como principal função o transporte reverso do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde é metabolizado e transformado em ácidos biliares sendo considerado um mecanismo de proteção contra doenças cardiovascular.

A sua determinação é útil na identificação de doentes em risco de doença aterosclerótica pois existe uma correlação inversa entre as concentrações séricas de colesterol HDL e o risco de doença aterosclerótica. Concentrações elevadas de HDL são consideradas preventivas de lesões ateroscleróticas. Os níveis baixos de HDL aumentam o risco de doença cardiovascular, sobretudo quando associados a um aumento de triglicéridos (31).

Método de determinação: A determinação é feita por colorimetria enzimática.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: <45 mg/dL.

Colesterol LDL (do inglês, *Low Density Lipoproteins*)

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) derivam das lipoproteínas VLDL, ricas em triglicéridos, a partir da ação de enzimas sintetizadas no fígado. O colesterol das LDL fornece a principal fonte de substrato para a síntese de hormonas esteroides, no entanto quando presente em níveis elevados ocorre a deposição de colesterol na parede das artérias, podendo levar à aterosclerose(31).

O colesterol-LDL é calculado pela Fórmula de Friedewald, se os triglicéridos forem inferiores a 400 mg/dL:

$$\text{Colesterol-LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol Total} - (\text{colesterol-HDL} + \text{Triglicéridos}/5)$$

Já se os triglicéridos forem superiores a 400 mg/dL a determinação é feita por colorimetria enzimática.

Método de determinação: A determinação é feita por colorimetria enzimática.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: <100 mg/dL.

Triglicéridos

Os triglicéridos são em parte sintetizados no fígado e a outra é proveniente da dieta. A determinação dos triglicéridos é utilizada no diagnóstico e tratamento de doentes com diabetes mellitus, nefrose, obstrução hepática, alterações do metabolismo dos lípidos e inúmeras outras doenças endócrinas. O aumento da concentração destes lípidos é considerado como um fator de risco independente para a aterosclerose (32).

Método de determinação: A determinação é feita por colorimetria enzimática. A colheita da amostra deve ser feita em jejum de 12 horas e o utente deve evitar o consumo de gorduras na véspera (32).

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: <150 mg/dL.

Avaliação das Proteínas

Proteínas Totais

As proteínas plasmáticas são sintetizadas sobretudo no fígado, células plasmáticas, gânglios linfáticos, baço e medula óssea. O doseamento das proteínas totais no soro é utilizado no diagnóstico e tratamento de diversas patologias que envolvem o fígado, rim ou medula óssea, assim como perturbações metabólicas ou nutricionais (33).

A hipoproteïnemia pode ser causada por doenças e perturbações como perda de sangue, caquexia aftosa, síndrome nefrótica, queimaduras graves, síndrome de retenção de sal e Kwashiorkor (deficiência proteica aguda). Enquanto na hiperproteïnemia ocorre casos de desidratação grave e mieloma múltiplo (33).

Método de determinação: Método colorimétrico.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series (34).

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: Proteínas Totais Séricas: 6,6-8,7 g/dL; Proteinúria (urina de 24h): <140 mg/24h.

Proteína C Reativa (PCR)

A proteína C reactiva é a proteína clássica da fase aguda das reações inflamatórias e é sintetizada pelo fígado. As concentrações da PCR aumentam rapidamente durante os processos inflamatórios. A medição das alterações da concentração de PCR proporciona informações úteis, em termos de diagnóstico, para avaliar quão aguda e quão grave é uma doença (34).

A determinação desta proteína é utilizada para detetar processos inflamatórios sistémicos, para avaliar o tratamento de infeções bacterianas com antibióticos, detetar infeções intra-uterinas, diferenciar entre as formas ativa e inativa de doenças com infeções concomitantes, monitorizar terapêuticamente doenças reumáticas e avaliar a terapêutica anti-inflamatória e determinar a presença de complicações pós-operatórias (34).

Método de determinação: Teste imunoturbidimétrico (34).

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series (34).

Amostra: Soro ou plasma em heparina (34).

Valores de referência: valor para adultos < 5 mg/L (< 47.6 nmol/L).

Antigénio carcinoembrionário (CEA)

O antigénio carcinoembrionário (CEA) pertence ao grupo dos antigénios carcinofetais que são produzidos durante o período embrionário e fetal. Tem sido proposto que o CEA desempenha um papel em processos biológicos como a imunidade, apoptose e adesão celular. Após o nascimento a expressão do CEA é suprimida, sendo que nos tecidos adultos normais a sua expressão é muito baixa (35).

Pode observar-se concentrações elevadas de CEA nos casos de adenocarcinoma colorrectal e aumentos ligeiros a moderados de CEA nas doenças não malignas dos intestinos, do pâncreas, do fígado e dos pulmões (cirrose hepática, hepatite crónica, pancreatite, colite ulcerosa, doença de Crohn) (35).

Por outro lado, o tabagismo também pode dar origem a valores elevados de CEA, devendo ser tido em consideração ao interpretar os níveis de CEA (35).

As determinações de CEA não são recomendadas para o rastreio oncológico na população em geral e as concentrações de CEA dentro do intervalo normal não excluem a possível presença de uma doença maligna (35).

A principal indicação das determinações de CEA consiste na monitorização do tratamento do carcinoma colorrectal, fornecer informações prognósticas e ajudar no tratamento cirúrgico (35).

Método de determinação: Ensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou “ECLIA” (35).

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series (35).

Amostra: Soro ou plasma em heparina (35).

Valores de referência: Todos: 20-69 anos: 4.7 ng/mL; 40-69 anos: 5.2 ng/mL. Não fumadores (ex-fumadores/nunca fumadores): 20-69 anos: 3.8 ng/mL; 40-69 anos: 5.0 ng/mL. Fumadores (actuais): 20-69 anos: 5.5 ng/mL; 40-69 anos: 6.5 ng/mL. (35)

Avaliação da Função Hepática

AST (Aspartato aminotransferase)

A aspartato aminotransferase (AST) também conhecida por transaminase glutâmica-oxalacética (GOT) é uma enzima que está distribuída por vários tecidos, principalmente tecido hepático, cardíaco, muscular e renal. Em doenças que envolvem estes tecidos os níveis séricos de AST encontram-se aumentados. As doenças hepatobiliares, como a cirrose, o carcinoma metastático e a hepatite viral, também provocam um aumento dos níveis séricos de AST (36).

A determinação é feita por colorimetria enzimática. Não requer preparação prévia do utente. No entanto, é importante evitar amostras hemolisadas (36).

A AST catalisa a transaminação do L-aspartato em α -cetoglutarato, formando L-glutamato e oxalacetato. O oxalacetato é reduzido para malato pela enzima malato desidrogenase (MDH) com oxidação simultânea da forma reduzida do NADH. A redução da absorvência devida à conversão de NADH em NAD⁺, é diretamente proporcional à atividade da AST (36).

Método de determinação: O ensaio segue a recomendação da IFCC

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: Homem: <40 UI/L; Mulher: <32 UI/L.

ALT (Alanina aminotransferase)

A presença da enzima alanina aminotransferase (ALT) também denominada de transaminase glutâmica-pirúvica (GPT) está presente em praticamente todos os tecidos do organismo, principalmente no fígado, logo o aumento da atividade da ALT serve para diagnóstico de doenças hepáticas. É visível um aumento da ALT sérica na hepatite, cirrose, icterícia obstrutiva, carcinoma do fígado e no abuso crónico de álcool (37).

Embora tanto a AST sérica como a ALT fiquem elevadas quando ocorrem patologias que afetam a integridade celular hepática, a ALT é a enzima mais específica do fígado, por isso, o aumento da atividade da ALT persiste durante mais tempo do que o aumento da atividade da AST (37).

A determinação é feita por colorimetria enzimática. Não requer preparação prévia do utente. No entanto, é importante evitar amostras hemolisadas.

A ALT catalisa a transaminação de L-alanina em α -KG, formando L-glutamato e piruvato. O piruvato formado é reduzido para lactato pela desidrogenase láctica (LDH, do inglês lactate dehydrogenase) com oxidação simultânea da forma reduzida do NADH. A redução da absorvência é diretamente proporcional à atividade da ALT (37).

Método de determinação: O ensaio segue a recomendação da IFCC

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: Homem: <41 UI/L; Mulher: <33 UI/L.

γ -Glutamyltransferase (GGT)

A GGT é uma enzima que está presente nas células hepáticas e de outros tecidos (rins, pâncreas, vias biliares, baço, coração, cérebro, pulmões e vesícula seminal), exceto no músculo. No entanto, quando presente em circulação é essencialmente proveniente do sistema hepatobiliar, apresentando valores elevados em todas as formas de doença hepática, especialmente na obstrução biliar, hepatite viral ou medicamentosa, pancreatite, corticoterapia e metástase hepáticas (38).

A GGT é utilizada no diagnóstico e monitorização de doenças hepatobiliares, uma vez que a sua atividade enzimática é um marcador hepático bastante sensível e, por vezes, é o único parâmetro com valores elevados. A GGT é também utilizada como um parâmetro de despiste para o alcoolismo (38).

O doseamento da GGT é útil para diferenciar causas de elevação da ALP, apresentando valores normais na gravidez, crescimento e patologias de carácter ósseo (38).

A determinação é feita por colorimetria enzimática. A GGT catalisa a transferência da glutamil da γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitranilida (GCNA) para a glicilglicina, com libertação do 5-amino-2-nitrobenzoato, medido utilizando uma técnica de cinética bicromática, sendo proporcional à atividade da GGT (38).

Método de determinação: Ensaio colorimétrico enzimático.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: Homem: 5-36 UI/L; Mulher: 8-61 UI/L.

Fosfatase Alcalina (FA)

A FA, também denominada por ALP, sérica é constituída por quatro genótipos estruturais: tipo fígado-osso-rim, tipo intestinal, tipo placentário e variante das células germinais. A isoenzima fígado-osso-rim é a mais importante. Está presente em praticamente todos os tecidos do organismo, especialmente ao nível das membranas celulares, ocorrendo em níveis particularmente elevados ao nível do fígado, epitélio intestinal, túbulos renais, osso (osteoblastos) e placenta (39).

Ocorre um aumento da atividade da fosfatase alcalina em todas as formas de colestase, particularmente na icterícia obstrutiva. Esta também elevada em doenças ósseas, devido ao aumento da atividade osteoblástica (por exemplo: doença de Paget, metástases ósseas e osteomalacia) (39).

Método de determinação: Colorimetria enzimática. Não requer preparação prévia do utente. É importante evitar amostras hemolisadas.(39).

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em EDTA.

Valores de referência (variam com a idade, sexo e gravidez): Homem: 40-129 UI/L; Mulher: 35-104 UI/L.

Bilirrubina

A bilirrubina é o principal produto do metabolismo do heme da hemoglobina e forma-se durante a degradação dos eritrócitos envelhecidos. É usada no diagnóstico e tratamento de distúrbios hepáticos, hemolíticos e metabólicos, como a hepatite e o bloqueio da vesícula biliar (40).

Quando a produção de bilirrubina, em processos hemolíticos, é superior à capacidade de metabolização do fígado, os níveis sanguíneos de bilirrubina não conjugada (indireta) aumentam. A imaturidade hepática e outras patologias em que o mecanismo de conjugação da bilirrubina está alterado provocam aumentos semelhantes de bilirrubina indireta em circulação. A obstrução do canal biliar ou danos da estrutura hepatocelular levam ao aumento dos níveis séricos da bilirrubina conjugada (direta) e da não conjugada (40).

A determinação é feita por colorimetria enzimática(40,41).

A bilirrubina (não conjugada) na amostra é solubilizada por diluição numa mistura de cafeína/benzoato/acetato/EDTA. Com a adição de ácido sulfanílico diazotado, a bilirrubina solubilizada, incluindo a bilirrubina conjugada, é convertida em diazo-bilirrubina, um cromóforo

vermelho, medido utilizando uma técnica bicromática de ponto final (540, 700nm), que é proporcional à concentração de bilirrubina total presente na amostra. Nesta técnica é utilizado um branco de amostra para eliminar a interferência de outros pigmentos que não a bilirrubina (40).

Já na bilirrubina direta a amostra é diluída em HCl 0.5M. É efetuada uma leitura de um branco de amostra para eliminar a interferência de outros pigmentos que não a bilirrubina. Com a adição de ácido sulfanílico diazotado, a bilirrubina conjugada é convertida em diazo-bilirrubina, um cromóforo vermelho, medido utilizando uma técnica bicromática de ponto final (540, 700nm), que é proporcional à concentração de bilirrubina direta presente na amostra(41).

Método de determinação: Método Colorimétrico Diazo.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: Bilirrubina total: <1,20 mg/dL; Bilirrubina direta: <0,20 mg/dL;

Bilirrubina indireta: 0,1-1,0 mg/dL.

Avaliação da Função Renal

Creatinina

A creatinina é um produto proveniente do metabolismo muscular, formada a partir de fosfato de creatina. A quantidade de creatinina presente no plasma depende da massa muscular do indivíduo (42).

A determinação da creatinina no soro ou no plasma constitui o método utilizado com mais frequência para avaliar a função renal, pois a creatinina é excretada principalmente a nível renal. Verifica-se um aumento da creatinina sérica em situações como insuficiência renal, doenças musculares e tratamento de diálise prolongado. Enquanto baixos níveis de creatinina sérica ocorrem na gestação ou hepatopatia crónica (42).

A depuração da creatinina que é um teste consideravelmente mais sensível e que permite obter uma melhor estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG), também denominada por clearance da creatinina, permite uma avaliação mais sensível da taxa de filtração glomerular, útil na deteção e monitorização da função renal. Para esta análise é necessária a recolha de urina de 24 horas e amostra de sangue. A determinação da clearance de creatinina é feita através da seguinte fórmula (42):

$Clearance$ da creatinina (mL/minuto) = $\frac{\text{Concentração da Creatinina Urinária (mg/dL)} \times \text{Volume de Urina (mL/minuto)}}{\text{Concentração de Urina Sérica (mg/dL)}}$

Método de determinação: Ensaio colorimétrico cinético baseado no método Jaffé.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro, plasma em heparina e urina. (42)

Valores de referência (variam com a massa muscular): Creatinemia: Homem 0,7-1,2 mg/dL, Mulher 0,5-0,9 mg/dL; Creatinúria (urina de 24h): Homem 0,7-1,6 g/24h, Mulher 1,0-2,4 g/24h; *Clearance* da creatinina: 95-160 ml/min (42).

Ureia

A ureia é um composto azotado não proteico e é considerada, tal como a creatinina e ácido úrico, um marcador endógeno mais frequentemente utilizado na avaliação da função renal e nas alterações pré-renal, pós-renal ou renais (43).

É sintetizada no ciclo da ureia no fígado, a partir da amónia que é produzida por desaminação dos aminoácidos. A ureia é excretada principalmente pelos rins, mas também pelo suor, e é degradada nos intestinos por ação de bactérias. A determinação de azoto ureico no sangue é o parâmetro mais utilizado para avaliar a função renal (43).

O aumento da concentração de azoto de ureia no sangue é observado em casos de perfusão renal inadequada, choque, diminuição do volume sanguíneo (causas pré-renais), nefrite crónica, nefrosclerose, necrose tubular, nefrite glomerular (causas renais) e obstrução do aparelho urinário (causas pós-renais). Os valores podem também estar elevados quando há um aumento da ingestão proteica (43).

Método de determinação: teste cinético com urease e glutamato desidrogenase.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em EDTA e urina (43).

Valores de referência: Azotemia: 16,6-48,6 mg/dL; Azotúria (urina de 24h): 25,7-42,9 g/24h (43).

Ácido Úrico

O ácido úrico é o produto final do metabolismo das purinas no organismo. As determinações de ácido úrico são usadas no diagnóstico e tratamento de diversas perturbações renais e metabólicas, incluindo insuficiência renal, gota, leucemia, psoríase, subnutrição(44).

Método de determinação: Ensaio colorimétrico.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro, plasma em heparina ou urina (44).

Valores de referência: Homem: 2,4-5,7 mg/dL; Mulher: 3,4-7,0 mg/dL. (44).

Avaliação da Função Pancreática

Amilase

A amilase é uma enzima produzida no pâncreas e na saliva. Sendo esta enzima é um parâmetro importante na avaliação da função pancreática e no diagnóstico e monitorização da pancreatite aguda. A atividade da amilase sérica, na pancreatite aguda, aumenta em cerca de 3 horas, o pico máximo é atingido ao fim de 12 horas e diminui após 5 dias. Contudo, a amilasemia não ocorre somente na pancreatite aguda ou na fase inflamatória da pancreatite crónica, pode também ocorrer na insuficiência renal, patologias das glândulas salivares, inflamação pulmonar, entre outras. Desta forma, como confirmação, recomenda-se a determinação de outra enzima específica do pâncreas, como a lipase (45).

Método de determinação: Ensaio colorimétrico.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina(45).

Valores de referência: Amilasemia: 28-100 U/L; Amilasúria: homem 16-491 U/L, mulher 21-447 U/L. (45).

Lípase

A lípase, sintetizada essencialmente no pâncreas, também pode ser secretada pela língua, mucosa gástrica, pulmonar e intestinal (46).

Tal como a amilase, a lipase tem sido um dos parâmetros clínicos mais importantes no diagnóstico e monitorização de doenças pancreáticas. Esta enzima é cada vez mais utilizada devido à sua elevada especificidade e resposta rápida. A atividade da lipase, após uma pancreatite aguda, aumenta durante 4 a 8 horas, atinge o pico após 24 horas e diminui a partir de 8 a 14 dias. Ou seja, permanece mais tempo em circulação em episódios agudos, comparativamente com a amilase (46).

A determinação é feita por teste colorimétrico enzimático, onde o substrato produzido na reação é proporcional à concentração de lipase presente na amostra (46).

Método de determinação: Ensaio colorimétrico.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou de plasma em heparina (46).

Valores de referência: até 59 U/L (46).

Avaliação do Metabolismo do Ferro

Ferro

O ferro é um elemento crucial para um bom funcionamento do organismo. É o componente não-proteico da hemoglobina, da mioglobina e dos citocromos. O tecido com maior necessidade de aporte em ferro é a medula óssea para a síntese de hemoglobina, sendo este aporte garantido pela dieta (47).

A deficiência de ferro pode causar uma falha na síntese do heme e, como a hemoglobina é necessária para o fornecimento de oxigénio nos tecidos, anemia e hipoxia do tecido. Porém, capacidade de armazenamento é limitada e em excesso torna-se tóxico para o organismo (47).

As determinações de ferro são feitas através de métodos fotométricos e utilizadas no diagnóstico e tratamento de doenças como anemia por deficiência de ferro, hemocromatose e doenças renais crónicas. Quando as concentrações séricas de ferro se encontram elevadas, ocorrem desordens de sobrecarga de ferro, como por exemplo, anemias hemolíticas (por destruição dos eritrócitos), danos hepáticos agudos, ingestão oral de medicamentos de ferro e transfusões sanguíneas (47).

Por outro lado, as determinações de ferro ocorrem quando a concentração de ferro sérico se encontra diminuída em situações como anemia por deficiência de ferro, doenças inflamatórias crónicas e agudas, e hemorragias agudas (47).

Método de determinação: Ensaio colorimétrico.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostras: Soro ou plasma em heparina (47).

Valores de referência: 33-193 µg/L.(47).

Ferritina

Os níveis de ferritina sérica indicam com exatidão os níveis de ferro que se encontram armazenados no organismo, visto que a sua concentração é proporcional às reservas de ferro, e são úteis em situações de suspeita de deficiência ou sobrecarga de ferro. Se se observa um aumento de ferro no organismo, as concentrações séricas de ferritina ficam igualmente elevadas. No entanto, numa resposta de fase aguda os níveis de ferritina podem ser demasiado elevados e dificultar o diagnóstico de deficiência de ferro (48).

É um indicador precoce, manifestando alterações antes da diminuição dos níveis séricos de ferro e do aparecimento de anomalias morfológicas nos eritrócitos (48).

Método de determinação: método CMIA.

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR.

Amostras: Soro ou plasma em heparina (48).

Valores de referência: Homem: 21,8-274,7 ng/mL; Mulher:4,6-204 ng/mL.(48).

Transferrina

A transferrina é essencial para o transporte do ferro para os locais de armazenamento, como células do sistema reticuloendotelial do fígado, baço, medula óssea e para as células que sintetizam compostos contendo ferro (hemoglobina, mioglobina e citocromo). A transferrina é produzida no fígado e os seus níveis plasmáticos influenciados pela disponibilidade de ferro. A carência de ferro leva a um aumento da sua síntese (49).

Método de determinação: Método turbidimétrico.

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: Soro ou plasma em heparina.

Valores de referência: 200-360 mg/dL.

Sistema endócrino

Eixo Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenais

Cortisol

O cortisol é o principal produto glucocorticóide do córtex suprarrenal e tem como funções fisiológicas a regulação do metabolismo dos hidratos de carbono, eletrólitos e distribuição de água no organismo. O cortisol tem também uma atividade imunossupressora e anti-inflamatória. Os níveis de cortisol são mais elevados de manhã e mais baixos na primeira metade da noite. A sua determinação é utilizada no diagnóstico e tratamento de distúrbios suprarrenais (50).

A principal razão para medir o cortisol é diagnosticar doenças humanas que são causadas pela superprodução de cortisol em Síndrome de Cushing (CS), deficiência na excreção de esteroides adrenais em doença de Addison e para monitoramento da terapia, teste de supressão na síndrome de Cushing e terapia de reposição hormonal (50).

A determinação quantitativa de cortisol é feita através da tecnologia de micropartículas por quimioluminescência (CMIA) (50).

Método de determinação: tecnologia de micropartículas por quimioluminescência (CMIA).

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series.

Amostra: soro, plasma ou urina (50).

Valores de referência: 7-10 horas: 3,7-19,4 µg/dL; 15 e 17 horas: 2,9-17,3 µg/dL; Urina: 4,3-176,0 µg/24h (50).

Eixo Hipotálamo-Hipófise-Gónadas

Estradiol

O estradiol pertence à família dos estrogênios que são responsáveis pelo desenvolvimento das características secundárias do sexo, bem como todos os processos importantes reprodutivos femininos (51).

O estradiol é produzido principalmente no ovário, mas também são formadas pequenas quantidades nos testículos e no córtex suprarrenal. Durante a gravidez, é formado principalmente na placenta (51).

A determinação quantitativa de estradiol é útil para avaliar diversos distúrbios sexuais, distúrbios no ciclo menstrual, menopausa e indução de ovulação. Permite também monitorizar a fertilidade durante o tratamento no âmbito de fertilização in vitro (FIV), distúrbios no eixo hipotálamo-

hipófise-gónadas, ginecomastia e tumores ovarianos e testiculares. A determinação desta hormona juntamente com as medições de LH e FSH são utilizadas no diagnóstico da menopausa (51).

Método de determinação: Imunoensaio competitivo.

Equipamento utilizado na determinação: VIDAS

Amostra: Soro (51).

Valores de referência: Homem: 0,0-56,0 pg/mL; Mulher: Fase folicular 20,0-160,0 pg/mL, Fase ovulatória 34,0-400,0 pg/mL, Fase luteínica 27,0-246,0 pg/mL, Pós-menopausa 0,0-93,0 pg/mL; Contraceptivos Orais: 0,0-120,0 pg/mL (51).

Progesterona

A progesterona é uma hormona esteroide produzida, essencialmente, pelo corpo lúteo no ovário e pela placenta durante a gravidez. As principais funções da progesterona consistem na preparação do útero para implantação e manutenção da gravidez (52).

A progesterona sérica é um indicador confiável da ovulação por causa do seu rápido aumento após a ovulação. Os distúrbios na ovulação são responsáveis pela infertilidade. Assim sendo, a determinação da progesterona é utilizada no diagnóstico de fertilidade para a deteção de ovulação e avaliação da fase luteínica (52).

Método de determinação: tecnologia CMIA (52).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (52).

Amostra: Soro ou plasma em EDTA (52).

Valores de referência: Homem: 0,2-1,4 ng/mL; Mulher: Fase folicular - 0,2-1,5 ng/mL, Fase ovulatória - 0,8-3,0 ng/mL, Fase luteínica - 1,4-27,0 ng/mL, Pós-menopausa - 0,1-0,8 ng/mL; Gravidez: 1.º Trimestre - 9,0-48,0 ng/mL, 2.º Trimestre - 17,0-50,0 ng/mL, 3.º Trimestre - 50,0-160,0 ng/mL; Contraceptivo Orais: <1,4 ng/mL. (52).

FSH (Hormona Folículo-estimulante)

A FSH é uma glicoproteína, que tal como a LH pertence à família das gonadotrofinas. A FSH controla o crescimento e as atividades reprodutivas das gónadas, promove o desenvolvimento

folicular no ovário e a gametogénese nos testículos. Durante a menopausa, verificam-se níveis elevados de FSH e a diminuição da secreção de estrogénios. A razão LH/FSH poderá estar aumentada na síndrome do ovário poliquístico. Já nos homens, os níveis de FSH encontram-se elevados em situações clínicas como a síndrome de Klinefelter e quando ocorre insuficiência das células de Sertoli (53).

Método de determinação: tecnologia CMIA (53).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (53).

Amostra: Soro ou plasma em EDTA (53).

Valores de referência: Homem: 0,7-11,1 UI/L; Mulher: Fase folicular - 2,8-11,3 UI/L, Fase ovulatória - 3,0-21,0 UI/L, Fase luteínica - 1,2-9,0 UI/L, Pós-menopausa - 21,7-153,0 UI/L; Contraceptivos orais: 0,0-4,9 UI/L. (53).

LH (Hormona Luteinizante)

A LH é uma glicoproteína e pertence à família das gonadotrofinas, sendo responsável por regular e estimular o crescimento e funcionamento das gónadas. As concentrações de LH atingem um pico no momento da ovulação, induzindo-a e à formação do corpo lúteo (54).

A determinação da concentração de LH é essencial para a previsão da ovulação, na avaliação da infertilidade e no diagnóstico de distúrbios gonadais. Na mulher, os níveis elevados de LH podem indicar amenorreia primária, menopausa, insuficiência vária prematura e síndrome do ovário policístico. Já nos homens, o papel principal da LH é estimular a produção de testosterona pelas células de Leydig e o seu aumento pode indicar insuficiência testicular, síndrome de Klinefelter e insuficiência nas células de Sertoli (54).

Método de determinação: tecnologia CMIA (54).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (54).

Amostra: Soro ou plasma em EDTA (54).

Valores de referência: Homem: 0,8-7,6 UI/L; Mulher: Fase folicular - 1,1-11,6 UI/L, Fase ovulatória - 17,0-77,0 UI/L, Fase luteínica - 0,0-14,7 UI/L, Pós-menopausa - 11,3-39,8 UI/L; Contraceptivos orais: 0,0-8,0 UI/L. (54)

hCG (Gonadotropina Coriônica humana)

A gonadotrofina coriônica humana (hCG) é uma glicoproteína que inicialmente é secretada pelas células trofoblásticas da placenta logo após a implantação do óvulo fertilizado na parede uterina. O rápido aumento nos níveis séricos de hCG após a concepção é um excelente marcador para a confirmação precoce e acompanhamento da gravidez (55).

A estrutura da hCG é semelhante às três hormonas hipofisárias (FSH, LH e Hormona Estimuladora da Tireoide). Normalmente, as concentrações de hCG são apenas detetadas no sangue e urina de mulheres grávidas, assim sendo, valores elevados da hormona em mulheres não grávidas podem indicar a ocorrência de tumores (55).

Por outro lado, a medição sérica da β -hCG pode ser útil na predição de abortos espontâneos, detecção de gravidez ectópica e gestação múltipla (55).

Método de determinação: tecnologia CMIA (55).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (55).

Amostra: Soro ou plasma em EDTA (55).

Valores de referência: Soro, plasmas em EDTA: <1,2 UI/L; Gravidez: 1-10 semanas - 1,2-417430 UI/L, 11-15 semanas - 16996-247465 UI/L, 16-22 semanas - 6860-50239 UI/L, 23-40 semanas - 1583-65911 UI/L (55).

Prolactina

A prolactina é sintetizada na hipófise anterior e atua diretamente nas glândulas mamárias no desenvolvimento e diferenciação das mesmas. As concentrações elevadas de prolactina têm uma ação inibidora na génese dos esteroides dos ovários e na produção e secreção de gonadotropina pela hipófise. Durante a gravidez, a concentração de prolactina aumenta sob a influência da produção elevada de estrogénio e da produção de progesterona (56).

A prolactina pode estar envolvida na manifestação de insulinoresistência, pois afeta ainda o metabolismo lipídico e da glucose (56).

A determinação da prolactina é utilizada no diagnóstico de hiperprolactinemia e endometriose peritoneal (56).

Método de determinação: Ensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou “ECLIA”)(56).

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series (56).

Amostra: Soro ou plasma em heparina (56).

Valores de referência: Homens: 86-324 $\mu\text{UI/mL}$; Mulheres (não grávidas): 102-496 $\mu\text{UI/mL}$. (56).

Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tiroide

TSH (Hormona Estimuladora da Tiroide)

A TSH é uma glicoproteína sintetizada pela hipófise anterior e estimula a produção e secreção das hormonas da tiroide, tiroxina (T4) e triiodotironina (T3). A T3 e T4 são responsáveis por regular diversos processos bioquímicos em todo o corpo que são essenciais para o desenvolvimento normal e atividade metabólica e neural (57).

A determinação da TSH é utilizada no diagnóstico da tiroide, uma vez que é específica da mesma e muito sensível. No entanto, é importante complementar com outros exames laboratoriais, como a determinação de T4 Total, T4 Livre e T3 Total, com forma de melhorar o diagnóstico da tiroide (57).

Método de determinação: tecnologia CMIA (57).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (57).

Amostra: Soro (57).

Valores de referência: 0,4-4,0 mUI/L (57).

T3 (Triiodotironina)

A Triiodotironina é uma hormona da tiroide, essencialmente formada no fígado por conversão da T4. A T3 tem um papel importante na manutenção do estado eutiroideo. A determinação de T3 é útil no diagnóstico de alterações na tiroide, bem como em casos de deficiência de iodo (58).

A determinação do T3 livre é útil no diagnóstico e tratamento de hipertireoidismo. O T3 livre também pode ser importante na monitorização de pacientes em terapia anti tireoidiana em que o tratamento é focado na redução da produção de T3 e a conversão de T4 em T3 (58).

Método de determinação: tecnologia CMIA (58).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (58).

Amostra: Soro ou plasma em EDTA (58).

Valores de referência: 0,8-2,0 ng/mL(58).

T4 (Hormona Tiroxina)

A T4 é a principal hormona da tiroide e é por ela segregada. Clinicamente, a determinação de T4 é útil no diagnóstico da tiroide. Valores elevados de T4 podem indicar hipertiroidismo, enquanto níveis baixos de T4 podem indicar hipotiroidismo (59).

Método de determinação: tecnologia CMIA (59).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (59).

Amostra: Soro (59).

Valores de referência: 4,5-12,5 µg/L (59).

Metabolismo Mineral-Ósseo

Cálcio

O cálcio é o elemento mineral mais abundante no organismo, encontrando-se na sua maioria nos ossos, mas também no tecido mole e líquido extracelular. A nível extracelular, é útil para fornecer iões para a manutenção do cálcio intracelular, mineralização óssea, coagulação, manutenção do potencial de membrana citoplasmática, contração muscular, atividade enzimática e secreção hormonal (60).

Pode observar-se um aumento dos níveis séricos de cálcio (hipercalcemia) no mieloma múltiplo e noutras doenças neoplásicas. Já a diminuição dos níveis séricos do cálcio (hipocalcemia) pode ser observada em casos de hipoparatiroidismo, nefrose e pancreatite (60).

Método de determinação: 2-Point End (60).

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series (60).

Amostra: Soro, plasma em heparina ou urina (60).

Valores de referência: Soro/plasma 0.20-5.0 mmol/L (0.8-20.1 mg/dL); Urina 0.20-7.5 mmol/L (0.8-30.1 mg/dL).

Fósforo

O fósforo, na sua forma de fosfato inorgânico, encontra-se distribuído no organismo. Cerca de 88% do fósforo do corpo está localizado nos ossos. O restante está envolvido no metabolismo de carboidratos intermediários e em substâncias fisiologicamente importantes como fosfolipídios, ácidos nucleicos e ATP (61). No osso desempenha um papel importante no apoio estrutural do corpo e no fornecimento de fosfato para os meios intra e extracelulares (61).

Um aumento no nível de fósforo provoca uma diminuição no nível de cálcio. O mecanismo é influenciado por interações entre a paratormona e a vitamina D (61). O Hipoparatiroidismo, a intoxicação por vitamina D e a insuficiência renal leva à diminuição da filtração glomerular de fosfato e dá origem à hiperfosfatemia. A hipofosfatemia ocorre no raquitismo, hiperparatiroidismo e síndrome de Fanconi (61).

O método para a determinação de fósforo inorgânico é baseado na formação de fosfomolibdato de amónio com subsequente redução para azul de molibdênio (61).

Método de determinação: Método do fosfomolibdato UV (61)

Equipamento utilizado na determinação: Cobas® 6000 Modular Analyzer Series (61)

Amostra: Soro, plasma em heparina e EDTA ou urina (61)

Valores de referência: Soro/plasma 0.10-6.46 mmol/L (0.31-20.0 mg/dL); Urina 1.1-92 mmol/L (3.4-285 mg/dL) (61)

Rastreio de doenças infecciosas na gravidez

Sífilis

A sífilis é causada devido à infeção pela bactéria *Treponema pallidum*, que pode ser transmitida de forma congénita ou por contacto sexual. A doença pode evoluir para uma fase latente em que a sífilis é clinicamente inaparente (62).

Os testes sorológicos, além da avaliação da história clínica do paciente são atualmente os principais métodos para o diagnóstico da sífilis(62).

Método de determinação: tecnologia CMIA (62).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (62).

Amostra: Soro e plasma (62).

Valores de referência: Amostras com valores de $S/CO < 1,0$ são consideradas não reativas; Amostras com valores de $S/CO \geq 1,0$ são consideradas reativas. $S/CO = (\text{amostra}/\text{cutoff})$ (62).

Citomegalovírus (CMV)

A infecção por CMV é um membro da família de herpesvírus e estas infecções em mulheres grávidas, recém-nascidos e indivíduos imunocomprometidos podem representar um risco médico significativo (63).

Em infecções uterinas pode resultar em sequelas de vários graus, incluindo retardo mental, coriorretinite, perda auditiva e distúrbios neurológicos (63).

A reinfeção como vírus exógeno ou reativação do vírus latente pode levar à presença de anti-CMV IgM na ausência de infecção primária por CMV. Embora presença de IgG anti-CMV reduza a probabilidade de complicações relacionadas com a infecção ao CMV, não garante proteção completa contra doença (63).

A aquisição de CMV em lactentes pode ocorrer por via transplacentária após infecção materna ou após o nascimento através da ingestão de leite materno (63).

Um resultado positivo para CMV IgM associado a um resultado de baixa avidéz é um forte indicador de infecção primária por CMV nos últimos 4 meses (63).

Método de determinação: Imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (CMIA) (63).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (63).

Amostra: Soro e plasma (63).

Valores de referência: Amostras com valores de concentração $< 0,85$ são considerados não reativos para anticorpos IgM para CMV e indicam a ausência de infecção aguda. Amostras com valores de concentração $\geq 1,00$ são considerados reativos para anticorpos IgM para CMV e indicam infecção aguda (63).

Amostras com valores de concentração $< 6,0$ AU/mL são considerados não reativos para anticorpos IgG para CMV. Amostras com valores de concentração $\geq 6,0$ AU/mL são considerados reativos para anticorpos IgG para CMV e indicam infecção passada ou aguda (64).

Toxoplasmose

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário parasita intracelular obrigatório que infecta a maioria das espécies de animais de sangue quente, incluindo humanos. A toxoplasmose é adquirida principalmente pela ingestão de carne mal cozida e infetada; via oocistos de fezes, alimentos e água contaminados e materno (65).

A infecção primária durante a gravidez pode resultar em transmissão do parasita resultando em infecção congênita. O risco de infecção congênita é menor (10-25%) se ocorrer durante o primeiro trimestre e mais alto (60-90%) se ocorrer durante o terceiro trimestre (65).

A toxoplasmose congênita provoca coriorretinite, calcificações intracranianas e hidrocefalia (65).

Os testes sorológicos podem ser usados para identificar mulheres soronegativas que devem ser monitoradas durante a gravidez (65).

A presença de anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* indica que a infecção ocorreu, mas não distingue entre infecção recente e passada. Já os anticorpos IgM são detetados em indivíduos com uma infecção recente, mas os anticorpos podem persistir por até 18 meses após a infecção (65).

Uma alta avididade no índice de anticorpos IgG é um forte indício de que a infecção ocorreu há mais de 4 meses (65).

Método de determinação: Imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (CMIA) (65).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (65).

Amostra: Soro e plasma (65).

Valores de referência: Amostras com valores de concentração $< 1,6$ UI/mL são considerados não reativos para anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii*. Amostras com valores de concentração $\geq 3,0$ UI/mL são considerados reativos para anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* e indicam infecção passada ou aguda (65).

Amostras com valores de concentração de 1,6 a $< 3,0$ UI/mL são consideradas zona cinza e podem conter baixos níveis de IgG (65).

Amostras com resultados $< 0,50$ ($< 0,83$ S/CO) são consideradas não reagentes para anticorpos IgM para *Toxoplasma gondii* (66).

Amostras com resultados $\geq 0,60$ ($\geq 1,00$ S/CO) são consideradas reativas para anticorpos IgM para *Toxoplasma gondii* (66).

Amostras com resultados dentro do intervalo $0,50 \leq x < 0,60$ ($0,83 \leq x < 1,00$ S/CO) são considerados zona cinza (66).

Rubéola

A infecção primária por rubéola pós-natal é tipicamente uma infecção leve e autolimitada que é caracterizada pela presença de erupções cutâneas macropapulares, febre, mal-estar e linfadenopatia. Ao contrário das infecções pós-natais, as infecções pré-natais podem ter efeitos que provocam malformações graves no feto, particularmente se ocorrerem durante os primeiros quatro meses de gestação, como é o caso da Síndrome da Rubéola Congénita (SRC) (67). A determinação deste parâmetro na grávida permite verificar o estado de imunização da mesma. A vacinação para a rubéola está incluída no plano nacional de vacinação.

Método de determinação: tecnologia CMIA (67).

Equipamento utilizado na determinação: Architect i2000SR (67).

Amostra: Soro e plasma (67).

Valores de referência: Amostras com valores de concentração $< 1,20$ ($< 0,75$ S/CO) são considerados não reativos para anticorpos IgM para Rubéola. Amostras com valores de concentração $\geq 1,60$ ($\geq 1,00$ S/CO) são considerados reativos para anticorpos IgM para Rubéola (67).

Análise Sumária de Urina

O exame da urina foi o primeiro teste de laboratório realizado na medicina e tem sido usado desde então. (68)

A Análise Sumária da Urina, também denominada por Urina Tipo II, é um exame laboratorial importante para detetar diversos tipos de patologias do trato urinário. A urinálise é uma ferramenta importante na obtenção de informações cruciais para o diagnóstico de diversas patologias sistêmicas, como insuficiência hepática e hemólise. (69)

No laboratório, a urina pode ser caracterizada pela aparência física, química, composição e microscopicamente. O exame físico da urina inclui a descrição da cor, odor, turvação, volume e densidade específica. O exame químico da urina permite a deteção de proteínas, células sanguíneas, glucose, pH, leucócitos, bilirrubina, urobilinogénio, corpos cetónicos e nitritos. O exame microscópico envolve a deteção de cristais, células, cilindros e microrganismos.(68)

Exame Físico da Urina

Cor

A urina é geralmente de cor amarela, devido a um pigmento natural urobilina, mas varia de indivíduo para indivíduo dependendo do estado de hidratação, dieta, medicamentos e outros fatores. (68)

Podem ser observadas diferentes cores de urina, a cor vermelha na urina é devido à presença de hemoglobina, eritrócitos, mioglobina, porfirina ou contaminação menstrual. Uma urina de cor preta/acastanhada quando existe a presença de ácido homogentísico, melanina ou metemoglobina. Já uma urina de cor verde pode ser observada em infecções por *Pseudomonas* e a presença de porfirinas excessivas na urina lhe dará uma cor azul-púrpura.(68)

Odor

O odor da urina varia dependendo do seu pH, dieta e medicamentos. Odores fortes de urina podem estar associados a infecções e a presença de odor frutado de acetona na cetoacidose diabética. (68)

Turvação

A urina deve ser translúcida, embora a turvação não seja obrigatoriamente um sinal de doença. A urina pode ficar turva após refrigeração devido à precipitação de fosfato de cálcio, oxalato de cálcio, ácido úrico ou outros sais e também pode parecer turva se contiver glóbulos brancos, cilindros, secreções vaginais, esperma, bactérias, coágulos sanguíneos ou pequenos cálculos. (68)

Volume

O volume normal de urina excretada por adultos é 1500–1600 mL de urina, em 24 h, com uma média entre 600 e 2000 mL. A produção de menos de 500 mL de urina é chamada de oligúria e pode levar a desidratação devido a vômitos, diarreia, sudorese excessiva ou patologias renais. A excreção de mais de 2.000 mL de urina no período de 24 horas é denominada de poliúria e ocorre com aumento ingestão de água, soro fisiológico ou terapia intravenosa com glicose, consumo de álcool ou cafeína e certos medicamentos diuréticos. Patologicamente é associada ao diabetes. (68)

Exame Químico da Urina

O UC-MAX (figura 6), da Menarini Diagnóstics, é um equipamento que oferece uma abordagem totalmente automatizada na análise da urina. Este equipamento permite determinar 10 parâmetros químicos (incluindo o Bilirrubina, urobilinogénio, corpos cetônicos, ácido ascórbico, glucose, proteínas, sangue, pH, nitritos, leucócitos) com as tiras de teste LabStrip U11 Plus GL e 3 parâmetros físicos (densidade específica, a cor e aspeto da amostra de urina). (70)



Figura 6 – Aparelho UC-MAX, da Menarini Diagnóstics

O analisador utiliza tira-teste para a realização da análise. Cada tira-teste é composta por dez bandas reativas individuais que vão reagir com os compostos presentes na urina, alterando as cores das bandas. As tiras são analisadas à medida que se movem automaticamente através do analisador. Por amostra é utilizada somente uma tira. Quando uma tira é distribuída para utilização, uma alíquota da amostra de urina é pipetada em cada uma das bandas reativas. Os resultados dos testes baseiam-se na leitura de luz refletida, por meio da fotometria de refletância, a uma velocidade de 240 testes por 1 hora. (70)

Bilirrubina

A bilirrubina não é, por norma, detetada na urina, logo, um resultado positivo é sempre patológico e pode indicar disfunção hepática e insuficiência biliar. Resultados falso negativos podem ocorrer quando a urina não é testada imediatamente ou não é armazenado corretamente, pois esta é fotossensível. (68)

Urobilinogénio

O urobilinogénio é um produto do metabolismo da bilirrubina por bactérias no intestino. O urobilinogénio é então filtrado pelos rins e aparece na urina de indivíduos saudáveis. Níveis elevados de urobilinogénio podem indicar doença hepática ou doença hemolítica. (68)

Corpos cetónicos

A cetona é um subproduto da degradação dos ácidos gordos. Estes compostos são liberados no sangue pelo fígado e são utilizados por outros tecidos do corpo como fonte de energia, no entanto, alguns também são filtrados pelos rins e excretados na urina. (68)

A presença de cetonas na urina indica que o organismo está a consumir gordura para fornecer energia. Concentrações detetáveis podem ser devidas à Diabetes Mellitus não controlada, jejum prolongado, desordens gastrointestinais, gravidez, entre outros. (68)

pH

O pH da urina pode variar de 4,5 a 8, mas na maioria das pessoas a urina é levemente ácida devido à formação predominante de ácido. Os valores de pH mais frequentes da urina recente de indivíduos saudáveis variam entre 5 e 6. (68)

Glucose

Em circunstâncias normais a glucose não é detetada na urina. O aparecimento de glucose na urina (glicosúria) ocorre quando os níveis de glicose no sangue aumentam acima de 180 mg/dL, o que excede a capacidade tubular de reabsorção. A Diabetes mellitus é a causa mais comum de aparecimento de glicose na urina, mas também se pode observar glicosúria em patologias do sistema nervoso, rins, sistema endócrino e fígado e problemas metabólicos. (68)

Proteínas

Em indivíduos saudáveis, as proteínas não são detetáveis na urina, apesar de serem excretadas em pequenas quantidades. Têm origem no plasma e no trato urinário, sendo que a excreção de albumina na urina é inferior a 30mg/dia em indivíduos saudáveis. O aumento dessa excreção (30-300mg/dia) é denominado por micro albuminúria e é um indicador precoce de lesões no trato urinário. (68)

Sangue

O princípio para detetar a presença de hemoglobina na urina é a atividade peroxidase da hemoglobina. Na presença de um peróxido, a hemoglobina catalisa a oxidação de um cromogéneo para produzir um produto de cor azul. Mas a mioglobina também pode realizar a mesma ação, por isso, é importante diferenciar a presença de hemoglobina ou mioglobina através da realização de

testes auxiliares, como por exemplo, a eletroforese. Por outro lado, a hematúria pode ser devida a uma hemorragia no trato urinário ou outros fatores, como tumores na bexiga ou nos rins, glomerulonefrites, pielonefrites ou cálculos renais. (68)

Nitritos

Os microrganismos causadores de doença mais comuns no trato urinário são a *Escherichiacoli*, *Proteus*, *Enterobacter* e *Klebsiella* e estes podem ter a capacidade de reduzir nitrato em nitrito através da enzima nitrato redutase. O teste de nitrito é utilizado para fornecer um método rápido e barato para testar infecções do trato urinário (ITUs), no entanto, não deve substituir um exame microbiológico adequado. (68)

Leucócitos

A presença de leucócitos na urina é indicativa de um processo inflamatório que pode ser causado por uma ITU. (68)

Exame Microscópico do Sedimento Urinário

O exame microscópico do sedimento urinário é a terceira parte da análise à urina do tipo II. Todos os componentes insolúveis da urina são isolados por centrifugação e observados ao microscópio. Estes componentes podem ser confundidos com outras estruturas por isso é necessário ter atenção à presença de artefactos.(68,71)

Os elementos que podem ser observados são cristais, eritrócitos, células epiteliais, cilindros e outro tipo de estruturas (bactérias, filamentos mucosos, fungos, cilindroides, parasitas, espermatozoides).(68,71)

Todos estes elementos devem ser analisados pois normalmente não têm significado clínico, mas com determinadas características podem representar patologia.

Normalmente, os cristais não representam significado clínico, mas se se observar cristais de leucina e tirosina estão associados a patologias hepáticas. Por outro lado, a presença de um número elevado de eritrócitos (hematúria) indica lesões inflamatórias, infecciosas e/ou traumáticas do trato urinário. Já as células epiteliais não têm significado clínico, mas células com características atípicas podem indicar processos neoplásicos. E o processo de solidificação de cilindros pode ser resultado do aumento da concentração ou filtração de determinadas proteínas, bem como da presença anormal de diversos tipos de células ou elementos.(71)

Diagnóstico Imunológico da Gravidez (DIG)

A hormona hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana) é secretada pela placenta durante a gestação e é detetada na urina no início da gravidez ou no soro após 5 a 15 dias. Nos primeiros três meses, os níveis de hCG aumentam e encontram-se entre 100 000-200 000 mLU/mL. Este teste rápido permite a deteção precoce de β -hCG acima dos 20 mLU/mL. (72)

O kit utilizado é o Laboquick Pregnancy Test, que consiste num teste rápido imunocromatográfico, que é capaz de detetar a hormona hCG na urina. (72)

O teste rápido é constituído por um orifício onde é colocada a amostra de urina e por uma membrana permeável. A área móvel da membrana é composta por anticorpos monoclonais e partículas de ouro coloidais sensíveis à cor. A primeira linha (T) é composta os anticorpos anti-hCG e a segunda linha (C) é composta por anticorpos de rato. Se a hormona hCB for detetável, o anticorpo hCH forma um composto conjugado de ouro coloidal e desloca-se para a área de ensaio indicada com a letra T e forma uma linha nessa área. A ausência ou presença desta linha apresenta um resultado negativo ou positivo, respetivamente. As partículas de ouro coloidal que não estão ligadas na área de ensaio movem-se em direção à linha de controlo para formar uma linha, independentemente da presença ou ausência de hCG, de modo a garantir a eficácia do teste.(72)

Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes (PSOF)

Segundo a DGS, o rastreio do cancro colo retal será feito através da realização da pesquisa de sangue oculto nas fezes (PSOF) a cada 2 anos. A PSOF permite a determinação da quantidade de hemoglobina presente nas fezes. (73)

O equipamento HM-JACKarc (Figura 7), da A. MENARINI diagnostics, é um analisador que utiliza o método de turbidimetria de látex para medir a concentração de hemoglobina fecal usando um reagente de látex altamente sensível revestido com anticorpos policlonais para a hemoglobina anti-hemoglobina A0 humana (anti-HbA0) para medição ótica da reação de aglutinação em látex. Quando o reagente látex é misturado com a amostra, os anticorpos anti-HbA0 reagem com a hemoglobina presente na amostra. Esta reação leva à formação de um agregado de látex e aglutinação. (74)



Figura 7 – Aparelho HM-JACKarc da A. MENARINI diagnostics. Adaptado de (67).

Elektroforese de Proteínas

A Elektroforese de Proteínas é um método que permite separar proteínas do plasma humano em frações, através da aplicação da amostra do soro num meio sólido e submetê-la a um potencial elétrico. Este método é utilizado principalmente na investigação de anormalidades proteicas presentes no sangue. As proteínas percorrem distâncias diferentes, formando bandas denominadas: albumina, alfa-1-globulina, alfa-2-globulina, betaglobulina e gamaglobulina. (75)

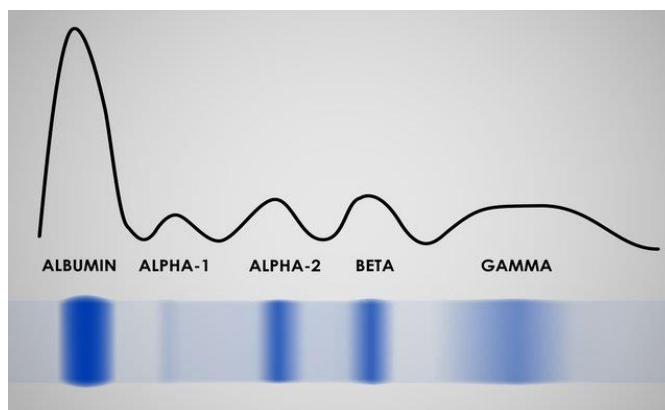


Figura 8 - Gráfico de corrida eletroforética normal. Adaptado de (69).

O equipamento V8 NEXUS (Figura 9), da Helena Biosciences é um sistema automatizado de eletroforese capilar, a eletroforese ocorre quando uma tensão é aplicada a um tubo capilar não revestido preenchido com uma solução eletrolítica uniforme. A separação dos analitos carregados ocorre devido à migração diferencial no campo elétrico, em que as partículas carregadas migram em direção a um eletrodo com carga oposta.



Figura 9 - Equipamento V8 NEXUS da Helena Biosciences.

A alteração das várias frações pode indicar diversas patologias dependendo das frações alteradas. Pode observar-se uma diminuição da concentração de albumina em situações de baixa ingestão proteica ou elevado catabolismo. As frações alfa-globulinas apresentam níveis aumentados em processos inflamatórios, infecciosos e imunes. O aumento da beta-globulina pode ocorrer em situações de perturbação do metabolismo lipídico ou anemia ferropénica. A ausência ou diminuição da banda-gama indica imunodeficiências congénitas ou adquiridas e o seu aumento pode indicar elevação policlonal das imunoglobulinas associado às condições inflamatórias, neoplásicas ou infecciosas, além da elevação monoclonal observada no mieloma múltiplo e em outras alterações linfoproliferativas.

Microbiologia

A valência de Microbiologia tem um papel importante no diagnóstico e no controlo de doenças infecciosas, de etiologia bacteriana, micológica e parasitológica. A área da microbiologia permite também monitorizar a eficácia da terapêutica microbiana, contudo o diagnóstico e controlo de doenças infecciosas só é possível se as amostras forem de boa qualidade (qualidade da amostra colhida, do meio de transporte e das técnicas utilizadas) e acompanhadas por informação clínica. (76)

Neste setor no laboratório Lumilabo, todo o procedimento que envolva a manipulação de amostras biológicas é realizado em câmaras de fluxo laminar com material próprio para a esterilização do material a utilizar e para a fixação de esfregaços. Todas as ansas utilizadas são estéreis e descartáveis.

Marcha Laboratorial em Microbiologia

A marcha laboratorial inicia-se quando é verificado que um doente tem sinais de infeção, é realizada a colheita da amostra biológica e o transporte da mesma. No laboratório, a amostra vai ser recebida e é avaliada a conformidade desta. Em seguida, inicia-se o exame microbiológico através da observação do exame direto e do exame cultural. Se necessário, são realizadas provas complementares. Por fim, é realizada a identificação com o apoio do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos.

Exame Microscópico

Exame direto a fresco

O exame direto a fresco permite avaliar a qualidade da amostra, bem como, detetar elementos celulares e microrganismos (fungos, bactérias e parasitas) nas amostras biológicas. No laboratório o exame direto a fresco é utilizado, principalmente, para detetar a presença de parasitas (intestinais ou tricomoníase genital) através da observação de trofozoítos em suspensões de secreções genitais. (76)

Procedimento: Colocar o produto numa lâmina, cobrir com uma lamela e observar ao microscópio com a objetiva de 10 e 40x. No caso da urina, centrifugar a 1500rpm, 10 minutos, antes de observar.

Pesquisa de ovos, quistos e parasitas

A pesquisa de ovos, quistos e parasitas é realizada, maioritariamente, em parasitas do trato gastrointestinal através do exame microscópico. Para que as amostras possam ser examinadas microscopicamente recorre-se ao exame direto a fresco, que é importante na pesquisa de formas vegetativas de protozoários, quistos e ovos de helmintas, ou a métodos de concentração.

Caso excepcional para a pesquisa de *Enterobius vermicularis* utiliza-se a técnica da fita-cola, após a colheita a fita deve ser colada numa lâmina e enviada ao laboratório para observação microscópica.

O Exame direto é realizado após concentração com ou sem coloração de Lugol. E o método de concentração utilizado pelo laboratório é o método Bailenger, da Biosepar.

O resultado é positivo quando se observam ovos, quistos ou larvas de parasitas. A visualização de uma única estrutura parasitária é suficiente para o diagnóstico. O resultado é negativo quando há ausência de estruturas parasitárias.

Nas análises de rotina, o número de amostras parasitadas é pequeno. Contudo, as estruturas parasitárias mais frequentes são quistos de *Giardia intestinalis* e *Entamoeba coli*.

Exame após Coloração

Antes de se realizar a coloração, os esfregaços têm de estar secos e fixados pelo calor, à chama do bico de Bunsen. Deste modo, as formas vegetativas morrem e aderem à lâmina. Por fim, a observação é feita essencialmente com a objetiva de imersão (100x).

Técnica de Esfregaços

Em amostras biológicas líquidas e culturas de caldo, coloca-se o produto numa lâmina e estende-se em camada fina.

Já amostras biológicas sólidas e culturas de meios sólidos deve-se colocar sobre a lâmina uma gota de água destilada e juntar uma pequena porção do produto, emulsioná-la na gota, e estender seguidamente.

Amostras espessas ou purulentas é utilizada a técnica de estiramento que consiste em colocar uma porção de produto numa lâmina e pressionando com outra lâmina, fazer deslizar as duas lâminas ao longo uma da outra, várias vezes.

Por fim, em exsudados colhidos por zaragatoa rola-se a zaragatoa sobre a lâmina. Se tiver vindo só uma zaragatoa, primeiro proceder à sementeira dos meios de cultura sólidos, de seguida fazer 2 esfregaços e só depois inoculá-la em meio líquido de enriquecimento, se for necessário.

Coloração de Gram

A coloração de Gram é o corante mais usado em laboratório de microbiologia e permite a separação dos dois principais grupos de bactérias (gram-positivas (coloração violeta) e gram-negativas (coloração rosa)). (76)

Para a realização da coloração de Gram é utilizado o kit Gram-Hücker, da RAL Diagnostics, que se baseia na estrutura da parede bacteriana.

Após a fixação da amostra na lâmina de vidro (por aquecimento), a amostra é corada com cristal violeta. Em seguida, o iodo é estabilizado por uma solução de Lugol e permite a fixação do corante cristal violeta. Durante a descoloração com álcool-acetona, em bactérias com parede Gram-negativas, o corante cristal violeta é eliminado, sendo posteriormente utilizado o contra-corante safranina. A parede destas bactérias adquire uma cor rosa. Contrariamente, as bactérias Gram-positivas adquirem uma cor violeta, pois estas retêm o cristal violeta durante a aplicação da solução descorante. (76)

Coloração de Ziehl-Neelsen

A coloração de Ziehl-Neelsen é utilizada para corar micobactérias e outros organismos acidoresistentes. Os organismos são corados com carbolfucsina (corante vermelho), a amostra é aquecida, de modo a permitir a penetração do corante na parede celular dos organismos. O álcool acidificado é utilizado como descorante e o azul-de-metileno como contra-corante. As bactérias álcool-ácido resistentes retêm o corante primário e adquirem a cor vermelha. Enquanto as bactérias não resistentes adquirem a cor azul. (76)

Exame Cultural

Meios de Cultura

Os meios de cultura são classificados quanto ao estado físico como líquidos, sólidos e semissólidos. No Laboratório Lumilabo, S.A., são utilizados, principalmente, os meios sólidos e líquidos.

Os meios de cultura podem ainda ser classificados pela sua utilidade/função como meios não seletivos, meios seletivos, meios diferenciais ou meios enriquecidos.(76)

Meios não seletivos: têm a capacidade de permitir o crescimento da maioria dos organismos sem exigências nutricionais de crescimento.

Meios seletivos: são meios que permitem a distinção de organismos que podem estar presentes numa cultura com outros organismos. Os meios são suplementados com inibidores que suprimem o crescimento de organismos indesejados.

Meios diferenciais: contêm corantes ou substâncias químicas que permitem a distinção de diversos microrganismos presentes no mesmo inóculo.

Meios enriquecidos: permitem a detecção de organismos específicos que podem ser exigentes ou presentes em grandes misturas de organismos.

Todos os meios utilizados no laboratório são fornecidos pela Bio-Rad®.

Tabela 2 - Tipos de Meios de Cultura. Adaptado de (76).

Tipo de meio	Meio	Objetivo
Não seletivo	<p>Gelose de Mueller-Hinton (utilizada apenas para a realização de antibiograma)</p> <p>Gelose de Sabouraud dextrose</p>	<p>Crescimento de bactérias e fungos.</p> <p>Crescimento de bactérias, incluindo <i>Haemophilus</i> e <i>Neisseria gonorrhoeae</i></p> <p>Meio teste de suscetibilidade bacteriana</p> <p>Crescimento de fungos</p>
Seletivo, diferencial	<p>Gelose MacConkey</p> <p>Manitol salt agar ou Chapman</p> <p>Gelose de sangue</p>	<p>Seletivo para bactérias gram-negativas. Diferencial para espécies que fermentam a lactose.</p> <p>Seletivo para staphylococci; diferencial para <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Seletivo, diferencial para <i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i> em culturas entéricas</p> <p>Seletivo para micobactérias</p> <p>Seletivo para micobactérias</p> <p>Seletivo, diferencial para bactérias e leveduras selecionadas.</p> <p>Seletivo para bolores.</p>
Enriquecido	<p>Gelose de sangue</p> <p>Gelose de Chocolate</p>	<p>Recuperação da <i>Legionella</i> e da <i>Nocardia</i></p> <p>Recuperação da <i>Corynebacterium diphtheriae</i></p> <p>Recuperação de <i>Streptococcus agalactiae</i></p> <p>Recuperação da <i>Escherichia coli</i> O157</p> <p>Recuperação da <i>Bordetella pertussis</i></p> <p>Recuperação de espécies <i>Vibrio</i></p>

Técnicas de Sementeira

Existem diferentes técnicas de sementeira utilizadas: Por quadrantes ou em roseta coloca-se o inóculo num quadrante e procede-se à sementeira com auxílio da ansa.

Para a realização de Testes de suscetibilidade aos antibióticos (TSA), é usada uma zaragatoa para espalhamento da bactéria no meio de cultura por difusão em placa ou através da técnica de inundação.

Para quantificação de colónias (urina) é utilizada uma ansa calibrada de 10 µL.

Por inundação que consiste em verter uma porção do líquido biológico em estudo sobre a gelose e espalhar girando a placa em movimentos rotativos.

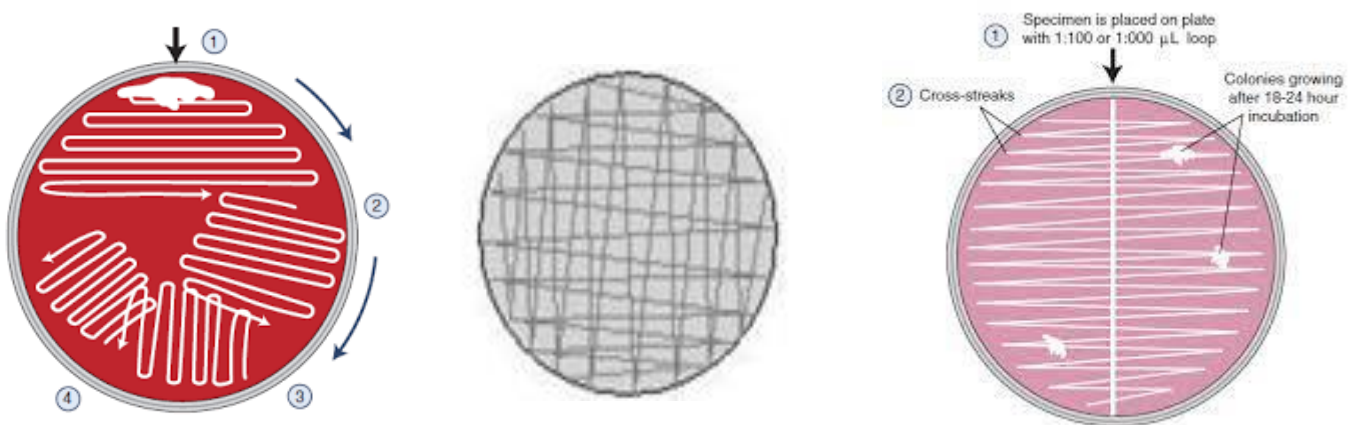


Figura 10 - Representação esquemática de técnicas de sementeira: a) por quadrantes e da b) para quantificação de colónias (urina). c) para a realização do teste de sensibilidade a antibióticos. Adaptado de (70)

Condições de Incubação

Cada microrganismo tem diferentes necessidades, assim sendo, as condições e o tempo de incubação dos meios de cultura vão variar.

Após a inoculação dos meios de cultura, estes são maioritariamente incubados em atmosfera de aerobiose, no entanto, existem microrganismos que necessitam de uma incubação em atmosfera de 5-10 % CO₂, sendo utilizada uma jarra de anaerobiose.

A temperatura ótima de incubação para a maioria dos organismos se desenvolverem é uma temperatura de cerca 37 ± 2 °C, exceto para os fungos filamentos cuja temperatura ideal para crescimento é 25 °C.

Aspetto Macroscópico das Colônias

Os meios sólidos permitem avaliar várias características das colônias que ajudam na diferenciação das mesmas, como por exemplo, a dimensão, bordo, cor, textura, consistência, produção de pigmento, tipo de hemólise e cheiro.

A presença da hemólise na gelose de sangue ajuda na diferenciação e identificação presuntiva das bactérias:

- β -hemólise (hemólise total): Presença de halo transparente ao redor das colônias.
- α -hemólise (hemólise parcial): Presença de halo esverdeado ao redor das colônias.
- γ -hemólise (sem hemólise): Os eritrócitos permanecem íntegros e não se observam halos.

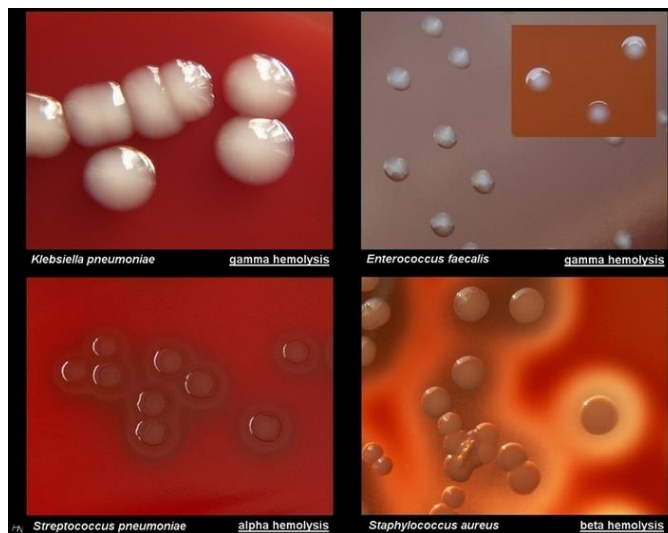


Figura 11 - Aspecto Macroscópico das Colônias, β -hemólise (hemólise total), α -hemólise (hemólise parcial) e γ -hemólise. Adaptado de (70)

Teste de Sensibilidade aos Antibióticos (TSA)

Os resultados do teste de sensibilidade aos antibióticos (TSA) são importantes para a seleção dos antimicrobianos contra o organismo infetante. (76)

A seleção de um antibiótico e o resultado são influenciados por uma variedade de fatores inter-relacionados, incluindo as propriedades farmacocinéticas do antibiótico, toxicidade do medicamento, doença clínica e estado clínico geral do paciente. (76)

O método mais utilizado para a realização de testes de sensibilidade antimicrobiana é a difusão em gelose de agar.

Neste método uma concentração padronizada da amostra é espalhada sobre a superfície dos meios Müller-Hinton 2 ou Müller-Hinton + 5% de Sangue de Carneiro e em seguida, são colocados discos de papel impregnados com antibióticos. O inóculo deve ser adequadamente padronizado, pois caso contrário o resultado do antibiograma poderá ser alterado significativamente. Preparar as diluições de cada cultura em solução salina fisiológica até que a turbidez das suspensões se ajuste a 10^8 bactérias/ml. Comparar as suspensões contra um padrão de turvação (0,5ml de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,048M em 99,5ml de H_2SO_4 0,36N) preparado mensalmente. Os antibióticos impregnados nos discos, difundem no agar e formam um halo de inibição ao seu redor quando encontram bactérias sensíveis. O tamanho da área de inibição corresponde à atividade do antibiótico, variando de antibiótico para antibiótico. A área de inibição corresponde ao valor mínimo de concentração inibitória (MIC).(76)

Resultados: são interpretados como **sensíveis (S)** quando a infecção pode ser tratada com a dose do agente microbiano recomendado para esse tipo de infecção e microrganismo, **intermédios (I)** quando a infecção pode ser tratada localmente, onde os fármacos se concentram fisiologicamente no corpo; ou quando se possível a prescrição de uma dose mais alta de fármaco ou **resistentes (R)** quando os microrganismos isolados não são inibidos pelas concentrações do agente microbiano normalmente prescritas, de acordo com as tabelas EUCAST, de 2023.(77)

Testes de Identificação Presuntiva

Prova da Urease

O meio Ureia Indol permite detetar a presença de urease, triptofano desaminase (TDA) e a produção de indol em enterobactérias, este teste ajuda na identificação de certas espécies de *Enterobactereaceas* (ex: *Proteus* spp.). Se a urease estiver presente, hidrolisa a ureia e a amónia resultante aumenta o pH do meio alcalinizando-o, que adquire uma cor vermelha violácea na presença de vermelho de fenol (indicador de pH). A produção de indol é demonstrada pela adição do reagente de Kovacs, que reage com o indol e origina a formação de uma coloração vermelha no meio – reação positiva e negativa na ausência dessa alteração. Por outro lado, a presença de TDA é demonstrada pela adição de cloreto férrico, que induz uma coloração vermelha acastanhada do meio – reação positiva. Resultados de falsos positivos são considerados raros, mas podem ocorrer se o teste for lido após 24 horas.(78)

Teste de identificação de Streptococcus β -hemolíticos

O laboratório realiza a identificação de *Streptococcus* β -hemolíticos através da utilização do Strep-Check kit. Este kit é um teste de aglutinação de partículas de látex para agrupamento dos *Streptococcus* β -hemolíticos dos grupos A, B, C, D, F e G. (79)

Os *Streptococcus* β -hemolíticos possuem antígenos específicos do grupo nas paredes das suas células e após a extração usando uma enzima, esses antígenos irão aglutinar as partículas de látex revestidas com o anticorpo correspondente.(79)



Figura 12- Resultado positivo para *Streptococcus* β -hemolíticos quando ocorre aglutinação em menos de dois minutos.

Exsudado Faríngeo

O exsudado faríngeo é utilizado no diagnóstico de infecções bacterianas do trato respiratório superior. O diagnóstico dessas situações representa uma tentativa de identificar o agente causador da infecção. Na faringite bacteriana o principal agente causal é o *Streptococcus* β -hemolítico do grupo A. Outras causas de faringite são a *Neisseria gonorrhoeae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Bordetella pertussis*, devendo a pesquisa destes agentes ser feita exclusivamente quando existe suspeita clínica e por solicitação específica do médico.

Vários agentes patogênicos tais como o *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenza*, *N. meningitidis*, leveduras e membros das *Enterobacteriaceae*, podem constituir uma microbiota transitória ou estar presente em pequeno número na faringe de indivíduos saudáveis, daí o exame direto não ser realizado pois a presença desta microbiota mista dificulta a sua interpretação.

Exame cultural: semear, em quatro quadrantes, nos meio ANS, MAS e CandiSelect®, e incubar a 37°C, durante 24-48 h. Após incubação, observar as placas e procurar colônias com β -hemólise.

Resultados: Sem desenvolvimento de bactérias patogênicas: o resultado é expresso por “Não se observaram bactérias potencialmente patogênicas”;

Com desenvolvimento de bactérias patogênicas: o resultado é positivo, o microrganismo deve ser identificado e deve efetuar-se um TSA.

Também pode ser realizado o Teste de screening para *Streptococcus* do grupo A (Slidex Strepto-kit).

Exsudado Nasal

O exsudado nasal é utilizado no diagnóstico de infecções do trato respiratório superior. A pesquisa é orientada, principalmente, para *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β -hemolítico do grupo A, *Streptococcus pneumoniae*. É importante esta pesquisa principalmente para a detecção de portadores de *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA). Sempre que necessário e conforme a informação clínica do utente podem ser pesquisados outros microrganismos.

Exame cultural: semear, em quatro quadrantes, nos meios COS e MAS-2 e incubar a 37 °C, durante 24-48 h. Após a incubação, observar as placas e procurar colônias com β -hemólise, Manitol + e α -hemólise.

Resultados: expressos da mesma maneira que no exsudado faríngeo.

Outros testes que podem ser pedidos: Teste de screening para *Streptococcus* do grupo A (Slidex Strepto-kit); Teste da Coagulase; Teste da Optoquina.

Exsudado Vaginal e Uretral

A determinação de amostras apropriadas para o diagnóstico de infecções do aparelho genital depende do local de infecção e dos microrganismos. O objetivo desta pesquisa é a detecção de *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus* β -hemolítico do grupo B, *Candida spp.* e *Trichomonas vaginalis*. Sempre que necessário e conforme a informação clínica do utente podem ser pesquisados outros microrganismos.

Na gravidez, a pesquisa de *Streptococcus* β -hemolítico do grupo B é feita entre as 35 e 37 semanas de gestação, a fim de evitar a contaminação perinatal de recém-nascidos. Esta bactéria está particularmente associada a septicemia, pneumonias e meningite do recém-nascido.

Exame direto:

Citológico: utilizado na pesquisa e realização de semi-quantificação de leucócitos, eritrócitos, parasitas (*Trichomonas vaginalis*), formas leveduriformes e filamentosas de fungos;

Com coloração de Gram: utilizado na pesquisa e realização de semi-quantificação de bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas (ex: *Gardnerella vaginalis*), bacilos de Döderlein, formas leveduriformes e filamentosas de fungos.

Exame cultural: semear nos meios VCA3, COS, CandiSelect e Strepto B Select e incubar a 37°C, durante 24-48 h. Colocar o meio VCA3 na jarra de anaerobiose.

Resultados:

Sem presença de bactéria, fungos ou parasitas patogénicos: o resultado é expresso por “Não se observaram bactérias potencialmente patogénicas”;

Exame micológico: na presença de fungos deve ser feita a identificação no meio CandiSelect® e a prova de filamentação;

Exame parasitológico: se se observar *Trichomonas vaginalis* referir a semi-quantificação.

Urocultura

As infeções do trato urinário são uma das infeções mais frequentes no humano e normalmente são causadas por bactérias da flora intestinal saprófita que invadem o aparelho urinário por via ascendente através da uretra. (80)

Os agentes etiológicos mais frequentes nas crianças e adultos são as Enterobactérias, principalmente a *Escherichia coli* mas também *Proteus* spp. e *Klebsiella* spp. (81)

Em doentes com algaliação permanente, cálculos urinários e outras patologias do aparelho urinário, o número de microrganismos aumenta, por exemplo, *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp e fungos. (82)

Exame cultural: homogeneizar a urina e semear no meio UriSelect® com uma ansa calibrada de 10 µL, utilizando a técnica de sementeira semi-quantitativa. Incubar a 37 °C, durante 18-24 h.

Resultados: Após a incubação devem observar-se as colónias e fazer a sua contagem e em caso de exame cultural positivo, deve efetuar-se o TSA.

Contagens:

Nº de UFC/mL = 0: cultura negativa;

Nº de UFC/mL < 10⁴: provável contaminação;

Nº de UFC/mL entre 10⁴ e 10⁵: avaliar segundo critérios clínicos;

Nº de UFC/mL > 10⁵: provável infeção urinária.

Coprocultura

As infecções do aparelho gastrointestinal têm uma alta incidência na população em geral, tendo como população de risco as crianças e idosos.

Existem uma grande variedade de bactérias que causam estas infecções, as que têm características invasivas que originam a síndrome desintérico com ulcerações que dão origem a fezes múltiplas com sangue e pus (*Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*). E as bactérias produtoras de exotoxinas ou enterotoxinas (*Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Bacillus cereus* produtor de enterotoxina termolábil, *Campylobacter jejuni*).

No laboratório Lumilabo S.A., as coproculturas são direccionadas principalmente para a pesquisa de *Salmonella*, *Shigella* e *Campylocabter jejuni*.

Exame cultural: inocular o meio SS e o meio de enriquecimento (Selenito F) e incubar a 37 °C, em atmosfera de aerobiose, durante 18-24 h. Após 12-24 h de incubação do meio Selenito F, devem efetuar-se subculturas para o meio SS.

O *Campylobacter jejuni* é cultivado em microaerofilia.

Outros exames: Para a pesquisa de *Campylobacter jejuni* é utilizado um teste rápido de antigénio RIDA®QUICK Campylobacter.

Resultados:

Sem desenvolvimento de bactérias patogénicas: o resultado é expresso por “Não se observaram bactérias potencialmente patogénicas”;

Com desenvolvimento de bactérias patogénicas: o resultado é positivo, o microrganismo deve ser identificado e deve efetuar-se um TSA.

Hematologia

A hematologia é a área que estuda o sangue e os tecidos hematopoiéticos, e por sua vez, o desenvolvimento e as doenças do sangue. Os principais tipos de células sanguíneas são os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas. (83)

Em laboratório, os exames complementares de diagnóstico incluem o Hemograma, a Velocidade de Sedimentação, a Hemoglobina Glicada (HbA1c), a Eletroforese de Hemoglobinas, a avaliação da Hemóstase e Coagulação e o exame microscópico da morfologia eritrocitária.(83)

Os resultados obtidos revestem-se de extrema importância especialmente em conjugação com os resultados provenientes das restantes áreas. (83)

Hemograma

O hemograma é composto por um conjunto de avaliações das células do sangue que permite chegar ao diagnóstico e prognóstico de várias patologias do sangue. De todos os exames laboratoriais, o hemograma é o mais requerido. Por essa razão é considerado de extrema importância no conjunto de dados que devem ser considerados para o diagnóstico médico. (83)

O hemograma é composto por três determinações que incluem as avaliações dos eritrócitos (eritrograma), dos leucócitos (leucograma) e das plaquetas (plaquetograma) que determinam quantitativamente e qualitativamente as células sanguíneas. (84)

As medidas quantitativas disponíveis nos equipamentos fornecem uma forma rápida de detetar distúrbios primários ou secundários da hematopoiese. A observação microscópica de esfregaços de sangue é uma medida complementar e essencial para confirmar determinados resultados e investigar qualquer diferenciação anormal das linhagens hematopoiéticas.(83)

A análise da série vermelha (eritrograma) é constituída pela determinação do perfil hematológico dos glóbulos vermelhos do sangue periférico, a partir das seguintes determinações: Hematócrito (HTC), Concentração de Hemoglobina, Contagem de Glóbulos Vermelhos, Índices Hematimétricos (Volume Globular Médio, VGM; Hemoglobina Globular Média, HGM; Concentração de Hemoglobina Globular Média, CHGM) e Índice de Dispersão Eritrocitária (RDW). (84)

A série branca (leucograma), por sua vez, é analisada por meio da determinação do perfil hematológico dos glóbulos brancos. É constituído pela Contagem Total dos Leucócitos e pela Fórmula Leucocitária. (84)

As plaquetas são analisadas quantitativamente através da contagem de plaquetas, determinação do Volume Plaquetário Médio (VPM) e pelo Índice de Dispersão Plaquetário (PDW). (84)

Tanto o eritrograma, leucograma e plaquetograma são avaliações com resultados quantitativos. Mas o hemograma deve abranger as análises qualitativas dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas que consideram o tamanho e a forma celular, a coloração e as inclusões citoplasmáticas e nucleares, a presença de vacúolos, as atipias celulares e essa análise é feita pelo exame microscópico da morfologia eritrocitária. (84)

O Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo S.A., para a realização automatizada de hemogramas utiliza o analisador hematológico Sysmex XT-2000i™.

O equipamento Sysmex XT-2000i™ (Figura 13), é um analisador hematológico automatizado para a realização de hemogramas que utiliza a tecnologia de citometria de fluxo fluorescente e foco hidrodinâmico que traz a sensibilidade necessária para quantificar e diferenciar as classes celulares no sangue total e em amostras de líquidos biológicos. Esta tecnologia permite que o equipamento diferencie com maior sensibilidade as populações normais de eritrócitos (RBC), leucócitos totais (WBC) e plaquetas (PLT) das populações anormais, diminuindo assim o número de revisões manuais. (85)

A tecnologia do analisador hematológico permite a contagem de plaquetas por fluorescência e impedância, o que melhora a precisão nas contagens muito baixas e muito altas de plaquetas, contagem de reticulócitos por fluorescência e contagem de WBC e RBC para todas as amostras de líquidos biológicos. (85)

O equipamento Sysmex XT-2000i™ demonstra uma boa especificidade e sensibilidade na detecção de concentrações baixas, médias ou altas de células mieloides imaturas. Esta funcionalidade é de extrema importância pois a presença de promielócitos, mielócitos e/ou metamielócitos no sangue periférico pode indicar inflamação sistêmica ou reações leucêmicas. O analisador hematológico gera gráficos, denominados por diagramas de dispersão, que apresentam células sanguíneas organizadas consoante as suas propriedades. (85)



Figura 13 - Analisador Hematológico Sysmex XT-2000iTM.

Método de Detecção SLS - Determinação da Hemoglobina

O método utilizado para a determinação da hemoglobina é o Lauril sulfato de sódio (SLS), livre de cianeto. (86)

O reagente hemolisa os eritrócitos e leucócitos na amostra. Os glóbulos vermelhos, ao sofrerem lise, libertam hemoglobina. A reação química começa quando a conformação da globina é alterada pelo grupo hidrofílico do SLS e depois oxida o grupo heme e forma um complexo corado (SLS-HGB), que é analisado fotometricamente. Um LED emite luz monocromática que se move através da mistura, a luz é absorvida pelos complexos SLS-HGB. A absorvância é medida por um fotosensor e é proporcional à concentração de hemoglobina da amostra. (86)

A hemoglobina é analisada num canal separado, minimizando a interferência de concentrações elevadas de leucócitos. (86)

Método de Foco Hidrodinâmico e Impedância – RBC e PLT

Os eritrócitos e as plaquetas são contados num canal exclusivo que utiliza o método de impedância e foco hidrodinâmico que minimiza os fenómenos de coincidência e recirculação. Discriminadores flutuantes automáticos separam as duas populações de células baseados em algoritmos complexos. A intensidade do pulso elétrico de cada eritrócito analisado é proporcional ao volume da célula. O hematócrito (HCT) é determinado através da deteção individual do volume de cada eritrócito. (85)

Método de Citometria de Fluxo com Fluorescência

A citometria de fluxo com fluorescência (FFC) é utilizada para analisar as propriedades fisiológicas e químicas das células, isto é, fornece informação sobre o tamanho e estrutura celulares, bem como o interior das células. (87)

A tecnologia de citometria de fluxo fluorescente com laser semiconductor e foco hidrodinâmico fornece a sensibilidade necessária para quantificar e diferenciar as populações de células sanguíneas no sangue total e em amostras de líquidos biológicos. Essa tecnologia permite que o equipamento diferencie com maior sensibilidade as populações normais das células do sangue (eritrócitos, leucócitos e plaquetas) das populações anormais, diminuindo o número de revisões manuais e diminuindo a variabilidade entre observadores nas contagens diferenciais manuais. (87)

Em primeiro lugar, a amostra de sangue é aspirada e proporcionada. A amostra é diluída, de acordo com um fator pré-determinado, e é marcada com um marcador fluorescente que se liga especificamente aos ácidos nucleicos. De seguida, é transportada para a célula de fluxo. A amostra é iluminada por um laser semiconductor, que consegue separar as células utilizando três sinais diretos que são (87):

- Dispersão frontal de luz (forward scatter ou FSC)
- Dispersão lateral de luz (side scatter ou SSC)
- Fluorescência lateral (side fluorescence ou SFL).

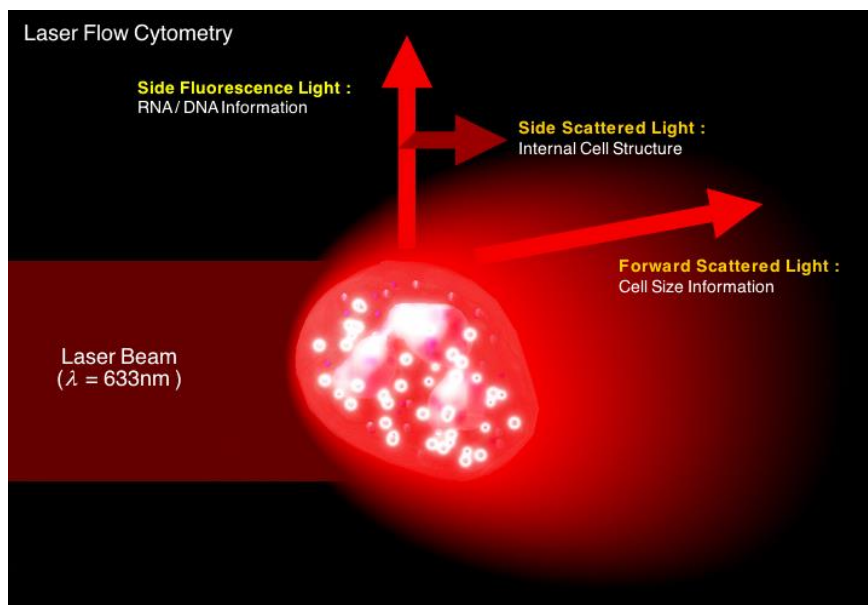


Figura 14- Método Citometria de Fluxo de Fluorescência. Adaptado de (80).

A intensidade da dispersão frontal indica o volume celular. A dispersão lateral fornece informação sobre o conteúdo celular, como por exemplo, núcleos e grânulos. A fluorescência lateral indica a quantidade de DNA e RNA presente na célula. (87)

O princípio da citometria de fluxo com fluorescência é utilizado em diferentes analisadores para hematologia. Para as contagens de células sanguíneas utilizamos a citometria de fluxo com fluorescência, por exemplo, no caso da contagem diferencial de leucócitos e contagem de eritrócitos nucleados e reticulócitos. (87)

Canal RET/PLT

No canal RET/PLT (reticulócitos e plaquetas), o surfactante do RET-SEARCH (II) perfura as membranas celulares dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas, permitindo a penetração do marcador fluorescente da célula. Este marcador fluorescente marca os ácidos nucleicos dos leucócitos, eritrócitos nucleados, reticulócitos e plaquetas. O equipamento ao utilizar a dispersão frontal de luz e o sinal de fluorescência, distingue os reticulócitos dos eritrócitos maduros, leucócitos e eritrócitos nucleados. (88)

Os reticulócitos, de acordo com a sua intensidade fluorescente, dividem-se em três diferentes graus de maturação (88):

- Reticulócitos de baixa fluorescência (LFR, Low Fluorescence Reticulocyts)
- Reticulócitos de média fluorescência (MFR, Medium Fluorescence Reticulocyts)
- Reticulócitos de alta fluorescência (HFR, High Fluorescence Reticulocyts).

A fração de reticulócitos imaturos (IFR, Imature Fluorescence Reticulocyts) é calculada através da soma de MFR com HFR. (88)

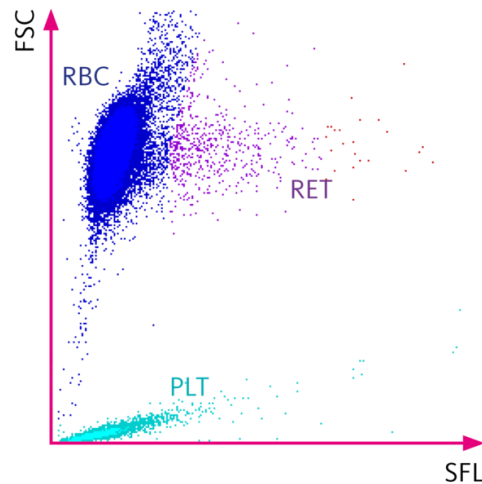


Figura 15- Diagrama de dispersão do canal RET com distribuição celular normal. (78)

Canal de Análise diferencial de leucócitos - WBC

A análise diferencial de leucócitos consiste numa reação citoquímica das células com um reagente, seguida de uma análise por citometria de fluxo com fluorescência.(89)

Um surfactante do reagente induz a lise dos eritrócitos. Ao mesmo tempo, as membranas dos leucócitos são perfuradas com poros ultramicroscópicos através dos quais um marcador fluorescente migra e liga-se aos ácidos nucleicos. Esta amostra é então analisada utilizando citometria de fluxo com fluorescência.(89)

Este canal diferencial fornece as contagens de todas as subpopulações celulares normais de leucócitos, sinalizando também a informação referente a anomalias. (89)

Índices Hematimétricos

Os índices eritrocitários são calculados pelo software do equipamento Sysmex XT-2000i™. (85)

VGM: indica o volume médio de um eritrócito do indivíduo.

$$VGM (fl) = \frac{HTC (\%)}{RBC (x10^6/\mu L)} \times 10$$

HGM: indica o peso médio da hemoglobina contida num eritrócito médio do indivíduo.

$$HGM (pg) = \frac{HGB (g/dL)}{RBC (x10^6/\mu L)} \times 10$$

CHGM: indica a concentração média de hemoglobina do indivíduo por unidade de volume de eritrócitos.

$$CHGM (g/dL) = \frac{HGM (g/dL)}{HTC (\%)} \times 100$$

O analisador hematológico Sysmex XT-2000i™ fornece complementarmente alarmes sempre que ocorrem possíveis anormalidades. (85) Nestes casos, são feitas lâminas de esfregaços sanguíneos com coloração May-Grunwald-Giemsa Modificada, para serem vistos ao microscópio ótico.

Os valores de referência aplicados no hemograma emitido no boletim final têm como base a Norma da DGS n.º 063/2011, atualizada a 12 de setembro de 2013. No boletim de resultados, emitido pelo laboratório de análises clínicas Lumilabo, S.A., são apresentados os seguintes valores de referência (90):

Eritrograma (Homem/Mulher)

Eritrócitos: 4,3-6,4/3,9-5,2 x 10¹²/L

Hemoglobina: 13,6-18,0 / 11,5-16,0 g/dL

Hematócrito: 39,8-52,0 / 34,7-46,0 %

VGM: 80,0-97,0 fL

HGM: 26,0-34,0 pg

CHGM: 32,0-36,0 g/dL

Índice de dispersão eritrócitária: 11,5-15,0 %

Leucograma

Leucócitos: 4.5-13 x 10⁹/L

Mestrado em Análises Clínicas

Neutrófilos: $1,5-8,5 \times 10^9/L$

Linfócitos: $0,8-0,4 \times 10^9/L$

Eosinófilos: $<0,3 \times 10^9/L$

Basófilos: $<0,3 \times 10^9/L$

Monócitos: $<1,2 \times 10^9/L$

Trombocitograma

Plaquetas: $140-440 \times 10^9/L$

Plaquetócrito: 0,15-0,42 %

VPM: 6,5-12,4 fL

Índice de dispersão plaquetário: 11,5-15,0 %

Reticulócitos: 0,5-2,5 %

Hemoglobina Reticulocitária: $>27,0$ pg

Fração de Reticulócitos Imaturos: 3,0-14,0 %

Índice de Reticulócitos: 0,5-2,5 %

Velocidade de Sedimentação

A velocidade de sedimentação (VS) é uma análise hematológica que permite determinar velocidade com que os eritrócitos, sedimentam no fundo de uma suspensão de plasma sanguíneo em condições controladas. (91)

É um teste rápido e económico, que embora seja inespecífico e pouco sensível, é considerado um indicador indireto de confiança para resposta inflamatória de fase aguda. (92)

A VS aumenta quando os níveis de certas proteínas do plasma aumentam e este aumento pode estar associado a doenças reumáticas, infeções crónicas, e doenças malignas. Assim sendo, esta análise em conjunto com outros exames laboratoriais, permite a deteção de diversas patologias e a monitorização das mesmas. (92)

Na presença de doenças inflamatórias, os glóbulos vermelhos sedimentam mais rapidamente e assim levam ao aumento do número de proteínas de fase aguda no sangue (fibrinogénio). Este aumento de proteínas faz com que os eritrócitos se agreguem e ocorra a formação de um *rouleaux*.

A formação *de rouleaux* permite que os eritrócitos sedimentem mais rapidamente, aumentando assim o valor da VS. (91)

O equipamento Test1 THL (Figura 16), da Alifax, é um analisador automático, para determinar a velocidade de sedimentação dos eritrócitos. O método baseia-se no princípio de fotometria capilar de fluxo. (93)



Figura 16 - Equipamento da Alifax Test1 THL.

As amostras utilizadas são de sangue total com EDTA. O sangue é aspirado para um capilar o qual é centrifugado a 20g, a uma temperatura de 37°C e a leitura é feita por fotometria de infravermelhos a 950nm. Os impulsos elétricos captados por um detetor de fotodíodos estão diretamente relacionados com a concentração de eritrócitos no capilar. O número de impulsos medidos, por metade do tempo, é usado para delinear a curva de sedimentação para cada amostra. Estes valores são depois convertidos para valores comparados ao Método de Westergreen (método de referência).(93)

Os valores de referência são tipicamente mais elevados nas mulheres do que nos homens e aumentam ao longo do tempo. (91)

Valores de referência: Homem: 1-15 mm; Mulher: 1-20 mm; Criança: 1-20 mm.

Eletroforese de Hemoglobinas

A hemoglobina é composta por quatro cadeias globínicas, as variantes mais comuns de hemoglobina são a A, F e A2. A hemoglobina A (HbA) é a variante mais abundante nos adultos e consiste em duas cadeias α e duas cadeias β e a hemoglobina fetal (HbF) é a variante

predominante no feto e no recém-nascido e é constituída por duas cadeias α e γ . Por último, a HbA2 é encontrada em pequenas quantidades nos adultos constituída por duas cadeias α e δ . (94)

As hemoglobinopatias são doenças hereditárias caracterizadas por mutações dos genes das globinas, levando a alterações quantitativas da síntese de alguma das cadeias de globina (talassémias) ou à síntese de uma globina estruturalmente diferente - alteração qualitativa - levando à formação de uma hemoglobina anómala, comprometendo a sua função vital. Existem diversas variantes de hemoglobina, tais como a hemoglobina C, E, H e S. (95)

O D-10TM Hemoglobin Testing System (Figura 5), da Bio-Rad, contém um método que permite a separação e determinação da percentagem relativa de diversas porções da hemoglobina. O princípio do procedimento baseia-se na cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) por troca de catiões. A amostra utilizada é sangue total em tubo com anticoagulante EDTA. (96)

As amostras de sangue diluídas são injetadas sequencialmente no fluxo de análise e separadas pela coluna analítica. Duas bombas de pistão duplo e um gradiente pré-programado controlam o fluxo de mistura do tampão de eluição a partir da coluna analítica. À medida que a resistência iónica da mistura aumenta, as hemoglobinas eluem pela coluna analítica. Um fotómetro de filtro de comprimento de onda duplo (415 e 690 nm) monitoriza a eluição da coluna. Conforme as hemoglobinas eluem da coluna e atravessam a célula de fluxo do fotómetro, as mudanças na absorvência de 415 nm são detetadas. O filtro secundário, com uma absorvência de 690 nm, corrige o valor basal em relação às alterações provocadas pelo gradiente do tampão. (96)

Cada hemoglobina possui um tempo de retenção característico. O tempo de retenção é medido a partir do momento da injeção da amostra até o ponto máximo de cada pico. A identificação das hemoglobinas desconhecidas é realizada através da comparação do tempo de retenção da hemoglobina desconhecida com o tempo de retenção de uma hemoglobina conhecida. No final de cada leitura, o equipamento produz um cromatograma. (96)

Avaliação da Hemostase e Coagulação

A hemostase é um processo fisiológico complexo que permite preservar a normal funcionalidade da circulação sanguínea, tendo um papel importante na manutenção da integridade vascular e fluidez do sangue. (97)

Fazem parte do processo da hemóstase os vasos sanguíneos, as células endoteliais, as plaquetas e as proteínas plaquetárias. Este processo fisiológico pode ser dividido em três fases: hemóstase primária (constrição de vasos lesados e formação do trombo plaquetário), hemóstase secundária

ou coagulação (formação de fibrina) e hemóstase terciária ou fibrinólise (destruição do coágulo de fibrina e manutenção da permeabilidade do vaso). (97)

A avaliação da hemóstase, em conjunto com a história clínica do doente e exame físico, permite um diagnóstico provisório. Para a obtenção de um diagnóstico definitivo é necessária a execução de análises adicionais. (97)

O STA Compact® (Figura 17), da Stago, é um analisador de hemostasia automatizado que realiza análises coagulométricas, cromogénicas e imunológicas. Este equipamento realiza testes *in vitro* que auxiliam no diagnóstico de anormalidades da coagulação, e auxilia na monitorização da terapia anticoagulante. A amostra utilizada é de sangue total com citrato de sódio. Antes da sua análise, a amostra é previamente centrifugada a 3000 rpm., durante 10 minutos para separação do plasma. (98)



Figura 17 - Equipamento hematológico STA Compact®, da Stago.

Fibrinogénio

O fibrinogénio (Fator I) é uma glicoproteína de fase aguda positiva, sintetizada a nível hepático, presente em grande quantidade no plasma. É um dos principais responsáveis pela formação de coágulo, uma vez que o fibrinogénio é convertido em fibrina pela trombina durante as fases finais da coagulação. Para a fibrina ser capaz de fornecer suporte estrutural para a formação do coágulo sanguíneo e cicatrização, a concentração plasmática de fibrinogénio deve ser relativamente elevada. (99)

O aumento do nível de fibrinogénio ocorre em casos de diabetes, síndromes inflamatórias e obesidade. Enquanto a diminuição do nível de fibrinogénio é encontrada na Coagulação Intravascular Disseminada (CIVD) e fibrinólise. O fibrinogénio pode estar também envolvido na patogénese de eventos cardiovasculares trombóticos. (100)

Valores de referência: 200-400 mg/dL

Tempo de Protrombina (TP)

O tempo de protrombina (TP) é um teste utilizado para detetar alterações num ou mais fatores de coagulação na via extrínseca ou na via comum da coagulação sanguínea e é utilizado para monitorizar a terapêutica com anticoagulante oral, controlo da síntese hepática e na avaliação da presença de distúrbios na cascata da coagulação ao nível da via extrínseca e comum. (99)

Um TP prolongado pode ser indicativo de várias situações clínicas como deficiências congénitas ou adquiridas dos fatores II, V, VII e X ou fibrinogénio, falência hepática (cirrose, hepatite), tratamentos com antagonistas da vitamina K, hipovitaminoses da vitamina K: deficiência nutricional, distúrbios na absorção ou no metabolismo da vitamina K (doença hemorrágica do recém-nascido (RN), colestase, tratamento com antibióticos), fibrinólise e CIVD (coagulação intravascular disseminada). (99)

O TP é utilizado para monitorizar a terapia com antagonistas da vitamina K devido à sua sensibilidade às variações de concentração dos fatores II, VII e X dependentes da vitamina K. A comparabilidade dos resultados deste teste é fundamental para encontrar o intervalo terapêutico. A utilização do INR (Razão Normalizada Internacional) é recomendada para a avaliação da terapia de antagonista da vitamina K. (99)

$$INR = \left(\frac{TP \text{ Utente em segundos}}{TP \text{ Referência em segundos}} \right)^{ISI}$$

Valores de referência: >70 %

Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (aPTT)

O Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada é um teste de rastreio da via intrínseca da coagulação (fatores XII, XI, IV, VIII, X, V, II e I) sendo também utilizado na monitorização da terapêutica

com heparina. Esta análise permite a detecção de deficiências congênitas e adquiridas dos fatores referidos anteriormente. (99)

O prolongamento de aPTT ocorre nas seguintes situações de deficiências congênitas, deficiências adquiridas e condições anormais, durante o tratamento anticoagulante com heparina, antagonistas da vitamina K ou inibidores diretos da trombina. (99)

Valores de referência: 24-35 s.

Imunohematologia

Grupo Sanguíneo - Sistema ABO

Os grupos sanguíneos são caracterizados pela presença ou ausência de antígenos na membrana dos eritrócitos que na presença de um anticorpo correspondente levam à aglutinação dos eritrócitos. (101)

Os principais sistemas sanguíneos são o sistema ABO e o sistema Rhésus (Rh). (101)

No laboratório Lumilabo S.A. para a determinação do grupo sanguíneo utiliza-se a Confirmação de Grupos Sanguíneos ABO e RhD, da Bio-Rad®, pelo sistema ABO.

Amostras: sangue total colhido em tubos com anticoagulante de citrato ou EDTA. Também se pode utilizar amostras de sangue total colhidas em tubos sem anticoagulante. (102)

No cartão DiaClon ABD–Confirmation for patients (Figura 18) é possível observar a identificação dos géis com as letras A, B e DVI-. Os géis identificados com A e B contêm anticorpos anti-A e anti-B monoclonais, respetivamente. Enquanto o gel identificado com DVI- contém anticorpos anti-D monoclonais. (102)

Esta técnica baseia-se na hemaglutinação, que resulta da interação entre os antigénios eritrocitários presentes na amostra e os anticorpos correspondentes presentes no gel dos microtubos, do cartão. A hemaglutinação impede a migração dos eritrócitos no gel, após a centrifugação, permitindo assim a sua leitura.(102)

A leitura dos resultados obtidos faz-se da seguinte forma: considera-se positivo quando os eritrócitos aglutinados formam uma linha vermelha à superfície do gel ou aglutinados dispersos no gel. Por outro lado, considera-se o resultado como negativo quando se observa um botão compacto de células no fundo do microtubo. Neste caso os valores de referências não são aplicáveis.(102)

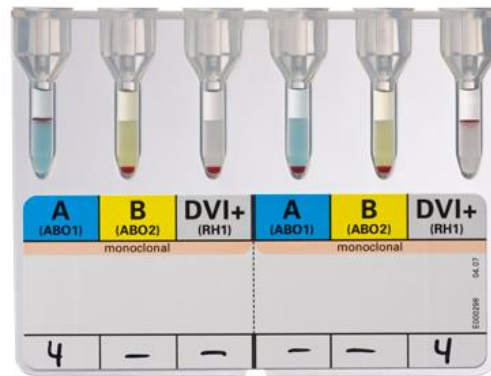


Figura 18 - Exemplo de um cartão DiaClon ABD- Confirmation for patients, da Bio-Rad®. Adaptado de (97).

Teste de Coombs Indireto

O teste de Coombs é um procedimento laboratorial usado para detetar a presença de anticorpos contra as hemácias, que então induzem a hemólise. A destruição dessas hemácias por anticorpos direcionados contra eles mesmos é designada diagnosticamente como Anemia Hemolítica Autoimune. (103)

O LISS/COOMBS, da Bio-Rad®, é utilizado para a realização do Teste de Coombs Indireto (pesquisa de anticorpos irregulares) no laboratório Lumilabo.

Amostras: plasma, citrato ou soro, do sangue total, colhido em tubos com anticoagulante de citrato ou EDTA. Também é possível utilizar amostras colhidas em tubos sem anticoagulante. Se se utilizar soro em vez de plasma, o soro deve ser centrifugado a 1500 g durante 10 minutos, com o intuito de evitar resíduos de fibrina que poderiam interferir com a reação.(104)

A técnica do Teste de Coombs Indireto recorre a duas suspensões de eritrócitos com antigénios conhecidos (ID-Dia Cell I eII) e a cartões Liss/Coombs ID (Figura 19) que contêm poços com antiglobulina humana IgG em gel. (104)

A hemaglutinação impede a migração dos eritrócitos no gel após a centrifugação. Desta forma, considera-se positivo quando os eritrócitos aglutinados formam uma linha vermelha à superfície do gel ou aglutinados dispersos no gel. Por outro lado, considera-se o resultado como negativo quando se observa um botão compacto de células no fundo do microtubo. (104)

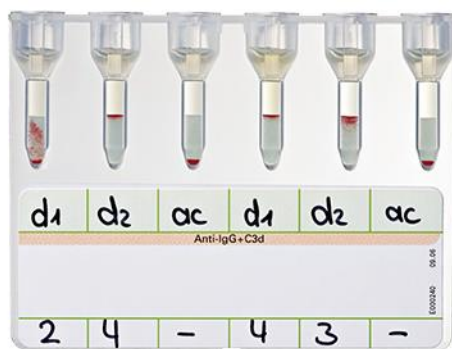


Figura 19 - Exemplo de cartão Liss/Coombs ID-Card, da Bio-Rad®. Adaptado de (105).

Fase Pós-Analítica

A fase pós-analítica compreende a validação dos resultados que consiste na revisão dos resultados, retenção e armazenamento do material clínico, eliminação de amostras e resíduos, formação, libertação, transmissão e arquivo dos resultados dos exames.

A validação permite assegurar que os resultados sejam obtidos em condições técnicas satisfatórias e se são compatíveis com a informação clínica dos utentes.

Na validação analítica é necessário ter em consideração informações obtidas no ato da colheita, o transporte e acondicionamentos das amostras, bem como o resultado de outros parâmetros laboratoriais, para além da idade, sexo, história clínica do doente e contexto clínico no qual foram solicitadas as análises.

A validação biopatológica implica o controlo da coerência intra-paramétrica e o estado clínico do utente, tendo em conta a terapêutica efetuada e resultados anteriores conhecidos ou apurados e esta validação é feita pelos Especialistas em Patologia Clínica ou Análises Clínicas.

Durante a validação, caso se verifique alguma discrepância nos resultados como por exemplo, erros no boletim, erro na transcrição da análise, erros nos valores de referência e resultados incompatíveis com o histórico do utente e/ou prazos de entrega ultrapassados. É também necessário verificar as condições da amostra, e se a amostra estiver conforme, repetir as análises, para confirmação de resultados lançados pelo equipamento, no entanto, em determinadas situações, pode ser necessário solicitar uma nova colheita.

Depois de validados, os resultados são disponibilizados ao clínico podendo ser uteis no diagnóstico, prognóstico, monitorização e/ou planeamento da terapêutica de um utente.

Conclusão

O Mestrado em Análises Clínicas e o Estágio Curricular, parte integrante do Mestrado, proporcionaram uma excelente oportunidade para adquirir conhecimentos, competências e experiência, na área de análises clínicas.

O Estágio Curricular foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo, S.A., em Lisboa.

A realização do estágio foi uma experiência enriquecedora tanto a nível profissional, aperfeiçoando o trabalho laboratorial e desenvolvendo o espírito crítico, como pessoal.

O estágio deu-me a oportunidade de aprender como funciona um laboratório de rotina e perceber como demonstrar e desenvolver tarefas de forma autónoma.

A nível pessoal, demonstrou-me quão importante é o trabalho em equipa. Durante o período de estágio tive a possibilidade de passar pelas três fases (pré-analítica, analítica e pós-analítica) fundamentais de um laboratório de análises clínicas, de forma a compreender como funciona um laboratório de análises clínicas de uma maneira geral.

Por fim, é importante frisar que a realização do estágio permite consolidar os conhecimentos adquiridos no curso de mestrado, considerando assim que os objetivos propostos foram alcançados.

Parte II - Infecções urinárias nosocomiais e na comunidade

Introdução

Infeções urinárias

A infecção do trato urinário (ITU) é uma infecção que envolve o sistema urinário, incluindo a bexiga, ureteres e rins, com exceção da uretra, que poderá ser colonizada com flora normal (como os lactobacilos e as neisserias não patogênicas)(82), que ocorre quando bactérias, da pele ou do recto, entram pela uretra e provocam infecção (106), levando ao crescimento dessas bactérias na urina (107). Estas bactérias podem também chegar ao aparelho urinário por via hematogênea ou linfática, mas a via habitual é a ascendente, com origem no reservatório intestinal (108). Estas infecções são recorrentes tanto em meio hospitalar como na comunidade e estão entre as infecções bacterianas mais comuns, afetando cerca de 150 milhões de pessoas em todo o mundo, todos os anos, podendo afetar tanto homens como mulheres, sendo mais comum nas mulheres (109). Já em recém-nascidos e lactentes, o sintoma para suspeitar de uma infecção do trato urinário é a febre (107).

A infecção pode comprometer a bexiga (cistite) que é a infecção mais recorrente, mas também pode aparecer uma infecção renal (pielonefrite) menos comum, mas mais grave do que a infecção na bexiga (110). A figura 20 faz referência aos diferentes fatores e características entre a cistite e a pielonefrite.

O espectro clínico das infecções urinárias pode variar desde infecções benignas a infecções fatais (111,112).

Cistite

Fatores de risco

- Sexo feminino, histórico de ITU
- Atividade sexual
- Infecção vaginal
- Diabetes, obesidade, predisposição genética

Sintomas Clínicos

- Urgência e frequência urinária
- Disúria e dor suprapúbica
- Noctúria, hematúria e mal-estar

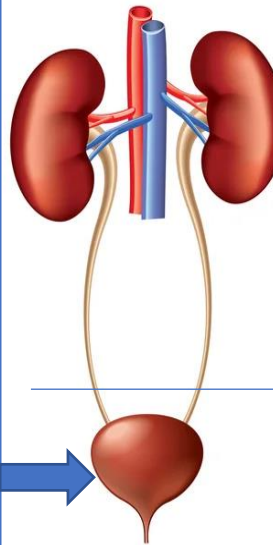
Microrganismos causadores

- *Escherichia coli* Uropatogénica (UPEC)
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Enterococcus faecalis*

Fatores de Virulência UPEC

- Adesinas
- Toxinas (HlyA, CNF1)
- Sideróforos
- Cápsula

ITU das
vias altas



ITU das
vias baixas

Pielonefrite

Fatores de risco

- HIV/SIDA
- Diabetes
- Imunossupressão Iatrogénica
- Anormalidades urodinâmicas congénitas ou adquiridas

Sintomas Clínicos

- Dor nas costas e/ou flancos
- Febre, calafrios e mal-estar
- Náuseas, vômitos e anorexia

Microrganismos causadores

- *Escherichia coli* Uropatogénica (UPEC)
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Enterococcus faecalis*
- *Proteus spp*

Fatores de Virulência UPEC

- Adesinas
- Toxinas (HlyA, CNF1)
- Sideróforos
- Flagelo

Figura 20 - Diferentes fatores e características entre a cistite vs pielonefrite. Adaptado de (5).

Classificação das Infecções do Trato Urinário

A infecção urinária é classificada de acordo com o local da infecção e o nível de gravidade da mesma. Com base no local onde se desenvolve a infecção, é considerada infecção do trato urinário inferior se envolver a bexiga (cistite), uretra (uretrite) ou próstata (prostatite) e infecções do trato urinário superior se englobar os ureteres ou o parênquima renal (pielonefrite). De acordo com o grau de severidade, podem ser divididas em ITUs complicadas ou não complicadas (113).

A ITU não complicada ocorre quando o trato urinário apresenta estrutura e função normal. Este tipo de ITU ocorre maioritariamente em mulheres não grávidas, em pacientes com ausência de alterações anatómicas do trato urinário, ausência de alterações funcionais do trato urinário, ausência de cateteres urinários e ausência de alterações na imunidade. Geralmente, é uma ITU de fácil resolução, a terapêutica é de baixo custo e são infecções adquiridas na comunidade (113,114).

Por outro lado, a ITU complicada está associada a anormalidades anatómicas, funcionais ou metabólicas do trato urinário. Exemplos destas anormalidades são hiperplasia benigna prostática (anormalidade intrínseca), as anormalidades congénitas como bexiga neurogénica e fístulas, ou extrínsecas, associadas ao uso de cateteres ou objetos estranhos. São ITUs causadas por uma grande variedade de organismos que são multirresistentes e geralmente de origem nosocomial (114,115).

A ITU recorrente implica o aparecimento de duas ou mais ITU das vias altas, uma ITU alta e uma ITU baixa ou 3 ou mais episódios de ITU baixa no período de 1 ano (116,117). A ITU recorrente pode ser classificada em duas categorias: ITU recidivante que ocorre nas primeiras 2 semanas após o final da antibioterapia, sendo o agente etiológico o mesmo da infecção inicial e, normalmente, é resultado de insuficiência do tratamento inicial ou reinfeção que ocorre após 2 semanas do final do tratamento da ITU inicial, num doente que se encontrava curado, sendo o agente etiológico diferente da IU anterior. O principal agente etiológico das ITU recorrentes é a *E. coli*, contudo na ITU recorrente o tratamento antibiótico deve ter por base a urocultura pré-tratamento, devendo ser comprovada a cura com urocultura pós antibioterapia (118,119).

As ITU podem estar associadas a bacteriúria assintomática (ASB) onde não existem sintomas, mas são observadas bactérias na cultura de urina e neste caso não é necessário tratamento (116). Também pode ser diferenciadas em cistite aguda não complicada, cistite recorrente, ASB associada a cateter, ITU associada a cateter (CAUTI), prostatite e pielonefrite (120).

Estas associações podem-se diferenciar pela presença ou ausência de sintomas referentes ao trato urinário, sexo do paciente, comorbidades e história geniturinária, incluindo a presença de pedras, stents ou cateteres (120).

Cistite aguda não complicada

A cistite aguda é a manifestação mais comum de ITU e é mais prevalente em mulheres, devido a fatores anatómicos, como a uretra mais curta que favorece a contaminação pela microbiota fecal (120), pois é através desta que ocorre a entrada de microrganismos, incluindo patogénicos (121). O principal agente causador de cistite aguda não complicada é a *Escherichia coli* (70-95%) mas também podem estar associadas outras espécies como *Proteus*, *Klebsiella* ou outros agentes gram-positivos como *Staphylococcus saprophyticus* e *Enterococcus faecalis*. Embora a cistite aguda não complicada não seja encarada como uma patologia grave, a qualidade de vida dos doentes é muitas vezes seriamente afetada. As infeções das vias urinárias nos homens são geralmente complicadas (119,122).

Pielonefrite

A pielonefrite aguda não complicada surge em mulheres saudáveis, jovens sem alterações estruturais ou funcionais das vias urinárias e sem patologia significativa associada. A pielonefrite aguda complicada surge em doentes com alterações estruturais ou funcionais das vias urinárias ou com condição médica predisponente. Comparada com a pielonefrite aguda não complicada, a pielonefrite aguda complicada caracteriza-se por um espectro de apresentações clínicas mais vasto, uma maior variedade de organismos infetantes (incluindo uma maior probabilidade de resistência aos antibióticos) e um maior risco de progressão para uma complicação, como abscesso intrarrenal ou perirrenal ou pielonefrite enfisematosa (123,124).

Infeções urinárias nosocomiais

As infeções nosocomiais referem-se a infeções em que o desenvolvimento é favorecido em ambiente hospitalar, seja internamento ou ambulatório, e apareçam 48 horas após o paciente ser internado, até 30 dias após os cuidados de saúde, ou até 90 dias após a realização de certos procedimentos cirúrgicos (125).

Segundo a OMS, uma infeção nosocomial traduz-se por uma infeção contraída em meio hospitalar por um paciente internado por uma razão distinta dessa infeção (126).

As infeções nosocomiais do trato urinário são as infeções nosocomiais mais comuns relatadas ao Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças e a Organização Mundial da Saúde (127) (106).

A infeção urinária corresponde a cerca de 40% do total de infeções nosocomiais, associando-se em aproximadamente 80% dos casos, à presença de algália, o que justificou uma nova definição a ter presente, que é a infeção urinária associada a algaliação (128).

A população de maior risco são os pacientes que são imunocomprometidos, assim como pacientes transplantados, doentes sob quimioterapia e recém-nascidos, e doentes críticos internados em unidades de queimados ou unidades de terapia intensiva (UTIs) (129). As infeções urinárias nosocomiais costumam definir-se segundo critérios microbiológicos através da cultura quantitativa de urina com resultados positivos (1 ou 2 espécies) com pelo menos 10^5 bactérias/ml com sintomas clínicos ou sem sintomas (128).

Epidemiologia

A ITU é a terceira infeção mais comum nos humanos ficando atrás apenas das infeções respiratórias e gastrointestinais (130).

Observa-se, frequentemente, o desenvolvimento de uma cistite aguda em mulheres sem doenças de base e sem anomalias funcionais ou estruturais. O pico de incidência de infeções não complicadas do trato urinário baixo em mulheres situa-se entre os 18 e os 30 anos, coincidindo com a idade de máxima atividade sexual e com o período de gravidez sendo estes fatores de risco para a causa de ITU (131).

Estudos mostram que 1 em cada 5 mulheres têm uma infeção urinária durante a sua vida, confirmando que se trata de um problema comum em todo o mundo.

Em Portugal, a incidência da ITU adquirida na comunidade ainda é difícil de documentar.

Estima-se que, aos 70 anos, 15% das mulheres apresentem bacteriúria assintomática, número que aumenta para os 30-40% em idosas hospitalizadas ou internadas em instituições de geriatria e praticamente para os 100% em portadoras de sonda urinária permanente (131).

Com o objetivo de atualizar os dados sobre a infeção urinária não complicada da mulher na prática clínica em Portugal, em 2008 foi realizado um questionário a 148 médicos de clínica geral e urologistas. Em média, cada médico consulta 115 doentes por semana, verificando-se que cerca de 7,1 casos correspondem a consultas por infeções urinárias. Do total das cistites diagnosticadas pelo médico, 13,1% são cistites complicadas e 22,6% são infeções urinárias recorrentes. Já nos EUA, as taxas de incidência relatadas estão mais bem documentadas e para cistite foram calculadas taxas de incidência de 12,6% ao ano para mulheres e 3,0% para homens nos anos 2000. Em 2000, as taxas de hospitalização por pielonefrite foram de 11,7 por 10.000 mulheres e 2,4 por 10.000 homens nos EUA. O Estudo de Prevalência de Infeções em Urologia (GPIU) estima que

1.866 de 19.756 (9,4%) pacientes urológicos hospitalizados entre 2005 e 2017 desenvolveu uma ITU durante o internamento (131).

As ITU associadas ao cateter (CAUTIs) são as infecções nosocomiais mais prevalentes no mundo, causando 40% de todas as infecções nosocomiais dos EUA ou 900.000 casos anualmente (106,129).

Estas infecções causam menos morbidade que outras infecções nosocomiais, mas por vezes podem levar a bacteremia e morte. As bactérias causadoras podem ser provenientes da flora intestinal, normalmente *Escherichia coli*, ou contraída em meio hospitalar, *Klebsiella* spp. Multirresistente (128).

Etiopatogenia

As ITUs baixas não complicadas comunitárias são causadas por um baixo número de espécies bacterianas e mais de 95% destas são produzidas por uma única espécie (infecção monomicrobiana) (81,132).

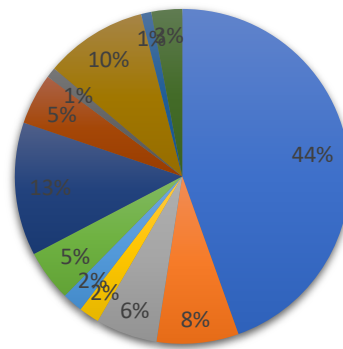
A maior parte das ITUs são causadas por microrganismos aeróbios de Gram-negativos provenientes do cólon, as Enterobactérias. Também existem ITU que possuem uma etiologia exógena produzidas por microrganismos ambientais com frequência introduzidos nas vias urinárias durante a sua manipulação (131).

As Enterobactérias são os microrganismos mais frequentemente associados a ITU sendo que o principal é a *Escherichia coli*. Outras bactérias de Gram negativas comuns são: *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* e *Serratia* sp. Entre as bactérias gram-positivas, temos: *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* sp. e *Staphylococcus aureus* (116).

Nos neonatos, devemos levar em conta outras possíveis etiologias, tais como: *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae* e *Enterococcus* sp (133) e, em mulheres adolescentes, *Staphylococcus saprophyticus* (134). As ITU também podem ser causadas adenovírus (cistite hemorrágica), *Candida* spp e parasitas (como *Schistosoma haematobium*)(135). É possível observar a percentagem de cada espécie nos diferentes tipos de ITU (Figura 21).

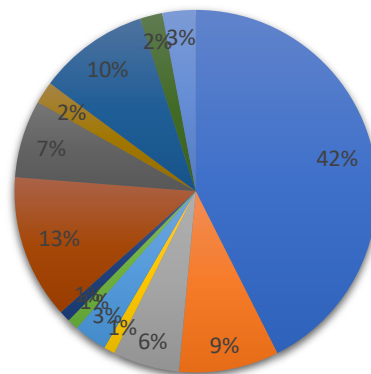
AS ITUs são favorecidas também por antibioticoterapia prévia, hospitalização ou coexistência de uma uropatia (116).

Pielonefrite



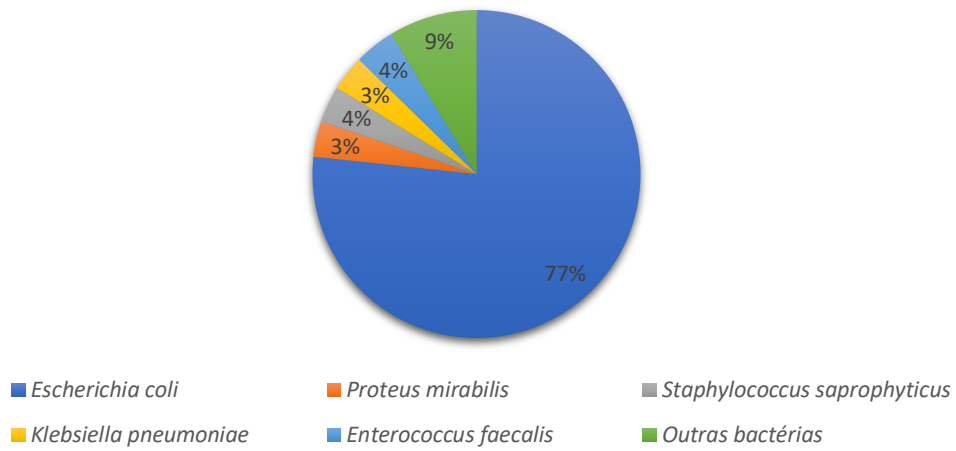
- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Proteus spp.*
- *Citrobacter spp.*
- *Staphylococcus aureus*
- *Outras bactérias*
- *Klebsiella spp.*
- *Enterobacter spp.*
- *Acinetobacter spp.*
- *Enterococcus spp.*
- *CoNS*
- *Fungos*

Cistite complicada



- *Escherichia coli*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Proteus spp.*
- *Citrobacter spp*
- *Staphylococcus aureus*
- *Other Gram-positive bacteria*
- *Fungi*
- *Klebsiella spp.*
- *Enterobacter spp.*
- *Acinetobacter spp.*
- *Enterococcus spp.*
- *CoNS*
- *Other bacteria*

Cistite não complicada



Urosepsis

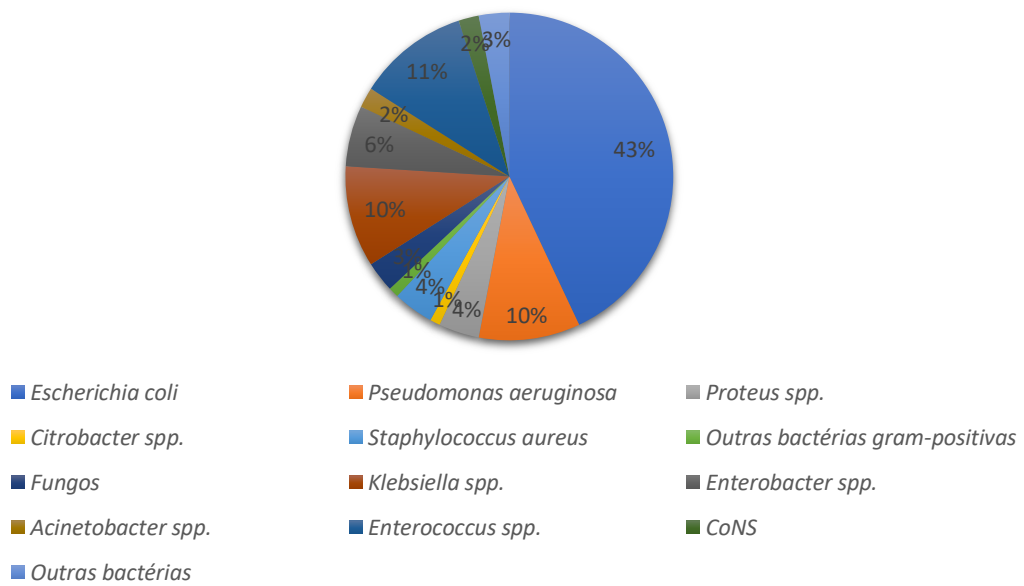


Figura 21 - Prevalência de espécies bacterianas uropatogênicas nos vários tipos de ITU. CoNS – *Stafilococcus coagulase negativo*. Adaptado de (33).

A patogenia inicia-se quando as Enterobactérias colonizam o vestíbulo da vulva e a região periuretral, ascendendo um pequeno número de bactérias até à bexiga e, em circunstâncias excepcionais, à pélvis e ao parênquima renal. Normalmente, estas bactérias são eliminadas pelo fluxo e pelas propriedades antibacterianas da urina e pela presença de Imunoglobulina A (IgA) e pelos escassos polimorfonucleares presentes na superfície vesical.

Se essas bactérias não forem eliminadas, inicia-se uma colonização ou uma infeção (implica lesão do epitélio vesical) dependendo do equilíbrio entre a virulência da bactéria, o tamanho do inóculo, os mecanismos defensivos locais e a presença ou não de alterações anatómicas ou funcionais do trato urinário.

Se não se produzir nenhuma lesão inflamatória da mucosa vesical, então tratar-se-á de uma colonização assintomática, produzindo-se uma bacteriúria assintomática.

Quando o microrganismo causa danos tissulares, que se traduzem no aparecimento de sintomatologia clínica de tipo inflamatório-doloroso, gera-se a cistite (infeção sintomática).

Na figura abaixo (fig.22), encontra-se representado o mecanismo de patogenia (verde) e os vários fatores que aumentam o risco de infeção (azul).

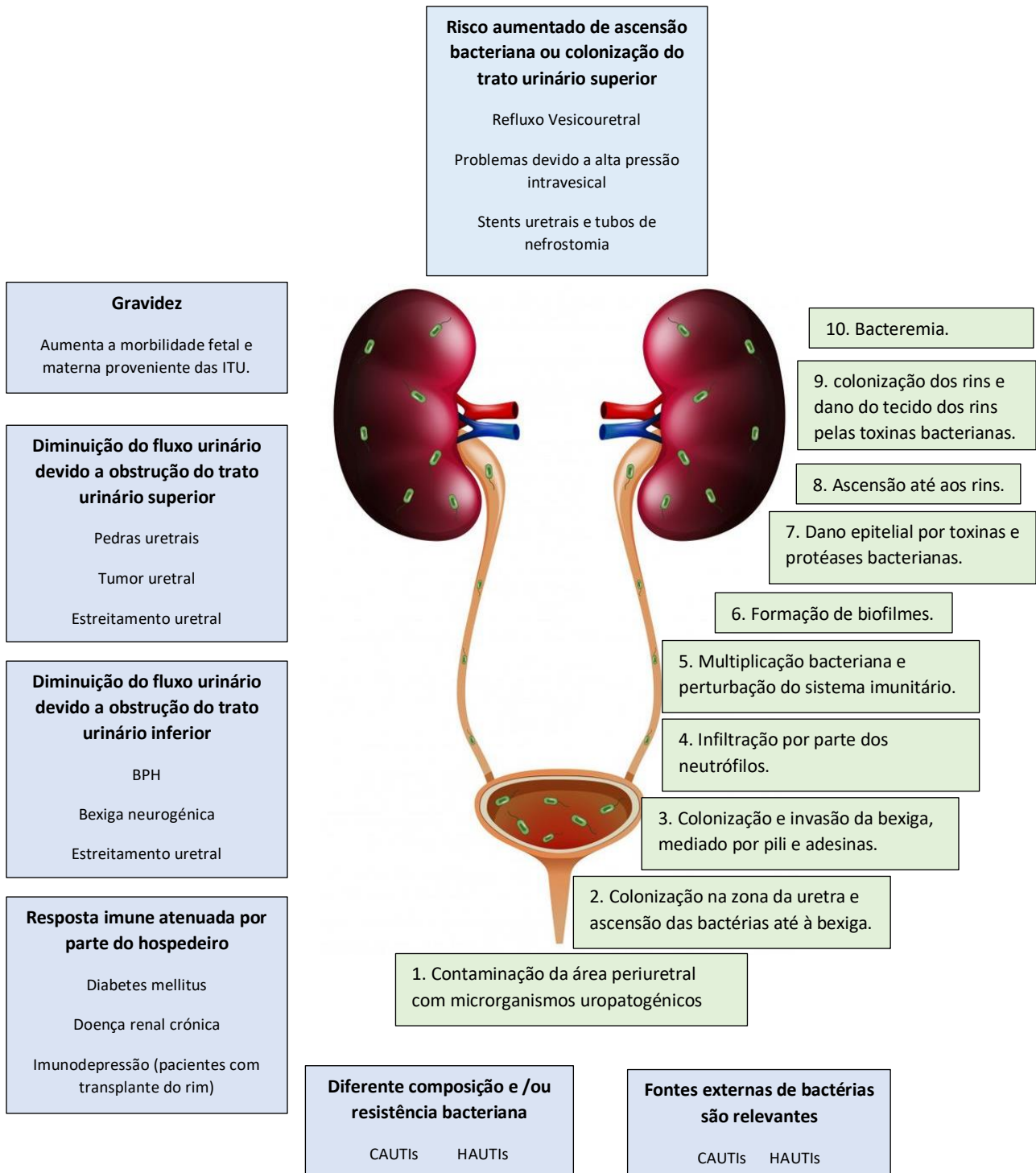


Figura 22 - Aspectos fisiopatológicos da ITU complicada e da pielonefrite. Adaptado de (35,41). CAUTIs, ITUs associadas a cateter; HAUTIs, ITUs associadas aos cuidados de saúde.

Fatores do hospedeiro

A obstrução ao fluxo urinário leva a um aumento da suscetibilidade à ITU. A estase urinária compromete os mecanismos de defesa renais e contribui para o aumento da concentração de bactérias na urina, facilitando a aderência destas às células uroepiteliais.

As anormalidades anatómicas mais comuns que predisõem os pacientes à ITU é a incompetência da válvula uretrovesical, válvulas uretrais adquiridas congenitamente e o divertículo da bexiga. Também as anormalidades estruturais podem impedir o fluxo de urina de dentro ou de fora do sistema urinário. Os cálculos no trato urinário, massas ou tumores podem obstruir o fluxo urinário (136). Para os homens, a obstrução do fluxo urinário pode ocorrer devido à hipertrofia prostática e a estenose uretral. Já nas mulheres, os miomas, um grande útero de grávida, prolapso uterino ou cistocele, podem obstruir fluxo urinário.

A disfunção no esvaziamento da bexiga contribui para a estase urinária e infecção, um exemplo é a bexiga neurogénica causada por lesão na medula espinhal. Por outro lado, a retenção urinária pode também ser causada por uma série de agentes farmacológicos.

Finalmente, outro fator de risco é a instrumentação em qualquer lugar ao longo do sistema urinário. O cateterismo uretral é o mais comum e tem sido considerado o fator predisponente mais importante nas ITUs nosocomiais (10). A cistoscopia ou cirurgia transuretral, especialmente envolvendo colocação de stents ou lise de cálculos, também coloca os pacientes em maior risco de ITU. Podemos observar um esquema dos vários fatores que causam UTI na Figura 23.

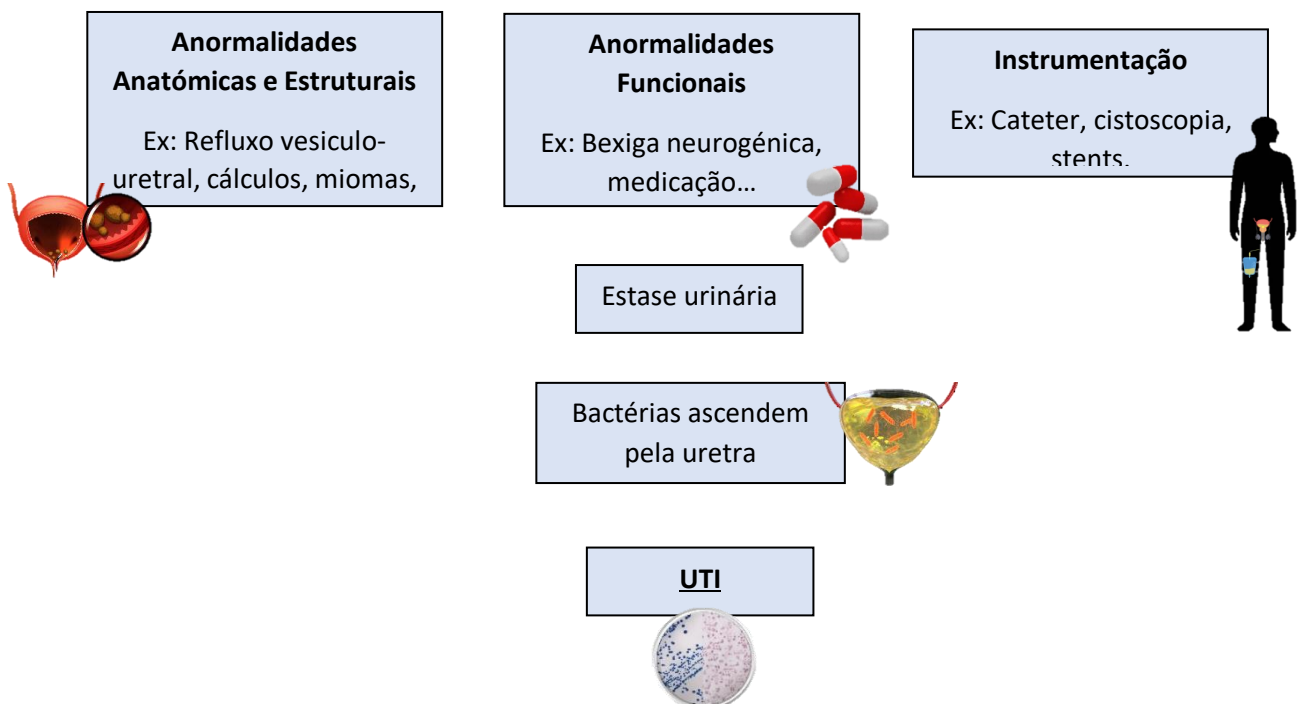


Figura 23 - Fatores que podem levar a infecção do trato urinário. Adaptado de (27).

Outros fatores são: gravidez, urolitíase, refluxo vesico-ureteral, transplante renal, imunossupressão, manipulação da via urinária, malformações congênitas e doenças metabólicas como diabetes mellitus (137).

Um aspecto importante relacionado com a ITU reside na genética, relacionada com a secreção dos antígenos do grupo sanguíneo ABO, que é um fator hereditário autossômico dominante. As mulheres “secretoras” do grupo sanguíneo ABO são mais resistentes à infecção por uropatogênicos. Estudos demonstram que as mulheres “não secretoras” são mais suscetíveis às ITUs recorrentes. Nas mulheres “não secretoras” do grupo sanguíneo ABO, o epitélio vaginal expressa dois receptores glico-esfingolípido que têm afinidade para os uropatogênicos, facilitando desta forma a colonização do trato urinário pelas bactérias patogênicas (138).

No sexo masculino, a ITU não é uma doença comum, devido à presença de alguns fatores protetores, incluindo a distância entre o ânus e o meato urinário e, o meio seco em torno da uretra masculina. Existem comportamentos de risco aumentam a probabilidade dos homens adquirirem ITU, como relações sexuais com mulheres com ITU, homossexualidade e a falta de circuncisão (138).

Em circunstâncias normais, o trato urinário é normalmente um meio estéril, com exceção do segmento distal da uretra é através deste mecanismo que o trato mantém a esterilidade desobstruindo o canal e permitindo que o fluxo de urina saia do sistema. Outros mecanismos que têm um papel na prevenção da ITU incluem alta osmolaridade, a elevada concentração de ureia e de ácidos orgânicos, e o pH ácido (139).

Em pacientes do sexo masculino, a microbiota normal na região distal da uretra inclui estafilococos, estreptococos e organismos difteroides. Já em pacientes do sexo feminino, a uretra é colonizada por *Escherichia coli* e outros organismos da microbiota intestinal. A uretra feminina é curta, facilitando a subida dos patógenos para a bexiga. Raramente as ITUs ocorrem por disseminação hematogênica ou linfática de infecções adjacentes, mas essas vias não desempenham um papel significativo na maioria das ITUs.

O organismo que é mais comum na causa de ITU é a *Escherichia coli*, responsável por mais de 80% das infecções agudas adquiridas na comunidade, seguidas por *Staphylococcus saprophyticus*, responsável por 10% a 15% das ITUs (121).

Outros patógenos urinários comuns adquiridos na comunidade incluem *Proteus*, *Klebsiella* e *Enterococcus faecalis*. As infecções nosocomiais do trato urinário são comumente causadas por *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *E. faecalis*, *Staphylococcus*, e *Candida* (140).

Fatores bacterianos

As infecções do trato urinário podem ocorrer devido a dois mecanismos: por via hematogénea ou descendente a partir de bacteremia (mais frequentemente em recém-nascidos e lactentes) ocorre em 5% dos casos ou ascendente, através da passagem de bactérias da área perineal através da uretra, principal via responsável pela invasão do trato urinário, ocorrendo em mais de 95% dos casos (141).

A via descendente está mais relacionada com as infecções causadas por *Staphylococcus aureus*, *Candida* spp., *Salmonella* spp. e *Mycobacterium tuberculosis*, que causam infecções primárias em outras partes do corpo, podendo resultar em abscessos focais renais (142).

A gravidade das ITUs depende de um equilíbrio entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e a virulência dos microrganismos causadores (143). A infecção bacteriana é uma combinação da capacidade da bactéria de superar os mecanismos de defesa do hospedeiro, formar biofilmes e sobreviver em diferentes meios do trato urinário ou na corrente sanguínea (144).

Mecanismos de defesa

O hospedeiro possui mecanismos de defesa antibacteriana que envolvem procedimentos mecânicos, como a excreção de microrganismos do trato urinário pela urina, e o sistema imune inato (145,146).

As bactérias patogénicas anexam-se às células epiteliais superficiais da bexiga e assim desencadeiam uma resposta imune inata, por meio da sinalização Toll-like receptor 4 (TLR4) (um membro do recetor Toll/IL-1 (TIR) do domínio superfamília 42) (145).

As células uro epiteliais secretam citocinas e quimiocinas, como IL-6, IL-8 e peptídeos antimicrobianos (147). O IL-8 é um forte quimioatraente que se liga aos recetores de IL-8 quimiocina CXC tipo 1 (CXCR1) e CXCR2 nos neutrófilos, levando a um recrutamento de neutrófilos e à migração através do uroepitélio, onde acabam por eliminar os microrganismos por fagocitose (147).

Em polimorfismos genéticos que causam disfunção de recetores cruciais no sistema inato, o sistema imunológico pode aumentar a suscetibilidade a diferentes formas de ITUs (146,148). Por exemplo, polimorfismos em TLR4 e CXCR1 foram identificados em pacientes com bacteriúria assintomática e pielonefrite aguda, respectivamente (146).

Mecanismos de virulência

O desenvolvimento das infecções urinárias também depende de vários fatores relacionados com os microrganismos, entre eles a motilidade bacteriana, formação de biofilme, presença de lipopolissacarídeos, produção de toxinas e absorção de ferro, que aumentam a sobrevivência microbiana e o potencial de determinados microrganismos para causar doenças num ambiente de específico (148).

Os lipopolissacarídeos são componentes da membrana de bactérias Gram-negativas, são fortes indutores da inflamação do hospedeiro e são os principais mediadores de sintomas no choque séptico (148).

A motilidade bacteriana mediada por flagelos pode fornecer vantagem na competição por nutrientes, aumentando a virulência bacteriana e aumentando a disseminação para o trato urinário superior (149).

A absorção eficaz de ferro é necessária para que as bactérias colonizem o trato urinário. Os sistemas de aquisição de ferro, denominados sideróforos, como a aerobactina, removem o ferro do ambiente para superar a limitação de ferro no trato urinário, aumentando assim a virulência bacteriana (150).

As toxinas bacterianas, como a hemolisina e o factor necrosante citotóxico 1, aumentam a virulência ao danificar diretamente os tecidos do hospedeiro ou pela desativação do sistema imunológico (147).

Adesinas, como a fímbria tipo 1, permitem a fixação bacteriana na bexiga (150). Podemos observar este mecanismo na figura 24.

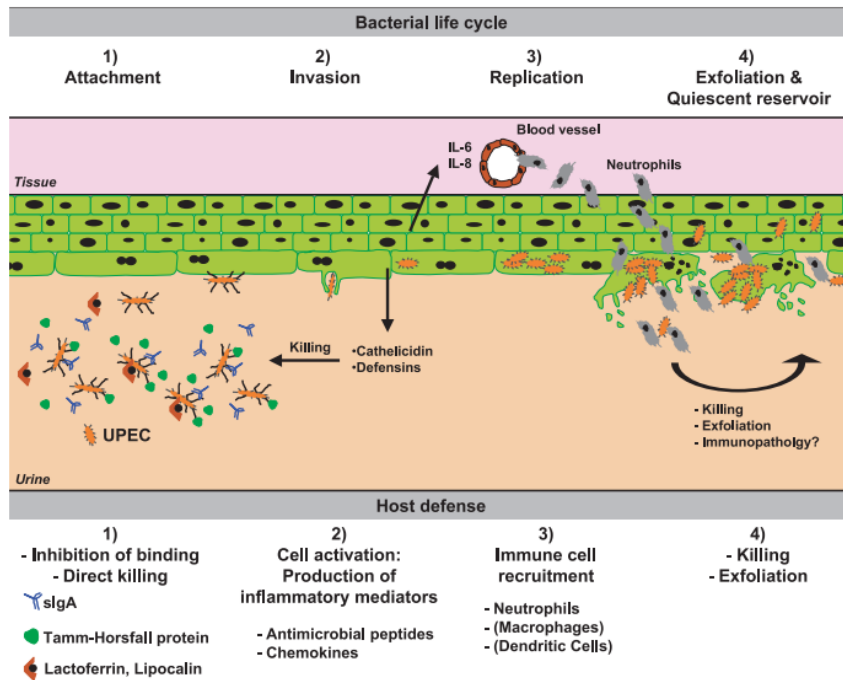


Figura 24 - Mecanismos de virulência na UTI. Adaptado de (40).

Sintomatologia

Os sintomas de uma cistite (infecção urinária da bexiga) diferem dos sintomas de uma pielonefrite (infecção urinária renal) tal como mostra a tabela 3 (110).

Tabela 3 – Sintomas da cistite vs pielonefrite.

Cistite	Pielonefrite
<ul style="list-style-type: none"> • Disúria 	<ul style="list-style-type: none"> • Febre
<ul style="list-style-type: none"> • Polaquiúria 	<ul style="list-style-type: none"> • Arrepios
<ul style="list-style-type: none"> • Vontade de urinar mesmo com a bexiga vazia 	<ul style="list-style-type: none"> • Dor lombar ou na lateral das costas
<ul style="list-style-type: none"> • Hematúria 	<ul style="list-style-type: none"> • Náuseas ou vômitos
<ul style="list-style-type: none"> • Pressão ou câibras na virilha ou abdómen inferior. 	

Diagnóstico das infecções do trato urinário

O diagnóstico é bastante importante pois permite identificar o microrganismo causador das mesmas, embora em pacientes que apresentem sintomas de cistite (disúria e micção frequente) que não apresentam sintomas sugestivos de outros diagnósticos podem ser tratados para ITU sem mais testes adicionais (135). A figura 25 esquematiza o diagnóstico de uma ITU.

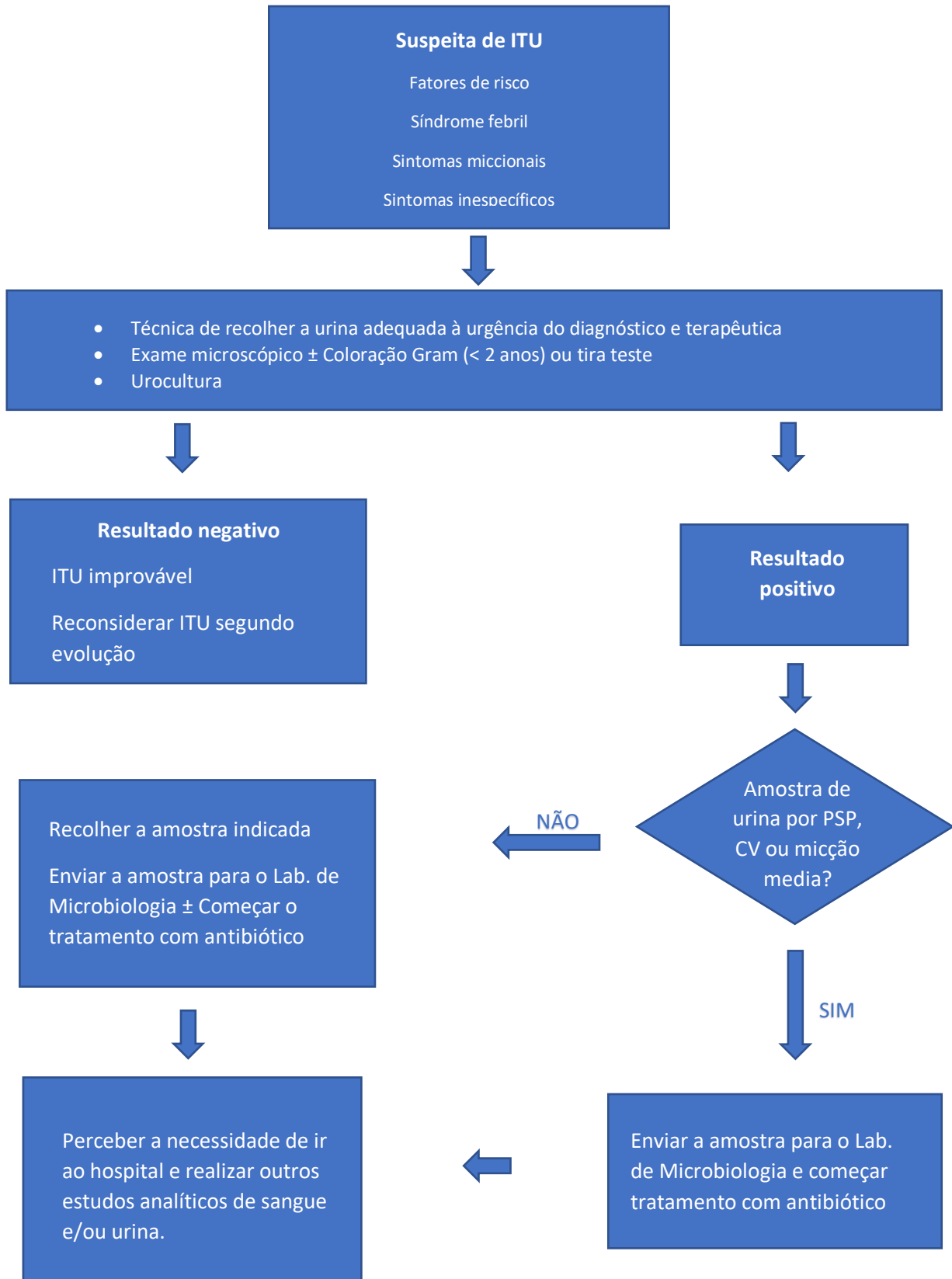


Figura 25 - Confirmação do diagnóstico de uma ITU. Adaptado de (8).

Análises da Urina

Tiras-teste

A tira teste é utilizada para a determinação do pH, densidade e presença de elementos químicos na urina (Leucócitos, Glicose, Cetonas, Bilirrubina, Sangue, Proteínas, Urobilinogénio, Nitrito, Ácido ascórbico). A tira é constituída por um suporte plástico que contem áreas impregnadas com reagentes químicos e quando estes entram em contacto com a urina desenvolve-se uma reação de cor (151).

Em pacientes que apresentem sintomas sugestivos de cistite aguda e urina positiva (leucócitos+), o uso de tiras-teste pode ajudar na confirmação do diagnóstico, mas por outro lado, o resultado negativo nas tiras-teste não descarta uma ITU em pacientes com sintomas e predisposição para ITU (152).

Um exemplo da situação referida acima é que embora o valor do pH possa estar mais baixo (normal entre 5.5 e 7.5), a esterase leucocitária é capaz de detetar a presença desta enzima nos leucócitos, o que indica uma inflamação, causada geralmente por uma infeção no trato urinário. No caso dos Nitritos, o teste deteta a enzima nitrato redutase, que é sempre positiva nas Enterobactérias. A presença de sangue também pode estar associada a uma cistite.

Urocultura

A cultura de urina é considerada uma técnica padrão no diagnóstico de ITU, principalmente, se a paciente está grávida ou é homem. Em mulheres, a cultura de urina geralmente não é necessária na suspeita de cistite aguda não complicada porque são previsíveis os organismos causadores e a cultura de urina muitas vezes não está disponível após a conclusão dos tratamentos.(120)

A presença de disúria aguda e piúria é um indicador altamente sensível de bacteriúria e pode ser usado como substituto da cultura de urina, sempre que esta não é possível.(120)

A urocultura é feita de forma semi-quantitativa utilizando ansas calibradas para semear a urina no meio. Os meios de cultura utilizados podem ser de 3 tipos: Seletivo e diferencial (ágar sangue/ágar MacConkey), diferenciais adaptados ao isolamento de agentes patogénicos urinários (CLED) e diferenciais cromogénicos não seletivos.

A maioria das bactérias causadoras de ITU crescem após 18-24 h de incubação a 35-37C com uma atmosfera aeróbica. O período de incubação pode ser estendido para 48 horas numa urina

obtida por punção suprapúbica, quando é solicitado um estudo de leveduras, ou em culturas negativas ao fim de 24h e com bacteriúria.

A principal causa de piúria e cultura negativa é o tratamento prévio com antibióticos. Se o paciente não recebeu antibioticoterapia prévia e tem sintomas urinários, piúria e uma cultura de urina negativa, deve-se investigar a presença de micobactérias.

As culturas de urina fornecem a confirmação da presença de bacteriúria, que no quadro clínico correto confirma o diagnóstico de ITU, e fornece informações específicas sobre o organismo e a sua suscetibilidade. Os resultados da cultura de urina dependem do contexto clínico, da colheita e dos resultados obtidos na análise direta da urina (120).

As uroculturas são consideradas positivas quando a contagem de colónias de um uropatógeno reconhecido atinge certo limiar (153). Diretrizes publicadas na Europa, Reino Unido (Scottish Intercollegiate Guidelines (154) e nos Estados Unidos revelam discrepâncias significativas na escolha de um limite quantitativo para definir bacteriúria significativa (155).

No Reino Unido, o diagnóstico de ITU por cultura é geralmente definido pelo isolamento de 10^5 UFC/ml de uma única espécie de um patógeno urinário para delimitar a fronteira da infeção (154).

Nos Estados Unidos, a bacteriúria é diagnosticada quando 100.000 bactérias são isoladas por mililitro (156).

Na tabela abaixo, é possível observar as contagens, como são feitas as colheitas e se com essas características se considera bacteriúria segundo as diretrizes Europeias (157).

Tabela 4 – Contagens de Kass, realização da colheita e se se considera bacteriúria. Adaptado de (157)

Contagem de Kass	Colheita	Bacteriúria Significativa
$\geq 10^5$ UFC/ml	Colheita feita pelo próprio.	+
$\geq 10^2$ UFC/ml (mulheres) $\geq 10^3$ UFC/ml (homens)	Nos homens a colheita é mais difícil de contaminar daí a diferença na contagem.	
Qualquer contagem	Punção suprapúbica ou amostras intraoperatórias	+
$\geq 10^3$ UFC/mL	Cateterismo vesical	+
$\leq 10^4$ UFC/ml	Situações diferentes das descritas	-

UFC – unidades formadoras de colónias

Hemocultura

A hemocultura pode ser útil nos casos em que a administração de antibióticos começou antes da cultura de urina. Diabéticos e recetores de transplante renal têm maior incidência de bacteremia secundária com ITU, então as culturas de sangue devem ser feitas se esses pacientes apresentarem sinais sistêmicos de infecção (158,159).

Imagiologia

A radiografia abdominal, ultrassonografia, tomografia computadorizada e urografia excretora são pouco benéficos ao diagnóstico de ITU. Tais estudos devem ser feitos apenas se a suspeita for de um diagnóstico alternativo ou um problema anatómico (como como obstrução da bexiga ou pedra) que requer intervenção (160). Este tipo de exames é limitado à detecção de complicações, como pielonefrite xanto granulomatosa ou abscesso renal (116,161).

Bioluminescência

A bioluminescência baseia na capacidade de emissão de luz visível por organismos vivos. Este processo é catalisado por enzimas luciferases, na presença de ATP (adenosina trifosfato) e da enzima oxido redutase e da luciferina. Este método traduz o reconhecimento biológico de um patógeno específico num sinal mensurável, permite atender à necessidade de detecção de ITU no local de atendimento podendo os resultados ser vistos de 1 a 3h30 após a realização do teste, reduzindo a possibilidade de resistência a antibióticos associada a casos mal diagnosticados de infecções do trato urinário, especialmente em ambientes de poucos recursos (162).

As desvantagens deste método são o custo elevado e o facto de não extrair apenas ATP de origem bacteriana, pois o ATP é a medida de energia livre dos sistemas biológicos e é o principal composto armazenador de energia de todos os tipos de célula (162), o exame pode não dar uma impressão correta da infecção devido a fatores, como contaminação com a flora normal do trato geniturinário e/ou má interpretação (162).

Sistema de classificação para as ITU

Em 2010, a Secção Europeia de Infecções em Urologia (ESIU) propôs uma definição alternativa e um sistema de classificação para as ITU (105).

Essa classificação avalia os fatores de risco dos microrganismos, do hospedeiro, o grau de severidade e o quadro clínico (Figura 26).

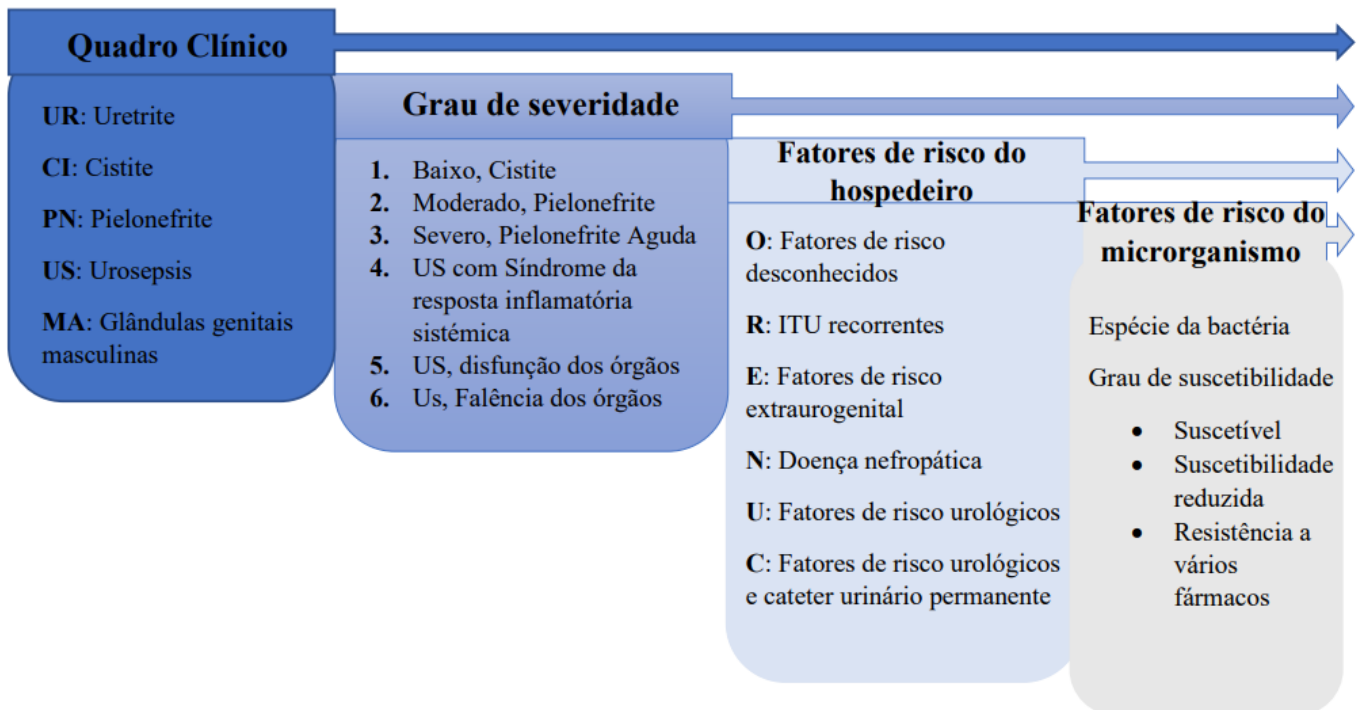


Figura 26 - Definição alternativa e sistema de classificação para as ITU (60).

Cistite Aguda não complicada

Em 2010, as normas orientadoras da Infectious Disease Society of America (IDSA) elaboradas em 1999 sobre o tratamento da cistite aguda não complicada e da pielonefrite aguda em mulheres foram atualizadas (163). O diagnóstico da cistite aguda considera a história clínica, instrumento mais importante, e deve ser apoiada por um exame objetivo e por uma análise de urina. A cistite aguda não complicada consiste numa infeção urinária numa mulher antes da menopausa, não grávida e sem anomalia urológica ou outra patologia conhecida (figura 1). E os sintomas comuns da infeção das vias urinárias inferiores incluem disúria, polaquiúria, imperiosidade miccional e pode, em certos casos, ocorrer hematuria, como descrito na tabela 1.

O exame objetivo de doentes com cistite aguda não complicada é geralmente normal, exceto nos 10 a 20% de mulheres com dor suprapúbica à palpação.

Quando uma mulher surge com, pelo menos, um dos sintomas clássicos de cistite aguda não complicada, a probabilidade de infeção aumenta 10 vezes para cerca de 50% (152). Os três principais fatores de risco de diagnóstico de IU recorrente em mulheres são o aumento na frequência da atividade sexual, uso de diafragmas com espermicidas e a perda do efeito estrogénico na vagina e na região periuretral (menopausa) (figura 1).

As tiras teste devido ao seu custo efetividade faz com que sejam uma alternativa adequada à análise de urina e ao exame microscópico de urina no diagnóstico da cistite aguda não complicada em mulheres sintomáticas. Os nitritos e a esterase leucocitária no teste de urina com tiras são os indicadores mais precisos de cistite aguda não complicada (164).

As uroculturas apenas estão indicadas nas doentes com suspeita de pielonefrite aguda.

Uma contagem de colónias superior ou igual a 10^3 de unidades formadoras de colónias por mL de um patogénico urinário é diagnóstico de cistite aguda não complicada. Mas existem, vários estudos que mostram que mais de 10^2 unidades formadoras de colónias por mL em mulheres com sintomas típicos de IU representam cultura positiva (157).

As doentes que surgem com sintomas atípicos de cistite aguda não complicada e as que não respondem de forma adequada ao tratamento podem necessitar de fazer exames de imagem, como tomografia computadorizada ou ecografia para se excluírem complicações e outras doenças.

Pielonefrite Aguda

Para a realização do diagnóstico de pielonefrite aguda é importante a informação sobre a história clínica e a realização exame objetivo. Mulheres que apresentam sintomas das vias urinárias inferiores acompanhados por febre, náuseas, vômitos ou dor lombar. A dor lombar está quase sempre presente nos doentes com pielonefrite aguda. No exame objetivo, a dor despertada pela percussão do ângulo costovertebral é um sintoma de grande alerta. A febre pode não existir em indivíduos idosos, fragilizados ou em doentes imunodeprimidos que podem não apresentar outras manifestações clássicas de pielonefrite aguda (165).

O diagnóstico de pielonefrite é feito com base na análise de urina mostrando positividade no teste da esterase leucocitária, piúria microscópica ou hematúria ou cilindros de leucócitos. No esfregaço do sangue periférico revela leucocitose, com ou sem desvio esquerdo, hemoculturas positivas em 15 a 30% dos casos ou presença de hemoglobina no teste com tiras e na urocultura é verificado um crescimento $\geq 10^5$ unidades formadoras de colónias de um único microrganismo Gram negativo por ml de urina (165).

Qualquer doente em que se suspeite de pielonefrite aguda deve fazer uma urocultura e uma prova de sensibilidade aos antibióticos para se ajustar o possível tratamento antibiótico e ajudar na seleção do antibiótico.

A maioria das mulheres com pielonefrite aguda não necessita de estudos imagiológicos, a menos que os sintomas não melhorem ou haja uma recidiva (166). O objetivo dos estudos de imagem é identificar uma anomalia estrutural subjacente, como uma obstrução oculta decorrente da presença de um cálculo ou um abscesso (166,167).

Tratamento

Existem diretrizes para tratamento de ITU, mas a adesão a essas diretrizes em relação à preferência, dose e duração do antibiótico não é a esperada (168). Isso pode resultar na diminuição da eficácia do antibiótico e no aumento dos custos de saúde (168,169).

A disponibilidade de antibióticos eficazes não é apenas um problema nos países em desenvolvimento, mas também está se tornando um problema nos países desenvolvidos devido ao aumento da resistência a antibióticos (170).

Para tratamento de ITU aguda e não complicada, existem duas linhas de antibióticos. A primeira linha que inclui monohidrato/microcristais de nitrofurantoína, trimetoprim-sulfametoxazol e fosfomicina trometamol (171). Já da segunda linha fazem parte as fluoroquinolonas e os agentes beta-lactâmicos, como podemos observar na tabela 5 (171).

Os antibióticos de primeira linha são mais utilizados e de maior preferência médica pois permitem a seleção de organismos resistentes aos fármacos e têm alta eficácia (171). Em comparação com os medicamentos de primeira linha, os antibióticos de segunda linha apresentam maior risco de efeitos colaterais, maior risco de infecções subsequentes e maiores problemas na microbiota fecal normal (171).

A cultura de urina positiva na ausência de sintomas não deve ser tratada, exceto em grávidas ou pessoas submetidas a procedimentos geniturinários invasivos (121).

Tabela 5 – Características do antibiótico vs eficácia clínica. (172–174)

Linha do antibiótico	1ª linha	Apenas de 1ª linha se a taxa de resistência local não ultrapassar os 20%.	1ª linha	2ª linha	2ª linha
Nome do antibiótico	Nitrofurantoína	trimetoprim-sulfametoxazol	Fosfomicina	Fluoroquinolonas	Agentes beta-lactâmicos
Tempo de tratamento	5 a 7 dias	3 dias	1x, pode ser repetido	3 dias	3 a 7 dias
Eficácia clínica estimada	93% (84-95%)	(90-100%) em regiões com resistência <20%.	91%	90% (85-98%)	89% (79-98%)

A eficácia depende das taxas de resistência bacteriana, uma vez que uma maior resistência leva à diminuição da eficácia do tratamento. Antibiógramas geralmente disponíveis nos hospitais e outras instituições, são úteis para determinar padrões de resistência na área e podem ajudar a orientar a seleção de antibióticos. No entanto, embora as taxas esperadas de erradicação bacteriana diminuam com o aumento da resistência, não se traduz necessariamente em falha terapêutica (171).

A seleção de um antibiótico para um idoso é diferente da seleção para um adolescente ou para uma criança e por isso os efeitos adversos devem ser considerados e calculados (171).

As fluoroquinolonas devem ser usadas com cuidado em idosos e imunocomprometidos, pois há um maior risco de aparecimento de tendinites e ruptura de tendões (175). Além disso, a resistência às fluoroquinolonas é provavelmente maior em idosos.

A nitrofurantoína, embora previamente contraindicada para uso em pacientes com depuração de creatinina <60 mL/min, mostrou-se segura em pacientes com depuração de creatinina de 30 ml/min. A depuração de creatinina <30ml/min é principalmente associado à diminuição da eficácia da nitrofurantoína e não à sua toxicidade (176,177).

Na gravidez, a seleção de antibióticos inclui amoxicilina (500 mg, duas vezes ao dia por 5-7 dias), amoxicilina-clavulanato (500/125 mg, duas vezes ao dia, 3-7 dias) ou cefalexina (500 mg, duas vezes diariamente, 3-7 dias). A nitrofurantoína é frequentemente usada (100 mg, duas vezes ao dia por 5-7 dias). Embora o uso deste antibiótico tenha sido previamente associado a possíveis alterações fetais no primeiro trimestre, estudos prospectivos não mostraram qualquer associação com alterações fetais (178). A fosfomicina e o trimetoprima-sulfametoxazol também podem ser utilizados, embora deva ser evitado no primeiro trimestre porque atua como antagonista do ácido fólico, e a curto prazo pode levar teoricamente ao desenvolvimento de kernicterus (uma complicação da icterícia neonatal que provoca lesões no cérebro do recém-nascido) (179). A duração do tratamento varia de 3 a 7 dias, embora não existam dados suficientes quanto à duração ideal de tratamento.

Cistite não complicada

Em agosto de 2011, a Direção Geral de Saúde divulgou uma Norma intitulada “Terapêutica de infeções do aparelho urinário”. Segundo esta Norma, o esquema terapêutico recomendado para o tratamento da cistite aguda não complicada é o que está descrito na Tabela 6 (180).

Tabela 6 – Antibióticos para o tratamento da cistite aguda não complicada

População	Fármaco	Posodologia
Cistite aguda não complicada da mulher não grávida	Nitrofurantoína	100mg 6 em 6h durante 5-7 dias
	Fosfomicina	300mg/dia durante 1 dia
	Amoxicilina/ácido clavulâmico	625mg (500+125mg) 8/8h durante 5-7 dias
Cistite aguda não complicada da mulher grávida	Fosfomicina	300mg/dia durante 1 dia
	Amoxicilina/ácido clavulâmico	625mg (500+125mg) 8/8h durante 5-7 dias

Em média, as doentes começam a sentir alívio dos sintomas nas 36 horas depois de terem iniciado o tratamento (119).

Pielonefrite

Em Portugal, segundo a Norma da DGS nº 015/2011, na pielonefrite, como na cistite, as quinolonas não são terapêuticas empírica recomendada, uma vez que promovem frequentemente a seleção de bactérias corresponsáveis a diferentes antimicrobianos e que as taxas de resistência às quinolonas de agentes patogénicos frequentes são muito elevadas em Portugal (30%) (180).

Segundo a norma portuguesa da DGS deve-se optar pelo esquema terapêutico da tabela 7

Tabela 7 - Tratamento em ambulatório para doentes com pielonefrite. Adaptado de (180).

População	Antibióticos	Posologia
Pielonefrite - casos ligeiros a moderados	Ceftriaxona seguido de Cefuroxima – axetil	1 gr IV ou IM (1 toma) 500 mg 12/12h durante 7-14 dias
Pielonefrite - casos ligeiros a moderados em doentes intolerantes aos beta-lactâmicos	Levofloxacina	750mg / dia durante 5 dias
Pielonefrite – casos graves (com sépsis)	Ceftriaxona	2g/dia IV ou IM. Duração: Decisão em meio hospitalar
Pielonefrite - casos graves em doentes intolerantes aos beta-lactâmicos	Gentamicina seguido de antibioterapia dirigida por antibiograma	5mg/kg/dia IV. Duração: Decisão em meio hospitalar

A terapêutica adequada deve causar melhoria nas 48 a 72 horas seguintes a ser iniciada. Se a doente não melhorar como seria de esperar, deve considerar-se fortemente a possibilidade de uma complicação da pielonefrite aguda ou um diagnóstico alternativo e devem fazer-se os exames auxiliares indicados (163).

Resistências aos antibióticos

Os mecanismos de resistência podem ser intrínsecos do microrganismo ou adquiridos por transmissão de material genético ou por mutações. Existem dois grandes mecanismos através dos quais podem acontecer resistências. A mutação num loci do cromossoma ou transferência horizontal de genes, ou seja, por aquisição de genes de resistência anteriormente presentes noutros microrganismos (181).

Os genes responsáveis pela resistência contidos em plasmídeos, codificam enzimas que inativam os antibióticos ou reduzem a permeabilidade das células. Em contraste, a resistência conferida por mutações cromossomais envolve a modificação do alvo (182,183). As mutações que ocorrem nas bactérias podem derivar da ação da radiação ultravioleta ou ionizante, dos agentes alquilantes, da hidroxilamina ou da presença de espécies reativas de oxigénio (ROS). Se o erro provocado pela mutação for um benefício para a bactéria, e daí originar uma resistência aos antibióticos, então tenderá a predominar naquela espécie, provocando assim o grande problema da resistência mediada por mutação é a sua transmissão às gerações seguintes, o que torna a bactéria resistente predominante (183).

Outro mecanismo consiste na troca genética que pode ocorrer por três mecanismos, transdução, transformação ou conjugação. A transformação ocorre quando a molécula de DNA é transferida na lise de uma bactéria a qual é incorporada por outra bactéria. O gene de resistência a antibacterianos pode ser integrado no cromossoma ou plasmídeo da célula recetora. Transdução ocorre quando genes de resistência são transferidos de uma bactéria para outra por meio de bacteriófagos e pode ser integrado ao cromossoma da célula recetora. Estes vírus podem incorporar fragmentos de ADN a partir de um organismo que tenham parasitado antes. Ao infetar uma nova bactéria, eles podem transferir (em adição aos seus próprios genes) ADN bacteriano (184,185).

Em Portugal, os antibióticos betalactâmicos não estão indicados como terapêutica de primeira linha na cistite aguda não complicada devido às taxas de *E coli* resistentes serem superiores a 20%. As fluoroquinolonas apresentam uma taxa de resistência muito elevada, cerca de 30%, e

para se preservar a sua eficácia não são recomendadas como fármacos de primeira linha. A fosfomicina e a nitrofurantoína têm mantido taxas elevadas de atividade in vitro na maior parte das áreas (163).

Assim a incapacidade de os hospitais publicarem anualmente os dados de sensibilidade antimicrobiana, pode causar taxas de resistência visto que a terapêutica instituída pode não ter em conta a realidade local. Foram publicados vários estudos que podem ajudar a prever a possibilidade de resistência da E coli ao trimetoprim/sulfametoxazol em doentes com cistite aguda não complicada (186,187).

Resistências em bactérias de Gram-negativo

Os bacilos Gram-negativo são um grupo de microrganismos formado por muitas espécies que apresentam uma enorme diversidade de padrões de sensibilidade aos antibióticos. E para além de adquirirem esses genes de resistência são capazes de os transmitir (188).

A nível hospital, o aparecimento e a propagação destes microrganismos resistentes são um problema que se tem vindo a agravar e deste modo põe em causa a eficácia da maioria dos antibióticos utilizados na clínica (189).

Os patogêneos nosocomiais apresentam percentagens de resistência mais elevadas, e são mais prevalentes nos serviços hospitalares, particularmente nas Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), onde a pressão de seleção é grande, em virtude da grande utilização de antibióticos de largo espectro. Para além do aumento da pressão de seleção causada pelo uso dos antibióticos, existem outros fatores que podem levar ao aparecimento da resistência. Alguns desses fatores estão relacionados com o hospedeiro, a idade avançada, o aumento de patologias crónicas e agudas graves, aumento de doentes imunocomprometidos na população e a utilização frequente de métodos de diagnóstico mais invasivos, as deficiências no cumprimento das normas de controlo de infeção pelos profissionais de saúde (190).

O aparecimento e a disseminação destas estirpes multirresistentes, principalmente em meio hospitalar, tem suscitado graves problemas, quer do ponto de vista terapêutico, quer epidemiológico, motivando a implementação de programas de vigilância em diversos países (190).

Prevenção

Atualmente existem várias formas de prevenção de ITUs recorrentes que vão depender de vários fatores. Podem ser estes, comportamento sexual, menopausa, uso de medicação para a Diabetes, presença de doenças concomitante (com imunossupressão são menos recomendados lactobacilos e na presença de neoplasia de mama são menos recomendados os estrogénios vaginais), também depende do custo e da complexidade da aplicação, da eficácia e dos efeitos secundários. Existem medidas tradicionais que consistem numa alta ingestão de líquidos, urinar com frequência e após a relação sexual e higiene adequada após a defecação (191).

Por outro lado, a ingestão de Arando vermelho (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) tem sido associada à prevenção de infeções do trato urinário. Pensa-se que o mecanismo benéfico é devido aos ácidos da fruta que causam um efeito bacteriostático na urina. Recentemente, um grupo de proantocianidinas (PACs) com ligações do tipo A que foram isoladas de *cranberry* exibem atividade antiaderente bacteriana contra estirpes suscetíveis e resistentes a antibióticos de *Escherichia coli* uropatogénica (192).

Outra abordagem terapêutica é a aplicação intravaginal de estrogénio em mulheres pós-menopáusicas com ITU recorrente, aplicação intravaginal de um creme de estriol tópico reduziu significativamente a incidência de recorrência. A eficácia foi atribuída a uma restauração do baixo pH vaginal e colonização vaginal por *Lactobacillus* (193).

Mais uma abordagem consiste na aplicação de probióticos, evidências clínicas sugerem que a vagina e área periuretral é normalmente colonizada por *Lactobacillus* spp. em mulheres saudáveis, pode funcionar como um reservatório da UPEC que poderia potencialmente levar a infeções recorrentes. Os supositórios vaginais com Lactobacilos podem ajudar a eliminar este UPEC (193).

Já a prevenção de infeções adquiridas no hospital é feita com base em programas hospitalares de controlo de infeções que recorrem a diversos mecanismos para prevenir as infeções nosocomiais. Os programas hospitalares de controlo de infeções focam-se em primeiro lugar nas infeções associadas a maior morbilidade e a custos mais elevados. As medidas de prevenção e combate consistem na higiene das mãos para evitar a infeção cruzada, em certos casos, uso máscaras, proteção dos olhos e batas identificação e erradicação de reservatórios de infeção e minimização do uso de procedimentos invasivos e cateteres (194).

As infeções nosocomiais devem-se ao efeito combinado da flora do próprio doente e à presença de dispositivos invasivos em 25-50% dos casos. No caso das intervenções para prevenir infeções das vias urinárias associadas a cuidados de saúde deve colocar-se cateteres da bexiga somente

quando absolutamente necessário, utilizar técnica asséptica para a inserção do cateter e instrumentação das vias urinárias, minimizar a manipulação ou a abertura dos sistemas de drenagem e remover cateteres da bexiga com a maior brevidade possível (194). Têm sido feitas várias tentativas para a criação de uma vacina, mas existem várias questões que complicam o seu desenvolvimento como, a falta de compreensão dos mecanismos que induzem imunidade protetora no trato urinário, a heterogeneidade das estirpes de UPEC, a via de administração, a diversidade de pacientes, entre outras (193).

Conclusão

As infecções das vias urinárias são as infecções bacterianas mais frequentes nas mulheres e das infecções mais frequentes na comunidade. A maioria das infecções urinárias são cistites agudas não complicadas. A polaquiúria e a disúria são os principais indicadores de ITU numa mulher imunocompetente de idade fértil. Para a realização do diagnóstico é realizado um exame objetivo e a análise de urina. A primeira linha de tratamento da cistite aguda não complicada é constituída pelos seguintes antibióticos, fosfomicina, nitrofurantoína e amoxicilina/ ácido clavulânico.

A pielonefrite aguda é uma infecção bacteriana frequente das vias urinárias e do rim que se observa mais frequentemente em mulheres adultas jovens e é mais frequente em meio nosocomial. Para a realização do diagnóstico é necessária informação sobre a história clínica do paciente e o exame objetivo. A dor lombar é um sintoma quase universal e a sua ausência deve levar a que se procure uma hipótese diagnóstica alternativa. O diagnóstico é confirmado quando a análise de urina é positiva nos doentes que têm história e exame objetivo compatíveis. Deve fazer-se sempre urocultura para perceber qual a terapêutica mais adequada com antibióticos quando o doente não responde à terapêutica empírica inicial.

A *Escherichia coli* é o agente patogénico mais frequente na pielonefrite aguda e tem aparecido uma taxa crescente de resistências desta bactéria aos antibióticos betalactâmicos de espectro alargado, na maioria dos doentes o tratamento pode ser feito em ambulatório.

Ao longo desta monografia também foram descritos alguns dos mecanismos de resistência a antibióticos existentes. O uso inadequado de antibióticos, bem como o não cumprimento da prescrição ajudam à aquisição de resistências. Se as normas não forem cumpridas, vamos ter um problema que se prende com a resistência a estes antibióticos.

Referências Bibliográficas

1. Lumilabo Saude. Laboratório Lumilabo Saude - Quem somos. Disponível em: <https://lumilabo.pt/elementor-698/>
2. Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo SA. Missão [Internet]. Disponível em: <https://lumilabo.pt/elementor-698/missao/>
3. Regional M do A do O do T e do D. Decreto-Lei n.o 178/2006. Diário da República, 1.a série, n.o 171 5 de setembro de 2006. 2006. p. 5747–65.
4. República D da. portaria-209-2004-de-3-de-marco [Internet]. Disponível em: <https://dre.tretas.org/dre/169640/portaria-209-2004-de-3-de-marco>
5. Luísa Maria Rebelo d'Almeida Espinhaço. Qualidade em análises clínicas hospitalares indicadores da fase analítica. 2014.
6. International Organization for Standardization. Norma EN ISO 9000: 2015 (Sistemas de Gestão da Qualidade. Fundamentos e vocabulário). Inst Port da Qual. 2015;58.
7. Ordem dos Farmacêuticos e Associação Portuguesa de Analistas Clínicos. Normas para o Laboratório. Sist Gestão da Qual para os Laboratórios Clínicos. 2016. (3a Edição):11.
8. República D da. Despacho n.º 10009/2019, de 5 de novembro [Internet]. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/10009-2019-125879568>
9. Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo SA. Manual da Qualidade. 2018. p. 1– 21. [Internet]. Disponível em: <https://lumilabo.pt/elementor-698/controlo-de-qualidade/>
10. Viana DJF. Controlo de Qualidade Interno: Elaboração de um programa de Controlo de Qualidade Interno segundo as boas práticas da Qualidade. :87.
11. Ordem dos Farmacêuticos e Associação Portuguesa de Analistas Clínicos. Normas para o laboratório clínico. Sistema de gestão da qualidade para os laboratórios clínicos. 3ª edição.2016.
12. Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo SA. Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo SA. Processo Pré-analítico. 2018. 2018;
13. Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo SA. Laboratório de Análises Clínicas Lumilabo SA. Manual de Colheitas de Microbiologia. 2007;1–19.

14. Wintrobe's Clinical Hematology, 10th Edition. G. Richard Lee, John Foerster, John Lukens, Frixos Paraskevas, John P. Greer, and George M. Rodgers. Williams and Wilkins, Baltimore MD, 1999, 2763 pp.
15. Simundic AM, Bölenius K, Cadamuro J, Church S, Cornes MP, van Dongen-Lases EC, et al. Joint EFLM-COLABIOCLI recommendation for venous blood sampling. Ann Biol Clin (Paris). abril de 2019;77(2):131–54.
16. Cristino DJM. SERVIÇO DE PATOLOGIA CLÍNICA CENTRO HOSPITALAR LISBOA NORTE. :97.
17. Bilello JA. CLIA Compliance for Pre-Analytic, Analytic, and Post-Analytic Testing Phases [Internet]. 2018. Disponível em: <https://www.labmanager.com/insights/clia-compliance-for-pre-analytic-analytic-and-post-analytic-testing-phases-3323>
18. Vieira KF, Shitara ES, Mendes ME, Sumita NM. A utilidade dos indicadores da qualidade no gerenciamento de laboratórios clínicos. J Bras Patol E Med Lab. junho de 2011;47(3):201–10.
19. Roche Diagnostics. Cobas 6000 analyzer series: Operator's Manual Software Version. 1.1.
20. Diagnostics R. Cobas c 501 module for clinical chemistry [Internet]. Disponível em: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-c-501-ins-338.html>
21. Abbott. Architect i2000 System - Guia de Entrenamiento.
22. Vidas B. Biomerieux Vidas - User manual. 2005;33.
23. Burtis B, Burns T. Tietz Fundamentos de Química Clínica e Diagnóstico Molecular. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2016.
24. Vieira Neto OM, Moysés Neto M. Distúrbios do equilíbrio hidroeletrolítico. Med Ribeirão Preto. 30 de dezembro de 2003;36(2/4):325–37.
25. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. ISE. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
26. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. GLU. Mannheim: Roche Diagnostics. 2019;
27. Direção-Geral da Saúde. Norma n.o 033/2011 (Prescrição e Determinação do Hemoglobina glicada A1c). Direção-Geral da Saúde. 2011.

28. Rad® B. D-10 Hemoglobin A1c Program. 2010;1–34.
29. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. ALBT. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
30. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. CHOL. Mannheim: Roche Diagnostics. 2019;
31. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *The Lancet*. agosto de 2014;384(9943):626–35.
32. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. TRIGL. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
33. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Total Protein. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
34. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. PCR. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
35. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. CEA. Mannheim: Roche Diagnostics. 2021;
36. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. AST. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
37. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. ALT. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
38. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. GGT. Mannheim: Roche Diagnostics. 2020;
39. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. ALP. Mannheim: Roche Diagnostics. 2019;
40. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. BILT. Mannheim: Roche Diagnostics. 2020.
41. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. BILD. Mannheim: Roche Diagnostics. 2020.

42. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. CREA. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
43. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. UREA. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
44. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Uric Acid. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
45. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Amylase. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
46. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Lipase. Mannheim: Roche Diagnostics. 2019;
47. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Iron. Mannheim: Roche Diagnostics. 2018;
48. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. Ferritin.
49. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Transferrin. Mannheim: Roche Diagnostics. 2009;
50. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. CORTISOL. Mannheim: Roche Diagnostics. 2017;
51. BioMérieux. VIDAS®. Estradiol II. 2016.
52. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. Progesterone. 2010.
53. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. FSH. 2009.
54. Laboratories e Park - See REAGENTS section for a full explanation of sym.pdf.
55. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. Total β -hCG. 2010.
56. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Prolactin. Mannheim: Roche Diagnostics.
57. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. TSH. 2010.
58. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. Total T3. 2010.

59. Architect i2000 System. Total T4. [Internet]. 2010. p. 6. Available from: www.abbottdiagnostics.com.
60. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. CA. Mannheim: Roche Diagnostics. 2019;
61. Roche Diagnostics. Cobas 6000® modular analyzer series. Phospore. Mannheim: Roche Diagnostics.
62. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. Syphilis.
63. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. CMVIGM, 2007.
64. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. CMVIGG, 2007.
65. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. ToxoIGG, 2008.
66. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. ToxoIGM, 2008.
67. Abbott Laboratories. Architect i2000 System. RubellaIGM.
68. Echeverry G, Hortin GL, Rai AJ. Introduction to Urinalysis: Historical Perspectives and Clinical Application. Em: Rai AJ, editor. The Urinary Proteome [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2010 [citado 11 de janeiro de 2023]. p. 1–12. (Methods in Molecular Biology; vol. 641). Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-1-60761-711-2_1
69. Callens AJ, Bartges JW. Urinalysis. Vet Clin North Am Small Anim Pract. julho de 2015;45(4):621–37.
70. Diagnostics AM. UC MAX [Internet]. Disponível em: <https://www.menarinidiagnostics.com/en-us/Home/Professional-Diagnostics/Urinalysis/UC-MAX/Features>
71. Simerville JA. Urinalysis: A Comprehensive Review. 2005;71(6).
72. Laboquick. Pregnancy Test in vitro Diagnostic Test.
73. Serviço nacional de saude. Rastreamento do cancro colorretal [Internet]. Disponível em: <https://www.arsnorte.min-saude.pt/rastreios/cancro-do-colon-e-recto/>
74. HM-JACKarc Faecal Immunochemical Testing, Disponível em <https://www.faecal-immunochemical-test.co.uk/products/instrument/>.

75. Weatherspoon D. Hemoglobin Electrophoresis [Internet]. 2012 [cited 2020 Aug 16]. Available from: <https://www.healthline.com/health/hemoglobin-electrophoresis>.
76. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 8th edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 836 p.
77. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST 2023 [Internet]. 2023. Disponível em: https://www.eucast.org/eucast_news/news_singleview?tx_ttnews%5Btt_news%5D=518&cHash=2509b0db92646dffba041406dcc9f20c
78. Bio-Rad®. Urea Indole. 2016;
79. LORNE LABORATORIES LTD., Strep Test Kit: For Identification Of Streptococci, Lancefield's Groups A, B, C, D, F And G, 2020.
80. Wilson ML, Gaido L. Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections in Adult Patients.
81. Ignacio Alós J. Epidemiología y etiología de la infección urinaria comunitaria. Sensibilidad antimicrobiana de los principales patógenos y significado clínico de la resistencia. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. dezembro de 2005; 23:3–8.
82. José Barbas Rodrigues F, Paula Dias Barroso A. Etiologia e sensibilidade bacteriana em infecções do tracto urinário. Rev Port Saúde Pública. julho de 2011;29(2):123–31.
83. MARY LOUISE TURGEON. Turgeon (2018) Clinical Hematology Theory And Practice 6th Ed [Internet]. Disponível em: <https://archive.org/details/Turgeon2018ClinicalHematologyTheoryAndPractice6thEd/page/n1/mode/2up>
84. Naoum PC, Naoum FA. INTERPRETAÇÃO LABORATORIAL DO HEMOGRAMA.
85. Sysmex. Analisador hematológico Sysmex XT-2000iTM [Internet]. [cited 2019 Oct 26]. Available from: <https://www.sysmex.com/LA/pt/Products/Hematology/XTSeries/Pages/XT2000-Hematology-Analyzer.asp>.
86. Sysmex Europe. SLS detection method [Internet]. Disponível em: <https://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/technologies/sls-detection-method.html>

87. Sysmex Europe. Citometria de fluxo com fluorescência [Internet]. Disponível em: <https://www.sysmex.es/es-pt/academia/knowledge-centre/tecnologia/citometria-de-fluxo-com-fluorescencia.html>
88. Sysmex Europe. RET channel [Internet]. Disponível em: <https://www.sysmex.es/es-pt/academia/knowledge-centre/tecnologia/citometria-de-fluxo-com-fluorescencia/ret-channel.html>
89. Canal de análise diferencial de leucócitos (WBC) [Internet]. Disponível em: <https://www.sysmex.es/es-pt/academia/knowledge-centre/tecnologia/citometria-de-fluxo-com-fluorescencia/canal-de-analise-diferencial-de-leucocitos-wbc.html>
90. Direção-Geral da Saúde. Norma n.o 063/2011 (Prescrição e Determinação do Hemograma) [Internet]. Direção-Geral da Saúde. [cited 2020 Aug 10]. Available from: <https://nocs.pt/prescricao-determinacao-hemograma/>.
91. Olshaker JS, Jerrard DA. THE ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE.
92. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, Bernardi D, Stockreiter E. The TEST 1 Automated System: A New Method for Measuring the Erythrocyte Sedimentation Rate. *Am J Clin Pathol.* setembro de 1998;110(3):334–40.
93. Sysmex. Equipamento Alifax test1. [Internet]. [cited 2021 Jul 22]. Available from: https://www.sysmex.com/US/en/ifuguides/alifax_test1_quickguide_1330-cfl_rev3.pdf.
94. Little RR, La'ulu SL, Hanson SE, Rohlfing CL, Schmidt RL. Effects of 49 Different Rare Hb Variants on HbA1c Measurement in Eight Methods. *J Diabetes Sci Technol.* 1 de julho de 2015;9(4):849–56.
95. Deborah Weatherspoon, Ph.D., MSN. Hemoglobin Electrophoresis [Internet]. 2018. Disponível em: <https://www.healthline.com/health/hemoglobin-electrophoresis>
96. Bio-Rad®. Variant Sickle Cell Program. 2005;1–22. Available from: https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/pt/270-0500_08-2005.pdf.
97. Lourenço DM. Avaliação Laboratorial da Hemostasia.
98. biocore diagnocel. STA Compact [Internet]. Disponível em: <https://diagnocel.com.br/diagnostico-in-vitro/sta-compact/>

99. Ariëns RAS. Fibrin(ogen) and thrombotic disease. *J Thromb Haemost.* junho de 2013; 11:294–305.
100. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. New Fundamentals in Hemostasis. *Physiol Rev.* janeiro de 2013;93(1):327–58.
101. Onsten TGH. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. 2012;
102. BioRad Laboratories, Inc. DiaClon ABD-Confirmation for Donors [Internet]. Disponível em: <https://www.bio-rad.com/en-pt/product/diaclon-abd-confirmation-for-donors?ID=LO33532B7>
103. Coombs Test [Internet]. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547707/>
104. Bio-Rad®.coombs anti-Igg - direct and Indirect antiglobulin testing.
105. Johansen TEB, Botto H, Cek M, Grabe M, Tenke P, Wagenlehner FME, et al. Critical review of current definitions of urinary tract infections and proposal of an EAU/ESIU classification system. *Int J Antimicrob Agents.* dezembro de 2011; 38:64–70.
106. Centers of Disease Control and Prevention. Infecções do Trato Urinário Associadas ao Cateter (CAUTI) [Internet]. Disponível em: https://www.cdc.gov/hai/ca_uti/uti.html
107. Piñeiro Pérez R, Cilleruelo Ortega MJ, Ares Álvarez J, Baquero-Artigao F, Silva Rico JC, Velasco Zúñiga R, et al. Recomendaciones sobre el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. *An Pediatría.* junho de 2019;90(6): 400.e1-400.e9.
108. Pereira S. Prevenção das Infecções Urinárias Recorrentes. julho de 2012; disponível em: <https://apurologia.pt/wp-content/uploads/2018/10/prev-infec-urin-recorr.pdf>
109. McLellan LK, Hunstad DA. Urinary Tract Infection: Pathogenesis and Outlook. *Trends Mol Med.* novembro de 2016;22(11):946–57.
110. Centers of Disease Control and Prevention. Infecção do Trato Urinário [Internet]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/uti.html>
111. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM. Infectious Diseases Society of America Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults. *Clin Infect Dis.* 1 de março de 2005;40(5):643–54.

112. Bonkat G, Cai T, Veeratterapillay R, Bruyère F, Bartoletti R, Pilatz A, et al. Management of Urosepsis in 2018. *Eur Urol Focus*. janeiro de 2019;5(1):5–9.
113. Schaeffer AJ. What Do We Know about the Urinary Tract Infection–Prone Individual? *J Infect Dis*. março de 2001;183(s1): S66–9.
114. Chang SL, Shortliffe LD. Pediatric Urinary Tract Infections. *Pediatr Clin North Am*. junho de 2006;53(3):379–400.
115. Tabibian JH, Gornbein J, Heidari A, Dien SL, Lau VH, Chahal P, et al. Uropathogens and Host Characteristics. *J Clin Microbiol*. dezembro de 2008;46(12):3980–6.
116. Fuentes RB, Emeterio JJS. Infección del tracto urinario. :10.
117. Rodríguez JDG, Fernández LMR. INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS EN LA INFANCIA. :18.
118. Hooton TM. Recurrent urinary tract infection in women. *Int J Antimicrob Agents*. 2001;
119. Nosseir SB, Lind LR, Winkler HA. Recurrent Uncomplicated Urinary Tract Infections in Women: A Review. *J Womens Health*. março de 2012;21(3):347–54.
120. Gupta K, Grigoryan L, Trautner B. Urinary Tract Infection. *Ann Intern Med*. 3 de outubro de 2017;167(7): ITC49.
121. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol*. dezembro de 2010;7(12):653–60.
122. Wagenlehner FM, Weidner W, Naber KG. An update on uncomplicated urinary tract infections in women: *Curr Opin Urol*. julho de 2009;19(4):368–74.
123. Nicolle LE. Urinary Tract Infection. *Crit Care Clin*. julho de 2013;29(3):699–715.
124. Nicolle LE. Complicated pyelonephritis: Unresolved issues. *Curr Infect Dis Rep*. novembro de 2007;9(6):501–7.
125. Liu JY, Dickter JK. Nosocomial Infections. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. outubro de 2020;30(4):637–52.
126. Bolyard EA, Tablan OC, Williams WW, Pearson ML, Deitchman SD. Guideline for infection control in health care personnel, 1998. *1998;26(3):66*.

127. Iacovelli V, Gaziev G, Topazio L, Bove P, Vespasiani G, Agrò EF. Nosocomial Urinary Tract Infections: A Review. *Urol J.* outubro de 2014;81(4):222–7.
128. Girard R, Perraud M, Herriot HE, Prüss A, Savey A, Tikhomirov E, et al. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. :71.
129. Khan HA, Baig FK, Mehboob R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac J Trop Biomed.* maio de 2017;7(5):478–82.
130. M. S. Najar, C. L. Saldanha,1,2 and K. A. Banday *IJNephrol.* Approach to urinary tract infections. outubro de 2009; disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2875701/>
131. Associação portuguesa de urologia. Cistite não complicada na mulher. 8 Sep.
132. Damián Turiño-Luque J, de la Rosa Fraile M. Etiología y sensibilidad antimicrobiana en las infecciones urinarias bajas de la embarazada en España. *Prog Obstet Ginecol.* maio de 2006;49(5):238–46.
133. Molina-Cabañero JC. Manejo de la infección urinaria en urgencias. *An Pediatría Contin.* janeiro de 2011;9(1):7–14.
134. Judith R Campbell, MD DLP MD, MEd. Acute infectious cystitis: Management and prognosis in children older than two years and adolescents [Internet]. Disponível em: <https://www.medilib.ir/uptodate/show/93961>
135. Saint S, Scholes D, Fihn SD, Farrell RG, Stamm WE. The Effectiveness of a Clinical Practice Guideline for the Management of Presumed Uncomplicated Urinary Tract Infection in Women. :6.
136. Borghi L, Nouvenne A, Meschi T. Nephrolithiasis and urinary tract infections: «the chicken or the egg» dilemma? *Nephrol Dial Transplant.* 1 de novembro de 2012;27(11):3982–4.
137. John L Bruschi, MD, FACP. Urinary Tract Infection (UTI) and Cystitis (Bladder Infection) in Females Treatment & Management. 2023.
138. John L Bruschi, MD, FACP. Urinary Tract Infection (UTI) in Males [Internet]. 2020. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/231574-overview>

139. Abraham SN, Miao Y. The nature of immune responses to urinary tract infections. *Nat Rev Immunol.* outubro de 2015;15(10):655–63.
140. Guentzel N. Capítulo 26 *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* e *Proteus*. Em: *Microbiologia Médica* 4ª edição [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8035/>
141. Litza JA, Brill JR. Urinary Tract Infections. *Prim Care Clin Off Pract.* setembro de 2010;37(3):491–507.
142. Urological Infections [Internet]. Disponível em: <https://uroweb.org/guidelines/urological-infections/chapter/the-guideline>
143. Hibbing ME, Conover MS, Hultgren SJ. The unexplored relationship between urinary tract infections and the autonomic nervous system. *Auton Neurosci.* outubro de 2016; 200:29–34.
144. Wagenlehner FME, Bjerklund Johansen TE, Cai T, Koves B, Kranz J, Pilatz A, et al. Epidemiology, definition and treatment of complicated urinary tract infections. *Nat Rev Urol.* outubro de 2020;17(10):586–600.
145. Ragnarsdóttir B, Fischer H, Godaly G, Grönberg-Hernandez J, Gustafsson M, Karpman D, et al. TLR- and CXCR1-dependent innate immunity: insights into the genetics of urinary tract infections. *Eur J Clin Invest.* outubro de 2008;38:12–20.
146. Ragnarsdóttir B, Lutay N, Grönberg-Hernandez J, Köves B, Svanborg C. Genetics of innate immunity and UTI susceptibility. *Nat Rev Urol.* agosto de 2011;8(8):449–68.
147. Köves B, Wullt B. The Roles of the Host and the Pathogens in Urinary Tract Infections. *Eur Urol Suppl.* julho de 2016;15(4):88–94.
148. Ambite I, Nagy K, Godaly G, Puthia M, Wullt B, Svanborg C. Susceptibility to Urinary Tract Infection: Benefits and Hazards of the Antibacterial Host Response. Mulvey MA, Stapleton AE, Klumpp DJ, editores. *Microbiol Spectr.* 6 de maio de 2016;4(3):4.3.41.
149. Lane MC, Alteri CJ, Smith SN, Mobley HLT. Expression of flagella is coincident with uropathogenic *Escherichia coli* ascension to the upper urinary tract. *Proc Natl Acad Sci.* 16 de outubro de 2007;104(42):16669–74.

150. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* maio de 2015;13(5):269–84.
151. Medical A. Urine Reagent Strips. Disponível em: <http://www.atlas-medical.com/upload/productFiles/207001/Urine%20Reagent%20Strips%20Package%20Insert.pdf>
152. Bent S, Nallamoorthu BK, Simel DL, Fihn SD, Saint S. Does This Woman Have an Acute Uncomplicated Urinary Tract Infection? *Urin TRACT Infect.* :10.
153. de Toro-Peinado I, Concepción Mediavilla-Gradolph M, Tormo-Palop N, Palop-Borrás B. Diagnóstico microbiológico de las infecciones urinarias. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* julho de 2015; 33:34–9.
154. Management of suspected bacterial lower urinary tract infection in adult women - A national clinical guideline.
155. Khasriya R, Sathiananthamoorthy S, Ismail S, Kelsey M, Wilson M, Rohn JL, et al. Spectrum of Bacterial Colonization Associated with Urothelial Cells from Patients with Chronic Lower Urinary Tract Symptoms. *J Clin Microbiol.* julho de 2013;51(7):2054–62.
156. Obstetrics & Gynecology. ACOG Practice Bulletin No. 91: Treatment of Urinary Tract Infections in Nonpregnant Women. 03/2008.
157. Oyaert M, Van Meensel B, Cartuyvels R, Frans J, Laffut W, Vandecandelaere P, et al. Laboratory diagnosis of urinary tract infections: Towards a BILULU consensus guideline. *J Microbiol Methods.* março de 2018; 146:92–9.
158. Geerlings SE. Urinary tract infections in patients with diabetes mellitus: epidemiology, pathogenesis and treatment. *Int J Antimicrob Agents.* fevereiro de 2008; 31:54–7.
159. Merçon M, Regua-Mangia AH, Teixeira LM, Irino K, Tuboi SH, Goncalves RT, et al. Urinary Tract Infections in Renal Transplant Recipients: Virulence Traits of Uropathogenic *Escherichia coli*. *Transplant Proc.* março de 2010;42(2):483–5.
160. van Nieuwkoop C, Hoppe BPC, Bonten TN, van't Wout JW, Aarts NJM, Mertens BJ, et al. Predicting the Need for Radiologic Imaging in Adults with Febrile Urinary Tract Infection. *Clin Infect Dis.* dezembro de 2010;51(11):1266–72.

161. Robinson JL, Finlay JC, Lang ME, Bortolussi R. Urinary tract infections in infants and children: Diagnosis and management. 2014;19(6):5.
162. Mattos AF. Qualidade microbiana: influência de corantes e pigmento no método de bioluminescência [Internet] [Mestrado em Produção e Controle Farmacêuticos]. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2018 [citado 26 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-08012018-112246/>
163. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. Clin Infect Dis. 1 de março de 2011;52(5): e103–20.
164. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. Infecção urinária não complicada na mulher: diagnóstico. 2009.
165. de Cueto M, Aliaga L, Alós JI, Canut A, Los-Arcos I, Martínez JA, et al. Executive summary of the diagnosis and treatment of urinary tract infection: Guidelines of the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC). Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. maio de 2017;35(5):314–20.
166. Nikolaidis P, Dogra VS, Goldfarb S, Gore JL, Harvin HJ, Heilbrun ME, et al. ACR Appropriateness Criteria® Acute Pyelonephritis. J Am Coll Radiol. novembro de 2018;15(11): S232–9.
167. Mitterberger M, Pinggera GM, Colleselli D, Bartsch G, Strasser H, Steppan I, et al. Acute pyelonephritis: comparison of diagnosis with computed tomography and contrast-enhanced ultrasonography. BJU Int. fevereiro de 2008;101(3):341–4.
168. Grover ML, Bracamonte JD, Kanodia AK, Bryan MJ, Donahue SP, Warner AM, et al. Assessing Adherence to Evidence-Based Guidelines for the Diagnosis and Management of Uncomplicated Urinary Tract Infection. Mayo Clin Proc. fevereiro de 2007;82(2):181–5.
169. Kahan NR, Chinitz DP, Kahan E. Longer than recommended empiric antibiotic treatment of urinary tract infection in women: an avoidable waste of money. J Clin Pharm Ther. fevereiro de 2004;29(1):59–63.
170. Tandogdu Z, Kakariadis ETA, Naber K, Wagenlehner F, Bjerklund Johansen TE. Appropriate empiric antibiotic choices in health care associated urinary tract infections in

- urology departments in Europe from 2006 to 2015: A Bayesian analytical approach applied in a surveillance study. Rosier PFWM, editor. PLOS ONE. 25 de abril de 2019;14(4): e0214710.
171. Chu CM, Lowder JL. Diagnosis and treatment of urinary tract infections across age groups. *Am J Obstet Gynecol.* julho de 2018;219(1):40–51.
172. Gupta K. Short-Course Nitrofurantoin for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis in Women. *Arch Intern Med.* 12 de novembro de 2007;167(20):2207.
173. Schutz D, Watson SC, Hayden G, Weant KA. Outpatient Treatment of Uncomplicated Urinary Tract Infections in the Emergency Department. *Adv Emerg Nurs J.* julho de 2018;40(3):162–70.
174. Kavatha D, Giamarellou H, Alexiou Z, Vlachogiannis N, Pentea S, Gozadinos T, et al. Cefpodoxime-Proxetil versus Trimethoprim-Sulfamethoxazole for Short-Term Therapy of Uncomplicated Acute Cystitis in Women. *Antimicrob Agents Chemother.* março de 2003;47(3):897–900.
175. Drug Safety F. FDA Drug Safety Communication: FDA updates warnings for oral and injectable fluoroquinolone antibiotics due to disabling side effects [Internet]. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-updates-warnings-oral-and-injectable-fluoroquinolone-antibiotics>
176. Singh N, Gandhi S, McArthur E, Moist L, Jain AK, Liu AR, et al. Kidney function and the use of nitrofurantoin to treat urinary tract infections in older women. *Can Med Assoc J.* 16 de junho de 2015;187(9):648–56.
177. Oplinger M, Andrews CO. Nitrofurantoin Contraindication in Patients with a Creatinine Clearance Below 60 mL/min: Looking for the Evidence. *Ann Pharmacother.* janeiro de 2013;47(1):106–11.
178. Glaser AP, Schaeffer AJ. Urinary Tract Infection and Bacteriuria in Pregnancy. *Urol Clin North Am.* novembro de 2015;42(4):547–60.
179. Widmer M, Lopez I, Gülmezoglu AM, Mignini L, Roganti A. Duration of treatment for asymptomatic bacteriuria during pregnancy. Cochrane Pregnancy and Childbirth Group, editor. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 11 de novembro de 2015 [citado 4 de outubro de 2022];2015(11). Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD000491.pub3>

180. Direção-Geral da Saúde. Norma n.o 015/2011 (Terapêutica das inf. do aparelho urinário na comunidade). Direção-Geral da Saúde. 2011.
181. Didi S. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. 2008;
182. Furuya EY, Lowy FD. Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. *Nat Rev Microbiol.* 1 de janeiro de 2006;4(1):36–45.
183. Hegstad K, Mikalsen T, Coque TM, Werner G, Sundsfjord A. Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Clin Microbiol Infect.* junho de 2010;16(6):541–54.
184. Mulvey MR, Simor AE. Antimicrobial resistance in hospitals: How concerned should we be? *Can Med Assoc J.* 17 de fevereiro de 2009;180(4):408–15.
185. Alós JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* dezembro de 2015;33(10):692–9.
186. Brown PD, Freeman A, Foxman B. Prevalence and Predictors of Trimethoprim-Sulfamethoxazole Resistance among Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates in Michigan. *Clin Infect Dis.* 15 de abril de 2002;34(8):1061–6.
187. Metlay JP. Prior antimicrobial drug exposure: a risk factor for trimethoprim-sulfamethoxazole-resistant urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 1 de abril de 2003;51(4):963–70.
188. Paterson DL. Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Med.* junho de 2006;119(6): S20–8.
189. Livermore DM. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. *Korean J Intern Med.* 2012;27(2):128.
190. Bell BG, Schellevis F, Stobberingh E, Goossens H, Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect Dis.* dezembro de 2014;14(1):13.
191. Ann Stapleton, MD, and Walter E. Stamm, MD. Prevention of urinary tract infection. VOLUME 11 * NUMBER 3 SEPTEMBER 1997.

192. Howell AB. Bioactive compounds in cranberries and their role in prevention of urinary tract infections. *Mol Nutr Food Res.* junho de 2007;51(6):732–7.
193. O'brien VP, Hannan TJ, Nielsen HV, Hultgren SJ. Drug and Vaccine Development for the Treatment and Prevention of Urinary Tract Infections. Em: Mulvey MA, Klumpp DJ, Stapleton AE, editores. *Urinary Tract Infections [Internet].* Washington, DC, USA: ASM Press; 2016 [citado 16 de março de 2023]. p. 589–646. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555817404.ch24>
194. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Infecções Associadas a Cuidados de Saúde. *Harrison Manual de Medicina.* [Internet]. 2010. p. 428-32. Disponível em: <https://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookId=3095>