



# Efeito do ácido bórico na contaminação e viabilidade bacteriana de amostras de urina: estudo comparativo de meios de transporte.

Wene Jessica Pereira Mendonça Ramos





ESCOLA  
SUPERIOR  
DE SAÚDE



**Estudo comparativo entre o meio de transporte utilizado para exame microbiológico de urina com novo meio de transporte com ácido bórico.**

**Autor**

Wene Jessica Pereira Mendonça Ramos

**Orientador(es)**

Especialista ACSP/ Maria do Céu Ribeiro Lamas/Professora E2S-IPP, LAQV-REQUIMTE

*Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública – Área de Especialização em Microbiologia e Saúde Pública pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.*



## **Agradecimentos**

Para que este projeto fosse realizado e finalizado com êxito, foi necessário o apoio fundamental de várias pessoas que não podem ser esquecidas e merecem meus sinceros agradecimentos.

Primeiramente, a minha orientadora Prof. Dra Maria do Céu Ribeiro Lamas, que pacientemente me direcionou durante todo essa jornada, com seu amplo conhecimento técnico e didática singular.

À equipa do Laboratório de Microbiologia do CHUSJ, em especial à TSDT Ana Castro, cuja contribuição foi essencial para a concretização deste trabalho.

Ao meu marido, que sempre me apoia incondicionalmente e me incentiva a ser a minha melhor versão a cada dia.

A todos, sem vocês este trabalho não seria possível, meus sinceros agradecimentos!



## Resumo

As infeções do trato urinário (ITU) são das patologias infecciosas mais frequentes entre as Infeções Relacionadas com os Cuidados de Saúde, afetando sobretudo grávidas, idosos, diabéticos e doentes hospitalizados. A urocultura constitui o método de referência para confirmação diagnóstica, sendo essencial um processamento rigoroso para orientar a terapêutica antibiótica e reduzir resistências.

O ácido bórico é utilizado como conservante microbiológico por inibir a replicação bacteriana e manter a concentração inicial de microrganismos, contribuindo para evitar falsos positivos associados ao tempo decorrido entre a colheita e o processamento laboratorial.

Este estudo, desenvolvido no Laboratório de Microbiologia do CHUSJ, teve como objetivo avaliar a eficácia de um novo meio de transporte com ácido bórico na preservação de amostras de urina, comparando-o com o método convencional. Realizou-se um estudo prospetivo caso-controlo com amostras pareadas de urina de 105 utentes das consultas de Obstetrícia, Nefrologia e Urologia, recolhidas entre março e junho de 2025.

Como resultado, observou-se que 21 amostras não apresentaram crescimento sem ácido bórico e em 35 com ácido. Em contrapartida, 83 evidenciaram crescimento nas amostras transportadas em frasco convencional, em comparação a 69 no frasco com conservante. . Em 37 houve redução na variedade de tipos de colónias no frasco convencional e em 5 amostras no frasco com o conservante.

Conclui-se que o uso de tubos com ácido bórico permite melhor preservação das características microbiológicas da urina, garantindo resultados mais fiáveis e diminuindo a necessidade de repetições por contaminação, com benefícios clínicos e laboratoriais significativos.

**Palavras-chave:** Urocultura; Infeção trato urinário; Ácido bórico; Meio transporte urina; Conservação amostras.



## Abstract

Urinary tract infections (UTIs) are among the most common infectious conditions within Healthcare-Associated Infections, affecting mainly pregnant women, older adults, individuals with diabetes, and hospitalised patients. Urine culture remains the reference method for diagnostic confirmation, with rigorous processing being essential to guide antibiotic therapy and reduce resistance.

Boric acid is used as a microbiological preservative as it inhibits bacterial replication and maintains the initial concentration of microorganisms, thereby helping to avoid false positives related to the time elapsed between sample collection and laboratory processing.

This study, carried out at the Microbiology Laboratory of CHUSJ, aimed to evaluate the efficacy of a new transport medium containing boric acid in preserving urine samples, compared with the conventional method. A prospective case-control study was conducted with paired urine samples from 105 patients attending Obstetrics, Nephrology and Urology consultations between March and June 2025.

As a result, it was observed that 21 samples showed no growth without boric acid and 35 with boric acid. In contrast, 83 samples showed growth in the samples transported in a conventional bottle, compared to 69 in the bottle with preservative. In 37 samples, there was a reduction in the variety of colony types in the conventional bottle and in 5 samples in the bottle with preservative.

In conclusion, the use of boric acid transport tubes allows better preservation of the microbiological characteristics of urine, ensuring more reliable results and reducing the need for repeat collections due to contamination, with significant clinical and laboratory benefits.

**Keywords:** Urine culture; Urinary tract infections; Boric acid; Urine transport medium; Sample preservation



## Índice

Capítulo I: Estágio .....	1
1. Caracterização do Local de Estágio .....	1
1.1. Objetivos do Estágio.....	1
2. Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Microbiologia Clínica.....	1
2.1. Admissão de amostras biológicas.....	2
2.2. Realização do Exame Direto: Técnicas de coloração .....	2
2.3. Exame Cultural.....	3
2.3.1. Meios de Cultura .....	3
2.3.2. Técnicas de sementeiras.....	3
2.4. Processamento de Produtos Biológicos .....	4
2.4.1. Urinas.....	4
2.4.2. Fezes .....	4
2.4.3. Hemoculturas.....	7
2.4.4. Zaragatoas .....	8
2.4.5. Secreções brônquicas .....	8
2.4.6. Líquido Cefalorraquidiano.....	9
2.4.7. Líquidos biológicos .....	9
2.4.8. Cateter.....	10
2.4.9. Outros Produtos.....	10
2.4.9.1. Fragmento de tecido.....	10
2.4.9.2. Pus.....	10
2.4.9.3. Leite materno.....	10
2.4.9.4. Placenta e líquido amniótico:.....	11
2.4.9.5. Microrganismos anaeróbios .....	12
3. Área 2: Identificação microbiana e testes de suscetibilidade .....	12
3.1. Culturas.....	12
3.1.1. Culturas de urina: critérios de avaliação.....	12
3.1.2. Culturas Micológicas .....	13
3.1.3. Culturas de rastreios .....	13
3.1.4. Subculturas .....	14



3.2.	Identificação microbiana.....	14
3.2.1.	Vitek® MS PRIME.....	15
3.2.2.	Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA).....	15
3.2.3.	Vitek®2.....	15
3.2.4.	TSA manual.....	16
3.2.5.	Método Kirby Bauer.....	16
3.2.6.	Método E-Test.....	17
3.2.7.	Prova se sensibilidade à Colistina.....	17
3.2.8.	Testes complementares.....	18
4.	Área 3: Micobactérias.....	19
4.1.	Tipos de amostras.....	19
4.2.	Descontaminação e concentração.....	19
4.3.	Inoculação em meios de cultura.....	20
4.4.	Preparação de lâminas para exame direto.....	20
5.	Controlo de Qualidade.....	21
6.	Biossegurança.....	21
Capítulo II – Estudo de Caso: Estudo comparativo entre o meio de transporte utilizado para exame microbiológico de urina com novo meio de transporte com ácido bórico.....		23
1.	Introdução.....	23
1.1.	Diagnóstico de ITU.....	23
1.2.	Desafios e implicações da contaminação na precisão diagnóstica de ITU.....	24
2.	Objetivo.....	24
3.	Métodos.....	25
3.1.	Tipo de estudo.....	25
3.2.	População e Amostra.....	25
3.3.	Procedimentos.....	25
3.3.1.	Procedimento de colheita e transporte.....	25
3.3.2.	Processamento laboratorial.....	26
3.3.3.	Variáveis analisadas.....	26
3.4.	Ética.....	27
3.5.	Tratamento estatístico.....	27



4.	Resultados .....	27
5.	Discussão.....	32
6.	Conclusão.....	35
	<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>36</b>



## Lista de Abreviaturas

BCYE – Legionella Selective médium  
BHI – Caldo Brain Heart Infusion  
CAM – Gelose Campyloset  
CARB/OXA – Gelose Chromid Carba Smart  
GC – Gelose de chocolate  
GN – Gram Negativo  
GP – Gram Positivo  
GS – Gelose de Sangue  
GVPC – Legionella Selective médium  
IRAS – Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde  
ITU – Infecções do Trato Urinário  
LM – Laboratório de Microbiologia  
LWJ – Meio Löwestein-Jensen  
MHE – Gelose Mueller Hinton E  
MFH – Gelose Mueller Hinton + 5% de sangue de cavalo + NAD  
MSA – Manitol Salt Agar  
MRSA – Staphylococcus aureus resistente à metilina  
MGIT – Mycobateria Growth Indicator Tube  
MCK – Gelose Mac Conkey  
ULSSJ – Unidade Local de Saúde S. João  
SB – Gelose Sabouraud Gentamicina Cloranphenicol 2  
SCS – Agar Schaedler  
SNSV – Agar Schaedler + vancomicina  
SS – Gelose Salmonella e Shigella  
YER – Gelose Yersinia



## Índice de Figuras

Figura 1 – Bactérias Gram-Positiva e Gram-Negativa -----	02
Figura 2 – Tipos de sementeira-----	03
Figura 3 – Kit comercial Combi-Strip-----	06
Figura 4 – Equipamento BD BACTEC™ FX -----	07
Figura 5 – Frascos de Hemocultura -----	07
Figura 6 – Equipamento Vitek® MS PRIME-----	15
Figura 7 – Equipamento Vitek®2-----	16
Figura 8 – Cards e Rack para Vitek®2-----	16
Figura 9: Distribuição da idade por sexo -----	27
Figura 10 – Evolução temporal do crescimento bacteriano -----	28
Figura 11– Evolução das categorias médias de UFC ao longo do tempo -----	29
Figura 12 – Boxplots comparativos de UFC por condição e tempo -----	29

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Resumo dos principais produtos biológicos analisados no LM e processamento laboratorial associado-----	11
Tabela 2 – Interpretação das culturas de urina-----	13
Tabela 3 – Subculturas a partir de meios líquidos-----	14
Tabela 4 –Comparação dos métodos de TSA-----	18
Tabela 5 – Testes Complementares em Microbiologia -----	18
Tabela 6– Distribuição dos utentes por serviço, sexo e faixa etária-----	28
Tabela 7 – Resultados do teste de Wilcoxon (pares sem vs. com ácido bórico) -----	30
Tabela 8 – Resultados do teste de McNemar -----	30
Tabela 9 – Resultados do modelo de regressão ordinal -----	31
Tabela 10 – Resultados do questionário de aceitação do novo meio de transporte com ácido bórico -	31



## Capítulo I: Estágio

### 1. Caracterização do Local de Estágio

O estágio curricular inserido no 2º ano do Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública (ACSP) da Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto tem por objetivo consolidar conhecimentos teórico-práticos adquiridos no primeiro ano do mestrado e, conseqüentemente, o desenvolvimento de competências em várias metodologias analíticas.

O Estágio foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica da CHUSJ, no Porto, no período de outubro a julho de 2025, no total de 450 horas.

O Centro Hospitalar Universitário de São João configura-se como um dos principais hospitais do norte de Portugal, atuando como centro polivalente de referência para o distrito do Porto. O Serviço de Patologia Clínica atua na área de Patologia Clínica e tem como objetivo contribuir para a prestação de cuidados na área da saúde diferenciados, sendo constituído pelo Laboratório Central, Laboratório de Bioquímica, Laboratório de Biopatologia, Laboratório de Hematologia, Laboratório de Imunologia e Laboratório de Microbiologia.

O Laboratório de Microbiologia faz parte do serviço de Patologia Clínica do CHUSJ e está dividido em três grandes áreas: entrada e processamento das amostras; identificação microbiana e testes de suscetibilidade a antimicrobianos e, em uma sala separada, a área onde é realizada a pesquisa de Micobactérias.

#### 1.1. Objetivos do Estágio

Este Estágio teve como principal objetivo aprofundar conhecimentos e competências na área da Microbiologia Clínica, e adquirir competências interpessoais através do acompanhamento da rotina laboratorial de microbiologia, desde a receção das amostras e seu processamento, realização de exames microbiológicos de diversos produtos biológicos, interpretação e valorização das culturas conforme o produto e clínica do utente, realização de testes de identificação e de suscetibilidade aos antimicrobianos.

### 2. Atividades Desenvolvidas no Laboratório de Microbiologia Clínica

O Laboratório de Microbiologia Clínica desempenha um papel fundamental no diagnóstico e monitorização de doenças infecciosas. A seguir, são descritas as principais atividades realizadas no laboratório.



## 2.1. Admissão de amostras biológicas

As amostras são rececionadas no setor de entrada e processamento de amostras do Laboratório de Microbiologia pelo técnico de cada serviço. Seguidamente, são registadas no sistema informático Clinidata por meio da leitura do código de barras, para a impressão das etiquetas próprias ao serviço, podendo estas serem alteradas conforme necessário. As etiquetas são coladas nos meios de cultura correspondentes e acompanhadas do produto biológico respetivo.

Os meios de culturas etiquetados e produtos biológicos correspondentes seguem para a realização de esfregaços para coloração pela técnica de Gram, exame parasitológico, virológico e pesquisa de toxinas nas fezes.

## 2.2. Realização do Exame Direto: Técnicas de coloração

Foram realizados esfregaços de vários produtos biológicos e posterior coloração pelo método de Gram. Consiste numa técnica auxiliar destinada à visualização direta em microscópio ótico da amostra biológica disposta em camada não espessa na lâmina que é deixada para secar, para que após ser corada pela coloração de Gram possa ser facilmente visualizada pelo médico. (1)

Por esta técnica, as bactérias são divididas em dois grupos: Gram positivo e Gram negativo, tendo por base a composição da parede celular, conforme a Figura 1. As bactérias do tipo Gram positivo contém uma camada espessa de peptidoglicano e ácidos teicoicos que retém o corante cristal violeta, enquanto que as bactérias Gram negativo possuem quantidade inferior de peptidoglicano e maior quantidade de lípidos, possibilitando que o álcool-acetona remova os lipídeos e conseqüentemente o cristal violeta. (2)

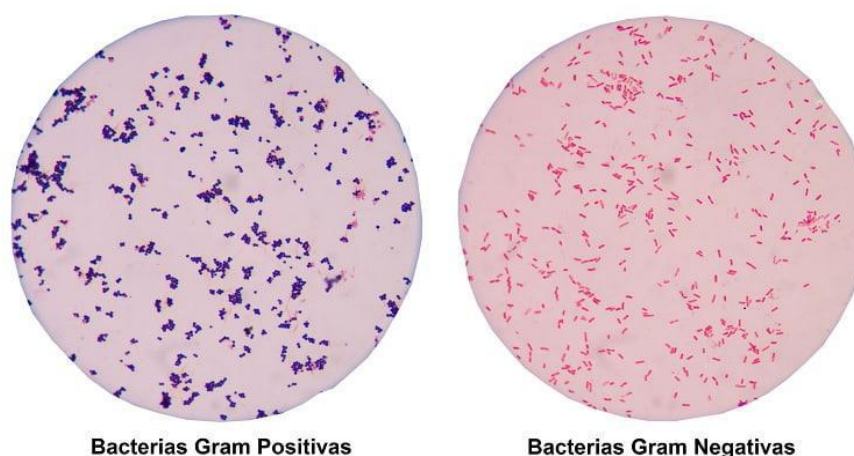


Figura 1 – Bactérias Gram positivo e Gram negativo (3)



Neste processo, são utilizados quatro reagentes sequencialmente: corante básico violeta cristal, Lugol (solução de iodo) que atua como um mordente, solução álcool-acetona que funciona como descorante e, por fim, o corante Safranina que funciona como corante de contraste. (4)

Neste Laboratório a coloração de Gram está automatizada e é realizada no equipamento Previ® Color Gram com capacidade até 30 lâminas em simultâneo. A manutenção do equipamento é realizada diariamente, onde os níveis dos reagentes são verificados, e é efetuada uma limpeza com álcool 70%. (5)

### 2.3.Exame Cultural

A finalidade do exame cultural em microbiologia consiste em isolar e identificar microrganismos presentes em produtos biológicos, como sangue, urina, secreções, fezes entre outros produtos.

Para o efeito, procede-se à sementeira dos produtos nos meios de cultura adequados, proporcionando assim ambientes/nutrientes apropriados às necessidades nutricionais para o seu crescimento. (6)

#### 2.3.1. Meios de Cultura

Os meios de cultura mais utilizados no LM podem ser classificados quanto ao seu estado físico (líquido, semi-sólido ou sólido) e aos nutrientes contidos nos mesmos (seletivo, diferencial, enriquecimento). Os diferentes tipos de meios e sua aplicabilidade estão melhor descritos no Anexo 1.

#### 2.3.2. Técnicas de sementeiras

As técnicas de sementeira utilizadas variam consoante a finalidade e tipo de amostra a ser analisada, sendo as mais usadas no LM as sementeiras quantitativas, por esgotamento, por rolamento e em toalha, conforme expresso na Figura 2. (7) As descrições de cada técnica podem ser melhor visualizadas no anexo 2.

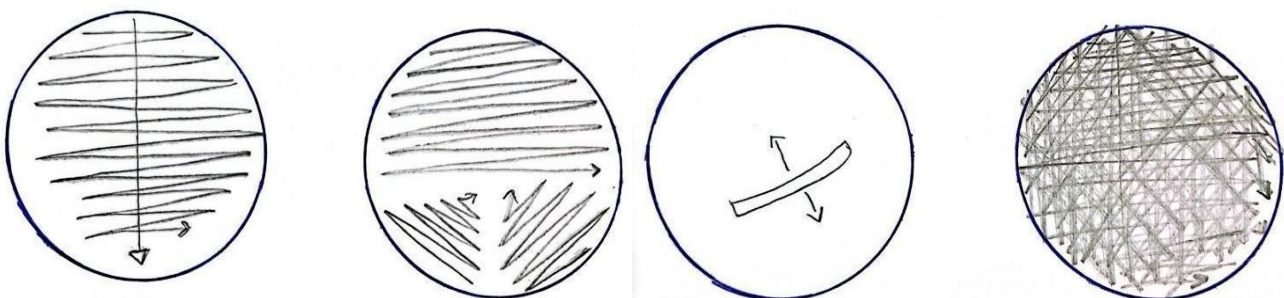


Figura 2 - Tipos de sementeira, da esquerda para a direita: quantitativa, por esgotamento, por rolamento e em toalha.



## 2.4. Processamento de Produtos Biológicos

Os produtos biológicos recebidos no LM são verificados ainda na triagem se estão em conformidade com o pedido médico, assim como se foi colhido de forma apropriada e quantidade suficiente, uma vez que o procedimento é padronizado conforme o produto em questão.

A inoculação padrão vai do meio menos seletivo para o mais seletivo, e por último o esfregaço do exame cultural quando se utilizar a mesma ansa, já que as lâminas não são estéreis.

### 2.4.1. Urinas

As infeções bacterianas mais frequentemente diagnosticadas são as infeções do trato urinário (ITU). O diagnóstico é realizado através da cultura da urina colhida após assepsia e retenção urinária por jato médio. As bactérias mais comumente associadas às ITU incluem a *Escherichia Coli*, *Saphylococcus spp*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus spp* e *Pseudomonas aeruginosa*. (6)

Embora a colheita da urina por micção seja a mais comum, em doentes acamados ou impossibilitados de alguma forma, a urina pode ser obtida por algaliação, ureostomia, nefrostomia e punção vesical ou suprapúbica.

A sementeira adequada para este produto é, geralmente, quantitativa, utilizando ansa calibrada de 1µL em agar CLED, podendo também ser realizada em agar GS com ansa de 10µL, por esgotamento. Caso exista suspeita clínica de infeção fúngica, acrescenta-se o meio SB semeado segundo os mesmos critérios do agar CLED. (7)

Todos os meios de cultura inoculados com urina são incubados em estufa para posterior avaliação do crescimento microbiano. O meio de cultura CLED é incubado em estufa com atmosfera de oxigénio (O<sub>2</sub>) a 35°C±2 °C, enquanto que o meio de cultura GS é incubado em estufa a 35 °C±2 °C com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Já o meio SB é incubado a 25°C±2 °C.

### 2.4.2. Fezes

As amostras de fezes são amplamente utilizadas no diagnóstico de infeções do trato gastrointestinal, geralmente causadas por *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Escherichia Coli*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium difficile*. Contudo, devido à elevada diversidade microbiana



presente neste tipo de amostras, a utilização de meios de cultura seletivos é fundamental para isolar o agente etiológico. (6)

As amostras chegam ao LM a em meio de transporte Cary-Blair modificado, que proporciona melhor tamponamento e conservação das espécies entéricas. Este meio inibe o crescimento exacerbado de *Enterobacteriaceae* e permite a preservação de agentes patogénicos como *Shigella spp.* e *Salmonella spp.* e *Vibrio spp.*, favorecendo a estabilidade microbiológica durante o transporte.

O procedimento de sementeira inicia-se com a homogeneização do produto contido no meio de transporte ETM. Seguidamente, são dispersas 2 a 3 gotas da amostra com o auxílio de uma pipeta Pasteur estéril e realiza-se a sementeira por esgotamento com a ansa de 10µL nos meios MKC e SS, que são incubados em estufa a 35 °C±2 °C. Quando semeado o meio CAM (para isolamento de *Campylobacter spp.*), a incubação deve ocorrer em atmosfera microaerofílica, em jarra, na estufa a 35 °C±2 °C. Os restantes meios seletivos são incubados em estufa com atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>. Quando é solicitada a pesquisa de *Yersinia spp.*, são semeados dois meios YER, sendo um incubado à 37°C (a 35°C±2 °C) e o outro à temperatura ambiente. No caso de estudo micológico, se solicitado, é semeado em SB com ansa de 10µL, por esgotamento, seguida de incubação a 25°C±2 °C.

#### a) Pesquisa de toxinas

Quando é solicitada a pesquisa de *Clostridium spp.*, o procedimento tem início no LM, onde se prepara num tubo tipo Eppendorf, a mistura de 2mL do reagente VIDAS® CDAB à qual se adiciona com o auxílio de uma ansa, uma pequena quantidade da amostra fecal. Após a homogeneização, a amostra é encaminhada para o Laboratório de Imunologia para análise.

#### b) Pesquisa de adenovírus e Rotavírus

A pesquisa de *Adenovirus* é realizada quando há suspeita de enterite viral em crianças com idade inferior a 2 anos. Já a pesquisa de *Rotavirus* é indicada em casos de suspeita de gastroenterite viral em crianças até 5 anos de idade. O exame consiste num teste imunocromatográfico. O kit comercial utilizado no LM é o Combi-Strip®, que permite a deteção de antígenos virais na amostra de fezes.

Para realizar o teste adicionou-se 14 gotas da solução tampão a um tubo previamente identificado. Com o auxílio de uma ansa calibrada de 10µL adiciona-se uma pequena porção da amostra fecal ao tubo. A mistura é homogeneizada e a tira-reagente é emergida na solução, durante 10 minutos. A leitura do



resultado baseia-se na presença/ausência de linhas de reação que indicam a positividade para cada um dos vírus testados, conforme pode ser observado na figura 3. (8)

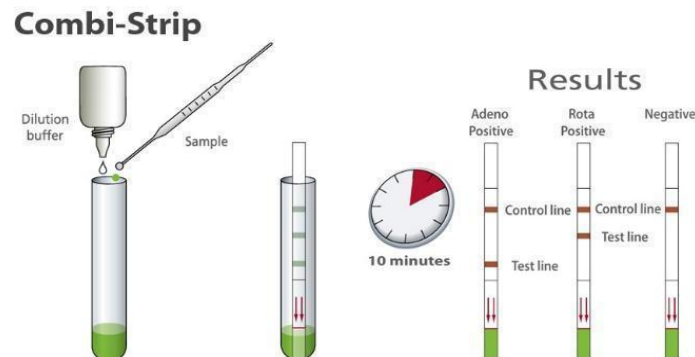


Figura 3 - Procedimento do kit Combi-Strip (8)

#### a) Exame Parasitológico

Com as amostras que deram entrada no setor no dia anterior e com auxílio da respetiva folha de trabalho, no início de cada manhã procedeu-se à realização do exame parasitológico através do método de concentração por sedimentação.

Inicialmente, num tubo identificado é adicionado 10mL de formol a 10% ao qual se junta uma pequena quantidade de amostra fecal com auxílio de uma ansa estéril. A mistura é homogeneizada e deixada em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. Após esse período, a suspensão é filtrada com gaze, utilizando um funil e transferida para outro tubo. Em seguida, adicionou-se NaCl até perfazer um volume total de 15mL e a amostra é centrifugada a 500 rpm por 10 minutos. Depois, o sobrenadante é cuidadosamente decantado, deixando aproximadamente 2 mL de sedimento.

Este processo é repetido - com nova adição de NaCl e centrifugação - até que o sobrenadante obtido se apresente translúcido. Para finalizar, acrescenta-se 4mL de éter etílico à suspensão, que é novamente centrifugada e, por fim, procede-se à decantação do sobrenadante contendo o éter.

Concluído o processo de concentração, realiza-se o esfregaço do sedimento para pesquisa de *Cryptosporidium spp.*, utilizando a coloração de kinyoun modificada para posterior visualização microscópica pelo médico.

### 2.4.3. Hemoculturas

As hemoculturas são solicitadas pelo médico quando há suspeita de bacteremia ou septicemia (6). Após serem colhidas são colocadas no equipamento BD BACTEC FX (Figura 4), localizado no Laboratório Central situado em outro piso. Os equipamentos são verificados a cada hora e as garrafas de hemocultura positivas são imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia, tendo prioridade no processamento de sementeira.

O processo decorre inicialmente com o uso dos frascos de hemocultura conforme a figura 5, onde os principais frascos utilizados correspondem ao da garrafa com a etiqueta azul que é usada para pesquisa de bactérias aeróbias e a da etiqueta roxa para anaeróbios. Estas são incubadas no BD BACTEC™ FX que, através da deteção de fluorescência, determina se a amostra é positiva ou não. As amostras positivas são levadas imediatamente ao LM para identificação. O primeiro passo consiste em desinfetar a tampa e agitar a garrafa, a seguir insere-se a agulha de transferência e pinga-se duas gotas no meio GS para realizar a sementeira e uma gota na lâmina para o esfregaço. A placa segue para incubação a 35 °C±2 por 24h.



Figura 4- Equipamento BD BACTEC™ FX



Figura 5- Frascos de Hemocultura



#### 2.4.4. Zaragatoas

As zaragatoas recebidas no LM são provenientes predominantemente de exsudado nasal, vaginal, retal, endocervical e purulento. O processamento inicia-se pelo rolamento da zaragatoa no meio apropriado, seguido da sementeira por esgotamento. Para o efeito, cada tipo de amostra requer meios de cultura específicos, de acordo com o agente microbiano suspeito, garantindo a correta identificação e isolamento do agente:

- a) Exsudado nasal: utilizado para pesquisa de *Staphylococcus aureus* metilino-resistente, semeado nos meios GS e MSA.
- b) Exsudado vaginal: destinado à pesquisa de Streptococcus do grupo B (*S. agalactiae*), semeado no meio Granada.
- c) Exsudado retal: semeado nos meios CARB/OXA e MacConkey, indicado para pacientes com resultado positivo para *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase.
- d) Exsudado endocervical: semeado nos meios GS e GC, acompanhado da preparação de lâmina para exame microscópico.
- e) Exsudado purulento: semeado nos meios GS, MacConkey e MAS.

#### 2.4.5. Secreções brônquicas

O exame de secreções brônquicas é solicitado quando há suspeita de infeção do trato respiratório, causada principalmente por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus Influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, e outras bactérias Gram negativo não fermentadoras.

A colheita deve ser feita, preferencialmente de escarro sem saliva. Contudo, quando a secreção não é homogênea, deve-se selecionar a porção com maior quantidade de secreção e presença de sangue. A sementeira é realizada por esgotamento nos meios de cultura GS, GC e MacConkey, com ansa de 10µL, acrescido de um esfregaço para ser corada pelo método de Gram. Quando solicitado, semeia-se também em MSA (fibrose quística), SB (pesquisa micológica), BCYE e GVPC (*Legionella spp*). As placas semeadas são incubadas em estufa com atmosfera capnofílica a 35 °C±2 °C com exceção do meio SB, que deve ser a 25 °C±2 °C.

No caso dos Lavados brônquicos e alveolares, os meios de cultura utilizados, os microrganismos alvo e as indicações clínicas são os mesmos das secreções brônquicas. A diferença consiste no método de sementeira que, neste caso, é quantitativo.



#### 2.4.6. Líquido Cefalorraquidiano

O Líquido Cefalorraquidiano (LCR) é um fluído estéril do sistema nervoso central, de elevada relevância clínica no diagnóstico de meningite, principalmente causada por *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae* (6). O protocolo laboratorial requer um volume mínimo de 5mL de LCR, o qual deve ser centrifugado a 2500 rpm durante 15 minutos, com o objetivo de obter um concentrado de aproximadamente 3 mL para aumentar a sensibilidade da análise.

Para o exame cultural, são utilizados o caldo BHI e os meios sólidos GS e GC, nos quais a sementeira é realizada por esgotamento com ansa de 10 $\mu$ L. Através de uma pipeta de Pasteur estéril, inoculam-se em média 2 gotas do concentrado em cada placa e deposita-se uma gota numa lâmina, que não deve ser espalhada, destinada à coloração de Gram. Após a sementeira, as placas devem ser incubadas com a tampa voltada para cima, para permitir a secagem adequada do inóculo. Os meios sólidos seguem as condições de incubação específicas do protocolo implementado (Anexo 1), enquanto o BHI é incubado em estufa a 35  $^{\circ}$ C $\pm$ 2  $^{\circ}$ C em atmosfera enriquecida em oxigénio.

#### 2.4.7. Líquidos biológicos

Os líquidos biológicos mais frequentemente recebidos no LM incluem o líquido pleural, líquido ascítico e líquido pericárdico. Ocasionalmente, é também recebido líquido articular.

Entre os microrganismos patogénicos mais frequentemente isolados nestas amostras destacam-se *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* (líquido pleural e ascítico), bem como *Staphylococcus aureus* (líquido pericárdico).

O processamento laboratorial segue protocolo semelhante ao utilizado para o LCR, iniciando-se com a centrifugação da amostra, de forma a obter um concentrado de aproximadamente 3mL. O meio líquido utilizado é o Tioglicolato (inoculação de aprox. 1mL), enquanto os meios sólidos são GS e MacConkey, cuja sementeira é realizada por esgotamento com ansa de 10 $\mu$ L. No caso específico do líquido articular, a sementeira deve ser realizada em meio GC, também por esgotamento com ansa de 10  $\mu$ L.

Após a sementeira, as placas devem permanecer com a tampa voltada para cima, permitindo a secagem adequada do inóculo. Por fim, prepara-se um esfregaço para coloração de Gram.



#### 2.4.8. Cateter

Quando há suspeita de infeção relacionada com cateter, é enviada ao LM a ponta do dispositivo para diagnóstico. Quando o tamanho deste é superior ao diâmetro da placa, deve ser cortado em placa de petri estéril com o auxílio de um bisturi e uma ansa para dar suporte ao corte.

A sementeira (Anexo 2) é realizada por rolamento no meio GS, sendo posteriormente incubada em estufa a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , em atmosfera enriquecida em oxigénio.

#### 2.4.9. Outros Produtos

##### 2.4.9.1. Fragmento de tecido

Os fragmentos de tecido, materiais de biópsia ou válvulas cardíacas (p.ex. válvula mitral) devem ser transferidos para o meio líquido Tioglicolato, quando o tamanho assim o permitir. Caso contrário, o tioglicolato deve ser vertido diretamente no frasco de origem até cobrir completamente o fragmento.

Para exame micológico, procede-se adicionalmente à sementeira em caldo BHI. Após a inoculação, as amostras são incubadas em estufa a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  em atmosfera com oxigénio.

##### 2.4.9.2. Pus

Este produto é inoculado no meio líquido tioglicolato, e semeado nos meios GS e MSA por esgotamento com uma ansa de 10  $\mu\text{L}$ . Em seguida, prepara-se um esfregaço para coloração de Gram.

##### 2.4.9.3. Leite materno

O leite materno proveniente do banco de leite pode ser recebido em duas condições: antes da pasteurização e após a pasteurização. O principal objetivo desta análise é a deteção de microrganismos patogénicos ou contaminantes que possam comprometer a segurança alimentar e clínica do leite humano doado. No caso do leite pré-pasteurizado, procede-se à sementeira quantitativa nos meios GC, MSA e MCK com ansa de 1  $\mu\text{L}$ . No leite pós-pasteurizado, a metodologia difere na adição de 100  $\mu\text{L}$  do leite em cada meio de cultura com o auxílio de uma pipeta estéril.



#### 2.4.9.4. Placenta e líquido amniótico:

As amostras de placenta e de líquido amniótico são analisadas com o intuito de identificar potenciais agentes infecciosos associados a infeções congénitas e complicações obstétricas. Estas amostra devem ser divididas para que sejam semeados nos diferentes meios: caldo BHI (Incubado a 4 °C), caldo tioglicolato, e 2 placas GS. Esta últimas, são incubadas em diferentes temperatura: uma a 4 °C e outra a 37 °C. A sementeira é efetuada por esgotamento com ansa de 10µL.

Considerando a diversidade de produtos biológicos recebidos neste laboratório, optou-se por apresentar uma visão sistematizada e comparativa dos principais protocolos laboratoriais, associados às diferentes amostras (Tabela 1). Cada tipo de amostra apresenta particularidades quanto aos microrganismos patogénicos mais frequentemente implicados, meios de cultura indicados, métodos de sementeira e condições de incubação necessárias para maximizar a recuperação bacteriana.

Tabela 1: Resumo dos principais produtos biológicos analisados no LM e processamento laboratorial associado

Produto biológico	Microrganismos mais frequentes	Meios de cultura	Método de sementeira	Condições de incubação
Hemocultura	Bactérias patogénicas sistémicas ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> )	Meio GS	Esgotamento com ansa de 10 µL	Estufa a 35 °C ± 2 °C em atmosfera enriquecida em CO <sub>2</sub>
Zaragatoas (nasal, vaginal, retal, endocervical, purulenta)	<i>S. aureus</i> MRSA, <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>K. pneumoniae</i> KPC, <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , microrganismos diversos	GS, MSA, Granada, CARB/OXA, MacConkey, GC, MAS	Rolamento + esgotamento	35 °C ± 2 °C, condições específicas por meio
Secreções brônquicas	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , Gram negativo não fermentadores	GS, GC, MacConkey ± MSA, SB, BCYE, GVPC	Esgotamento com ansa de 10 µL	Capnofílica, 35 °C ± 2 °C; SB a 25 °C ± 2 °C
Lavado brônquico/alveolar	Idênticos às secreções brônquicas	GS, GC, MacConkey ± meios adicionais	Quantitativo com ansa de 10 µL	Idêntico às secreções brônquicas
Líquido cefalorraquidiano (LCR)	<i>N. meningitidis</i> , <i>S. pneumoniae</i>	BHI, GS, GC	Esgotamento com ansa de 10 µL; inoculação com pipeta Pasteur	BHI em estufa com oxigénio a 35 °C ± 2 °C; meios sólidos segundo protocolo
Líquidos biológicos (pleural, ascítico, pericárdico, articular)	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i>	Tioglicolato, GS, MacConkey, GC (líquido articular)	Esgotamento com ansa de 10 µL; -1 mL no Tioglicolato	35 °C ± 2 °C em atmosfera com oxigénio
Leite materno (pré-pasteurizado)	Microrganismos patogénicos e contaminantes	GC, MSA, MacConkey	Quantitativo com ansa de 1 µL	35 °C ± 2 °C



<b>Leite materno (pós-pasteurizado)</b>	Idênticos ao pré-pasteurizado	GC, MSA, MacConkey	Inoculação de 100 µL com pipeta estéril	35 °C ± 2 °C
<b>Placenta e líquido amniótico</b>	Agentes infecciosos congênitos	BHI, Tioglicolato, GS	Esgotamento com ansa de 10 µL	BHI e GS incubados a 4 °C; GS também a 37 °C; Tioglicolato a 35 °C ± 2 °C
<b>Cateter (ponta)</b>	Microrganismos associados a infecções relacionadas com cateter	GS	Rolamento da ponta	35 °C ± 2 °C em atmosfera com oxigênio
<b>Fragmentos de tecido / biópsia / válvula cardíaca</b>	Microrganismos associados a infecções teciduais	Tioglicolato ± BHI (micologia)	Fragmento diretamente em Tioglicolato ou vertido no frasco de origem	35 °C ± 2 °C em atmosfera com oxigênio
<b>Pus</b>	Bactérias piógenas ( <i>S. aureus</i> , <i>estreptococos beta-hemolíticos</i> )	Tioglicolato, GS, MSA	Esgotamento com ansa de 10 µL + esfregaço para Gram	35 °C ± 2 °C

#### 2.4.9.5. Microrganismos anaeróbios

As amostras são recebidas em meio de transporte apropriado (Port-F, Becton Dickinson) ou em seringas que não contenham bolhas, para que não interfira no resultado esperado. As amostras são semeadas nos meios sólidos SCS e SNVS e no caldo Schaedler + vit. K3 e é realizado ainda um esfregaço a ser corado pela técnica de Gram. Caso seja detetado a presença de bolhas na amostra, semeia-se apenas no caldo Schaedler + vit. K3. Os meios semeados vão para a jarra de anaerobiose, que contém um indicador de anaerobiose e lá permanecem por 3 dias. No fim do período indicado as amostras são avaliadas tendo em consideração a coloração apresentada pelo indicador de anaerobiose. Se este estiver branco então as condições de anaerobiose foram mantidas dentro da jarra. Se estiver azul, o processo deve ser repetido, uma vez que é indicativo de presença de oxigênio.

### 3. Área 2: Identificação microbiana e testes de suscetibilidade

Nesta área são realizados os testes de identificação microbiana e a determinação da suscetibilidade aos antimicrobianos por meio de métodos manuais e automatizados. Em sequência a incubação, é realizada a avaliação das placas pela equipe médica, onde nos casos em que há crescimento bacteriano pode ser solicitado diretamente a identificação bacteriana no MALDI TOF ou uma repicagem.

#### 3.1. Culturas

##### 3.1.1. Culturas de urina: critérios de avaliação

As culturas de urina são avaliadas diariamente quanto ao crescimento bacteriano, considerando o tempo de incubação, a presença de crescimento pela manhã conforme Tabela 2.



Tabela 2 – Interpretação das culturas de urina

Tempo de incubação	Crescimento	Decisão
24 horas	Sem crescimento	Manter incubação por mais 24 h
	Cultura mista	Manter incubação por mais 24 h
	< 10 <sup>4</sup> UFC/mL	Manter incubação por mais 24 h
	>10 <sup>5</sup> UFC/mL	Identificação e TSA
48 horas	Sem crescimento	Resultado negativo
	Cultura mista	Encaminhar para avaliação médica
	< 10 <sup>4</sup> UFC/mL	Encaminhar para avaliação médica
	>10 <sup>5</sup> UFC/mL	Identificação e TSA

### 3.1.2. Culturas Micológicas

Na rotina da manhã é realizada a análise das placas micológicas que foram semeadas no dia anterior. Para isso, é impressa uma lista de trabalho para confirmação de que todas da lista foram semeadas e seguiram para a estufa. As placas que apresentarem crescimento seguem para avaliação pela equipa médica. Caso não haja crescimento depois do tempo necessário de 7 dias em estufa, o resultado é dado como negativo.

### 3.1.3. Culturas de rastreios

No início de cada manhã, entre os vários procedimentos de rotina do LM, encontram-se as placas de rastreio para avaliar o crescimento microbiano e, fundamentais para a deteção precoce de microrganismos com elevado impacto clínico. Dos quais se destacam o *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) – um dos principais agentes de infeções associadas a cuidados de saúde – e o *Streptococcus agalactiae*, cujo rastreio é essencial na proteção da saúde materno-fetal.

#### a) Rastreio de MRSA

As amostras recebidas para rastreio de MRSA em zaragatoas nasais são semeadas no meio MSA. A utilização deste meio permite a diferenciação baseada na fermentação da manitol, apresentando coloração amarelada em casos positivos. As colónias suspeitas seguem para identificação no Maldi-TOF.

#### b) Rastreio de *Streptococcus agalactiae*

O rastreio deste microrganismo em gestantes, entre as 35–37 semanas de gestação, é recomendado devido à associação com infeções neonatais graves (sépsis e meningite). A amostra – zaragatoa vaginal – é semeada em meio Granada (altamente específico), apresentando coloração alaranjada característica em culturas positivas.



### 3.1.4. Subculturas

As subculturas podem ser realizadas a partir de meios líquidos ou e meios sólidos de acordo com a natureza da amostra e o objetivo do ensaio, conforme a seguir se descreve.

#### a) Subculturas em meio líquido

Na início da rotina diária, procede-se à subcultura a partir dos meios líquidos, por forma a favorecer o crescimento de microrganismo isoladas e posterior identificação. Em todos os casos a sementeira faz-se por esgotamento com ansa de 10 $\mu$ L. O procedimento varia consoante o meio semeado como expresso na Tabela 3.

Tabela 3: Subculturas a partir de meios líquidos

Meio de origem	Procedimento de subcultura	Observações adicionais
Tioglicolato	Ágar GS após 48 horas de incubação	Preparação de lâmina para coloração de Gram
Selenito	Ágar SS após 24 horas de incubação	–
Caldo BHI (LCR)	Ágar GS após 24 horas de incubação	Se não for LCR: incubar 5 dias antes da subcultura. Amniótico e placenta: incubar a 4 °C. Preparar Esfregaço para coloração de Gram
Caldo Schaedler + Vitamina K3 (anaeróbios)	Ágar SCS, SNVS e GS após 5 dias de incubação	Preparação de lâmina para coloração de Gram

#### b) Em meio sólido

As placas em meio sólido são avaliadas ao fim de 24h de incubação pela equipa médica. Quando solicitado, faz-se a repicagem de uma colónia suspeita para um novo meio sólido com o objetivo de obter crescimento isolado. Para isso, realiza-se a sementeira por esgotamento com ansa de 1 $\mu$ L a partir da colónia alvo.

## 3.2. Identificação microbiana

Após a obtenção de colónias isoladas, inicia-se o processo de identificação microbiana – etapa crítica para a caracterização precisa do microrganismo em estudo.



### 3.2.1. Vitek® MS PRIME

O equipamento Vitek® MS PRIME (Figura 6) é amplamente utilizado na rotina do LM por permitir identificar rapidamente e de forma precisa os microrganismos ao nível de família, género e espécie através da tecnologia MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-flight). (8)

Na prática laboratorial, o procedimento consiste em:

1. Depositar, em cada poço do Vitek® MS-DS target slide, uma pequena porção da colónia a identificar.
2. Adicionar 1µL da matriz.
3. No caso de colónias fúngicas, acrescenta-se ainda 0,5 µL de ácido fórmico antes da matriz.



Figura 6- Equipamento Vitek® MS PRIME (8)

Cada slide comporta até 16 amostras (uma em cada poço), sendo obrigatória em cada ensaio a inclusão do controlo de qualidade: depositar no poço central uma estirpe conhecida de *E.coli*. Caso esta etapa seja ignorada, o equipamento não prossegue com a identificação.

Nos casos em que a identificação do microrganismo não é conclusiva no Vitek® MS PRIME, a amostra segue para análise complementar no Vitek®2.

### 3.2.2. Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA)

O Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) é um passo essencial na rotina microbiológica, permitindo verificar se os microrganismos apresentam suscetibilidade ou resistência aos antibióticos. No laboratório, este ensaio é realizado de forma automatizada, através do Vitek®2. Sempre que necessário, podem ser realizados por metodologias manuais, recorrendo aos métodos Kirby Bauer, E-Test e à prova de sensibilidade à colistina.

### 3.2.3. Vitek®2

O Vitek®2 (Figura 7) constitui a primeira opção para realização de TSA pela sua rapidez e precisão. O procedimento consiste em:

1. Preparar em um tubo de ensaio esterilizado, uma suspensão bacteriana em solução salina, ajustada entre 0,55 a 0,65 na escala de McFarland. No caso das amostras fúngicas, o ajuste deve ser de 1,8 a 2,5 McFarland.



2. Colocar a suspensão na primeira posição da cassette e na segunda um tubo vazio.
3. No compartimento posterior da cassette inserir as cartas AST (antimicrobial susceptibility testing) para bactérias ou YST para fungos, conforme a microrganismo identificado, na posição dois, com a haste metálica inserida no tubo vazio. (6,9)



Figura 7 - Equipamento Vitek@2 (9)



Figura 8 - Cards e Rack para Vitek@2 (9)

O sistema regista automaticamente as amostras e processa os resultados. A cassette (Figura 8) pode ser colocada no equipamento mesmo que não esteja completa.

O equipamento utiliza colorimetria para calcular a Concentração Inibitória Mínima (CIM), fornecendo um perfil detalhado de resistência ou sensibilidade.

### 3.2.4. TSA manual

Em casos específicos, ou quando solicitado pelo médico, recorre-se aos métodos manuais.

Os principais métodos utilizados são o Kirby Bauer e o E-Test. Também realiza-se a prova de suscetibilidade à colistina quando solicitado. Os meios utilizados são o MHE ou o MHF, conforme as necessidades nutricionais do microrganismo em estudo.

### 3.2.5. Método Kirby Bauer

Este método é também conhecido por método de difusão em placa e consiste no uso de discos de papel impregnados com antibióticos de concentração conhecida em placa semeada com o microrganismo em estudo. O procedimento é realizado no período da tarde e consiste em:



1. Fazer uma suspensão da colónia 0,5 na escala de McFarland em uma solução salina.
2. Preparar a inoculação da suspensão na placa pela sementeira em toalha.
3. Depositar a suspensão, com auxílio de uma pinça estéril, os quatro discos ou 2 E-Testes invertidos por placa com distância suficiente para que não haja sobreposição dos halos.
4. Incubar durante a noite.
5. Enviar para avaliação médica no dia seguinte.

Os discos e e-testes utilizados são predefinidos pela EUCAST conforme o microrganismo em estudo e não é possível a determinação da CMI por esse método, sendo qualitativo, onde é medido o halo de inibição formado ao redor de cada disco e quanto maior o halo formado, maior a sensibilidade a esse antimicrobiano. (6,10)

### 3.2.6. Método E-Test

A técnica é semelhante ao método Kirby Bauer, mas com recurso a fitas impregnadas com gradiente de antibiótico. Permite determinar quantitativamente a CMI através da observação do halo de crescimento em forma de gota.

### 3.2.7. Prova de sensibilidade à Colistina

Esta prova é realizada a pedido médico quando o microrganismo apresenta resistência a vários antimicrobianos. O procedimento é constituído pelos seguintes passos:

1. Fazer uma suspensão a 0.5 na escala McFarland em solução salina.
2. Transferir 50µL da suspensão para o meio Mueller Hinton e agitar no vórtex.
3. Fazer a microdiluição na placa própria que contém 12 poços com quantidades crescentes do antimicrobiano, em cada poço é acrescido 100 µL da solução.
4. Incubar a placa em atmosfera úmida por 18 horas.
5. Enviar para avaliação médica.

O objetivo consiste em verificar o crescimento bacteriano nas diferentes concentrações da colistina nos poços, com o intuito de determinar a concentração mínima necessária para inibição do crescimento do microrganismo alvo no primeiro poço que não apresentar crescimento.

A Tabela 4 apresenta uma comparação entre os principais métodos de TSA, destacando as suas características, vantagens e limitações.



Tabela 4: Comparação dos métodos de TSA

Método	Princípio	Resultado	Vantagens	Limitações
Vitek@2	Automatizado, leitura colorimétrica	CIM + perfil de resistência completo	Rápido, preciso, alta capacidade	Custo elevado, depende das cartas
Kirby Bauer	Difusão em disco	Halos de inibição (qualitativo)	Simples, padronizado (EUCAST)	Não calcula CIM
E-Test	Difusão em fita com gradiente	CIM quantitativa	Fácil leitura, CIM disponível	Mais caro que discos
Colistina	Microdiluição em placa	CIM da colistina	Alta precisão para multirresist.	Usado apenas em casos específicos

### 3.2.8. Testes complementares

Na rotina laboratorial, existem ensaios adicionais que apesar de serem de simples execução, são fundamentais para a confirmação e diferenciação de microrganismos. Estes podem ser melhor observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Testes Complementares em Microbiologia

Teste	Amostra / Microrganismo Alvo	Princípio do Método	Interpretação do Resultado
Pesquisa de Carbapenemases (O.K.N.V.I. RESIST-5)	Exsudado retal; deteção de carbapenemases (OXA-48, KPC, VIM, NDM, IMP)	Teste rápido imunocromatográfico	Linha vermelha → positivo; linha de controlo → validação do ensaio
Suscetibilidade à Optoquina	Suspeita de <i>Streptococcus pneumoniae</i> (colónia $\alpha$ -hemolítica)	Disco de optoquina em meio GS; incubação a 37 °C em atmosfera capnófila	Halo $\geq 14$ mm → positivo para <i>S. pneumoniae</i>
Prova de Catalase	Cocos Gram positivos	Colónia + peróxido de hidrogénio a 3% em lâmina	Efervescência → catalase positiva ( <i>Staphylococcus</i> ); ausência → catalase negativa ( <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> )
Prova de Oxidase	Bacilos Gram negativos	Colónia + reagente paradimetilfenildiamina em papel filtro	Coloração púrpura → oxidase positiva ( <i>Pseudomonas</i> ); sem alteração → oxidase negativa ( <i>Enterobactérias</i> )
Prova de Coagulase	Suspeita de <i>Staphylococcus aureus</i>	Colónia em contacto com plasma → ação da coagulase	Formação de coágulo → positivo para <i>S. aureus</i>



#### 4. Área 3: Micobactérias

As micobactérias do género *Mycobacterium* apresentam-se como bacilos álcool-ácido-resistentes. Apesar de serem classificadas como Gram positivo, não se coram pela coloração de Gram devido à resistência a soluções álcool-ácidas, atribuível à sua parede celular rica em ácidos micólicos. São bactérias aeróbias estritas, de crescimento fastidioso, e incluem espécies estritamente patogénicas, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium ulcerans* e *Mycobacterium bovis*.

##### 4.1. Tipos de amostras

As amostras com suspeita de Infecção por micobactérias que dão entrada no LM podem ser divididas em dois tipos:

- Amostras não estéreis, frequentemente contaminadas por flora de rápido crescimento: expectoração, lavados gástricos, urina, fezes, aspirados e lavados brônquicos e broncoalveolares, biópsias, pele, entre outras.
- Amostras estéreis: sangue, fluidos corporais e medula óssea.

Para cada admissão são impressas listas de trabalho, verificando-se todas as amostras que deram entrada no dia anterior e o volume das amostras para posterior processamento. Incluindo digestão, descontaminação e concentração.

##### 4.2. Descontaminação e concentração

A descontaminação tem como finalidade preservar as micobactérias ao impedir que as bactérias da flora normal existente na amostra cresçam de forma célere, uma vez que as micobactérias são fastidiosas. As amostras estéreis, como o LCR, não necessitam desta etapa e podem ser semeadas diretamente em GS no dia em que são rececionadas, e se no dia posterior continuarem estéreis no momento da descontaminação de rotina.

O processo de descontaminação utiliza-se o kit BD BBL Mycoprep, que contém uma solução de N-acetil-L-cisteína-Hidróxido de sódio (NALC-NaOH), onde o NaOH age como descontaminante e o NALC como agente mucolítico para que as micobactérias possam ser libertadas do muco ao fluidificar a amostra.



Na câmara de fluxo laminar, 5 mL da amostra é transferido para um tubo de 50 mL de capacidade, é acrescentado a esta a solução de descontaminação (MycoPrep) em igual medida. Caso a amostra tenha volume superior a 10 mL, deve-se realizar centrifugação para concentração da amostra. No caso de amostras de fezes, deve-se suspender 1g de fezes em 5 mL do meio 7H9 e agitar no vórtex por segundos antes de seguir para a descontaminação. As misturas devem ser agitadas durante 15 minutos. O passo seguinte consiste em interromper a descontaminação após 15 minutos do início da reação, onde é adicionado uma solução tampão de fosfato até perfazer o volume de 50 mL. Em seguida as amostras são centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos a 0°C e depois decantadas cuidadosamente todo o sobrenadante. Para ressuspender o sedimento, adicionou-se então 1 mL de tampão.

#### 4.3. Inoculação em meios de cultura

Para a inoculação de amostras nos meios de cultura deve-se adicionar, de forma asséptica a cada tubo BBL MGIT 0,8 mL de PANTA (mistura de antimicrobianos para inibição do crescimento de outros microrganismos, e promover o crescimento das micobactérias. Posteriormente é adicionado 0,5 mL da suspensão da amostra concentrada após a descontaminação.

Caso a amostra seja proveniente de colheita invasiva como biópsia, LCR, líquidos corporais, lavados brônquicos e broncoalveolares, deve-se inocular também um meio sólido de LWJ. Caso seja uma amostra de biópsia de pele, deve-se inocular os tubos em duplicado e colocar um MGIT e um LWJ em uma estufa a 25°C.

Em seguida, os tubos MGIT que contém um composto fluorescente sensível à presença de oxigénio, são inseridos no equipamento BD BACTEC™ MGIT 900™, onde permanece em incubação por 42 dias. A leitura é feita automaticamente a cada 60 minutos, onde é emitido um alerta caso a amostra seja positiva.

#### 4.4. Preparação de lâminas para exame direto

Para cada amostra devem ser realizados dois esfregaços em lâmina para exame direto que devem ser fixadas dentro câmara de fluxo e coradas conforme a técnica necessária:

1. Coloração Auramina → deteção de bacilos álcool-ácido resistentes por fluorescência. Leitura realizada pela médica.



2. Coloração Kinyoun → mais específica que a Auramina, porém menos sensível; realizada caso a amostra ou a lâmina Auramina seja positiva.

Na suspeita de *M. tuberculosis*: realizar teste imunocromatográfico, que se for positivo, proceder ao antibiograma com estreptomicina, isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida.

A primeira lâmina recebe a coloração Auramina que tem a finalidade de detetar, através da fluorescência, os bacilos que são álcool-ácido resistentes. A leitura das lâminas é feita pela médica. Caso a amostra inoculada no meio MGIT ou a lâmina corada por Auramina configurem-se como positivos, é feita a coloração de Kinyoun na outra lâmina, sendo esta mais específica que a Auramina, porém menos sensível. Caso haja suspeita de *Mycobacterium tuberculosis*, faz-se um teste imunocromatográfico. Caso seja positivo, faz-se o antibiograma com estreptomicina, isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida.

## 5. Controlo de Qualidade

No LM é realizado o controlo de qualidade interno e externo para assegurar a fiabilidade dos resultados e subsequentemente do diagnóstico.

No controlo interno, são utilizadas estirpes de referência ATCC, testadas como as amostras em estudo. Esta prática permite confirmar que as metodologias e equipamentos utilizados estão a funcionar corretamente e produzem resultados consistentes.

Quanto ao controlo de qualidade, realiza-se o programa NEQAS (National External Quality Assessment Service), em que mensalmente os laboratórios participantes recebem as amostras padronizadas para serem analisadas e comparadas interlaboratorialmente. (12,13)

## 6. Biossegurança

A biossegurança é essencial para prevenir, minimizar e até mesmo eliminar riscos associados ao manuseamento de produtos biológicos no LM. Neste seguimento, estão implementadas as boas práticas laboratoriais a seguir destacadas:

- Utilização correta e adequada de EPI's;
- Desinfecção regular das bancadas de trabalho;
- Higienização correta das mãos;



- Processamento das amostras biológicas dentro de câmaras de fluxo laminar, as quais seguem um cronograma obrigatório de desinfeção duas vezes por dia. (14)

Relativamente à gestão de resíduos, estes são devidamente separados conforme a classificação em grupos:

- Grupos I e II: são descartados em contentores com saco preto;
- Grupo III, classificados como resíduos hospitalares de risco biológico: são descartado em contentor com saco branco;
- Perfurocortantes: são acondicionados em contentores rígidos específicos, seguindo obrigatoriamente para incineração.



## Capítulo II – Estudo de Caso: Estudo comparativo entre o meio de transporte utilizado para exame microbiológico de urina com novo meio de transporte com ácido bórico.

### 1. Introdução

As infeções do trato urinário (ITU) representam uma das condições infecciosas mais prevalentes dentre as IRAS (Infeções Relacionadas à Assistência à Saúde), que constituem as infeções adquiridas posteriormente à admissão hospitalar. Os grupos mais afetados abrangem as gestantes, idosos, diabéticos e pacientes hospitalizados. Os principais sintomas indicativos de ITU são disúria, incontinência urinária e hematuria. O exame inicial para triagem é a urinálise, caso os parâmetros bioquímicos e microscópicos somados aos sintomas indiquem a possibilidade de uma ITU, dá-se prosseguimento para a urocultura (15,16).

As ITU têm um impacto clínico e económico considerável, pois a ausência de diagnóstico correto pode conduzir a terapêutica inadequada, resistência bacteriana e aumento da morbidade (17). Um diagnóstico laboratorial rigoroso é, por isso, essencial para orientar a terapêutica antibiótica e evitar custos desnecessários.

#### 1.1. Diagnóstico de ITU

A identificação correta das ITU é determinante para orientar a terapêutica, requerendo técnicas laboratoriais seguras que possibilitem a deteção célere e exata do microrganismo responsável. Neste contexto, importa reconhecer quais os agentes patogénicos mais frequentemente implicados e os sinais clínicos que justificam a realização de exames complementares. Destacam-se como uropatógenos mais frequentes a *E. coli* e *Enterococcus spp* que tendem a agir como contaminantes (18). Os principais sintomas sugestivos de ITU são a urgência urinária, disúria, hematuria e dor lombar (15). Os exames laboratoriais mais comumente solicitados após análise dos sintomas são a urinálise, análise bioquímica e microscópica, embora estes possam apresentar alteração em patologias distintas (15).

A urocultura apresenta um importante papel na confirmação do diagnóstico, contudo é mais demorado, uma vez que depende do crescimento bacteriano. Para o resultado ser positivo deve apresentar uma concentração bacteriana superior a 10 unidades formadoras de colónias por mililitro ( $10^5$  UFC/mL). O material utilizado para esta análise é a urina que deve ser colhida corretamente para evitar contaminação bacteriana (17).



## 1.2. Desafios e implicações da contaminação na precisão diagnóstica de ITU

O diagnóstico preciso das infeções do trato urinário (ITU) é essencial para a prescrição racional de antibióticos, evitando resistência bacteriana, efeitos adversos e custos desnecessários em saúde (19). Vários fatores podem comprometer a fiabilidade dos resultados laboratoriais, nomeadamente a contaminação da amostra quer pela microbiota urogenital durante a colheita, quer pelo crescimento bacteriano resultante de atraso no transporte ou armazenamento inadequado (17, 20). Estas situações podem originar falsos positivos, interferindo na seleção dos antimicrobianos e favorecendo terapias inadequadas ou uso desnecessário de antibióticos, pelo que se impõe a utilização de estratégias que preservem a integridade das amostras e assegurem resultados fidedignos (21).

Desta forma, compreender e mitigar os fatores que influenciam a contaminação é fundamental para melhorar a precisão diagnóstica de ITU, garantindo que as decisões clínicas sejam baseadas em dados laboratoriais fidedignos e contribuindo para a segurança do doente (21). Neste sentido, torna-se essencial a utilização de estratégias laboratoriais que preservem a composição microbiana original desde a colheita até ao processamento. O ácido bórico pode ser utilizado na microbiologia para preservar e manter a qualidade da amostra de urina para a realização de cultura, uma vez que, além de inibir a replicação bacteriana, permite manter a quantidade de microrganismos presentes no momento da colheita. As principais problemáticas associadas à contaminação bacteriana na uroculturas resultam do tempo decorrido entre a colheita e o processamento no laboratório, situação em que a utilização de tubos com ácido bórico atua simultaneamente na estabilização da carga microbiana e na redução de falsos positivos, preservando a composição original da amostra (17, 22).

Apesar da utilização generalizada de meios de transporte contendo ácido bórico, existem lacunas no conhecimento relativamente à sua eficácia na preservação da integridade das amostras de urina em diferentes condições de transporte e armazenamento. Desta forma, o presente estudo tem como finalidade avaliar o desempenho de um novo meio de transporte de urina contendo ácido bórico na preservação da integridade das amostras e na redução da contaminação bacteriana durante o transporte e armazenamento, fornecendo evidências científicas que suportem boas práticas laboratoriais.

## 2. Objetivo

Objetivo principal



- Avaliar o desempenho de um novo meio de transporte com ácido bórico na preservação de amostras de urina para exame microbiológico, comparando com o meio de transporte atualmente utilizado.

### Objetivos específicos

- Avaliar a frequência de contaminação bacteriana em amostras transportadas com e sem ácido bórico.
- Determinar a mais valia do novo meio na manutenção quantitativa e qualitativa do crescimento bacteriano ao longo do tempo.
- Analisar a aceitabilidade do novo procedimento pelos utentes, através de questionário.

## 3. Métodos

### 3.1. Tipo de estudo

Foi realizado um estudo observacional analítico com amostras pareadas de urina provenientes de utentes do CHUSJ.

### 3.2. População e Amostra

A amostra total estudada inclui 104 utentes, correspondendo a 208 amostras de urina provenientes de utentes das consultas de Obstetrícia, Nefrologia e Urologia admitidas no LM entre março e junho de 2025, uma vez que as culturas de urina de utentes dessas consultas apresentam maior grau de contaminação quando comparado aos outros setores. Fizeram parte os utentes com idade entre 20 e 69 anos e foram excluídos pacientes hospitalizados. Em contrapartida, não foi possível avaliar o crescimento de 2 amostras pareadas, uma vez que estas chegaram ao LM derramadas.

### 3.3. Procedimentos

#### 3.3.1. Procedimento de colheita e transporte

Foi distribuído amostragem cada participante 1 kit (Anexo 3) constituído por:

- 1 frasco estéril para colheita de urina,



- 1 tubo com ácido bórico,
- instruções escritas sobre o procedimento de colheita e transferência da amostra (anexo 4),
- questionário sobre a aplicabilidade do novo procedimento a ser implantado (anexo 5),
- termo de consentimento informado (anexo 6) e
- Informações sobre o estudo (anexo 7).

As amostras foram acondicionadas em saco plástico individual, contendo o tubo com ácido bórico e o frasco de urina, ambos devidamente identificados com a mesma etiqueta do utente, sendo posteriormente encaminhadas para o LM.

### 3.3.2 Processamento laboratorial

No LM, após a receção das amostras pareadas, seguiu-se o respetivo processamento de acordo com as normas estabelecidas no Manual de Procedimentos:

- As amostras foram semeadas em CLED, utilizando a técnica de sementeira quantitativa com ansa calibrada de 1  $\mu$ L.
- As placas foram incubadas a  $35 \pm 2$  °C, em atmosfera aeróbia, com leitura ao fim de 24h e 48h.
- A interpretação seguiu os critérios do Manual de Procedimentos do LM e normas internacionais de microbiologia clínica.
- Nos casos de crescimento significativo ( $>10^5$  UFC/mL), procedeu-se com os procedimentos internos implementados para a identificação microbiana.

Os dados foram registados em tabela conforme o Anexo 8 e posteriormente compilados numa base Microsoft Excel® própria para o estudo.

### 3.3.3. Variáveis analisadas

- Crescimento bacteriano (se este esteve ausente, reduzido, ou se apresentou crescimento significativo).
- Nível de aceitação do procedimento pelos utentes (questionário aplicado), para determinar se este utente faria parte do estudo ou não.



### 3.4. Ética

O presente estudo, integrado no Laboratório de Microbiologia do serviço de Patologia foi aprovado pela Comissão de ética da ULSSJ.

### 3.5. Tratamento estatístico

Os dados recolhidos foram sistematicamente organizados numa base, permitindo o registo detalhado de todas as variáveis consideradas, nomeadamente sexo, idade e crescimento bacteriano.

Posteriormente, foram analisados através de estatística descritiva, comparando a performance dos dois métodos de transporte. O software utilizado foi o Pycharm com código escrito em Python. O nível de significância adotado é o padrão de  $\alpha = 0.05$  (5%).

## 4. Resultados

A amostra incluiu 104 participantes, com predomínio do sexo feminino (82,7%; n = 86) em relação ao masculino (17,3%; n = 18), e maior representação do setor de Obstetrícia (Tabela 6). A idade média foi de 32,4 anos (DP=9,1), variando entre 18 e 65 anos. A Figura 9 ilustra graficamente a distribuição etária por sexo, confirmando a maior representatividade feminina e evidenciando que a maioria dos participantes se situa no grupo etário jovem-adulto.

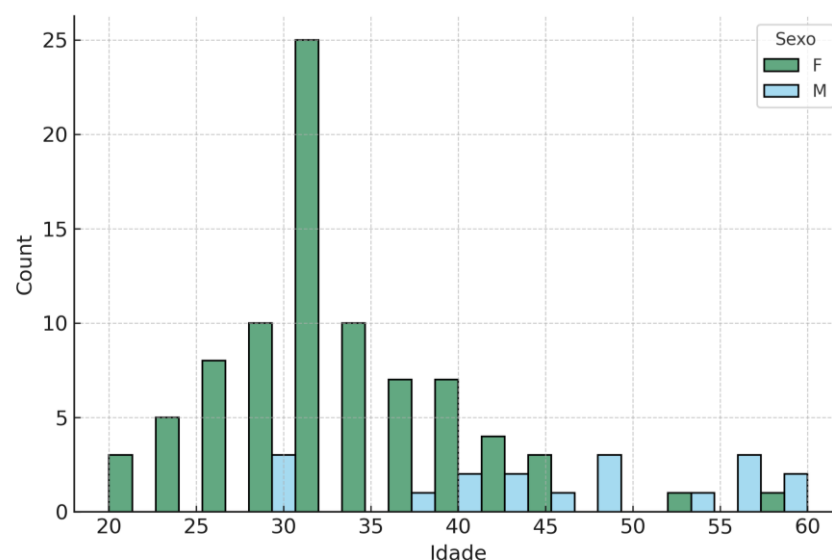


Figura 9: Distribuição da idade por sexo



Através da Tabela 6, podemos observar uma distribuição heterogénea da idade: 24 utentes (22,8%) tinham entre 20–29 anos de idade, 53 (50,4%) entre 30–39 anos, 17 (16,1%) entre 40–49 anos, 7 (6,6%) de 50–59 anos, 2 (1,9%) entre 60–69 anos, e 2 utentes não tiveram a idade registada.

Tabela 6– Distribuição dos utentes por serviço, sexo e faixa etária

Serviço	Sexo	20–29 anos n (%)	30–39 anos n (%)	40–49 anos n (%)	50–59 anos n (%)	60–69 anos n (%)	Não registado n (%)	Total n (%)
Obstetrícia	Homens	0	0	0	0	0	0	0
	Mulheres	22 (20.9)	49 (46.6)	6 (5.7)	0	0	2 (1.9)	79 (75.2)
Urologia	Homens	1 (0.95)	0	1 (0.95)	1 (0.95)	0	0	3 (2.8)
	Mulheres	0	0	0	1 (0.95)	1 (0.95)	0	2 (1.9)
Nefrologia	Homens	1 (0.95)	2 (1.9)	9 (8.5)	3 (2.8)	1 (0.95)	0	16 (15.2)
	Mulheres	0	2 (1.9)	1 (0.95)	2 (1.9)	0	0	5 (4.7)
Total		24 (22.8)	53 (50.4)	17 (16.1)	7 (6.6)	2 (1.9)	2 (1.9)	105

Para avaliar o crescimento bacteriano nas diferentes condições em estudo, às 24 h e 48h, as contagens bacterianas foram classificadas em cinco categorias ordinais: 0 = ausência; 1 =  $<10^3$ ; 2 =  $10^3$ – $10^4$ ; 3 =  $10^4$ – $10^5$ ; 4 =  $>10^5$  UFC/mL. Pela análise da Figura 9, verifica-se que, no transporte convencional, as médias foram consistentemente mais elevadas, traduzindo maior crescimento bacteriano. Contrariamente, nas amostras com ácido bórico, os valores permaneceram estáveis e expressivamente mais baixos. Podemos constatar existir maior preservação da flora nas amostras com ácido bórico ao longo do tempo.

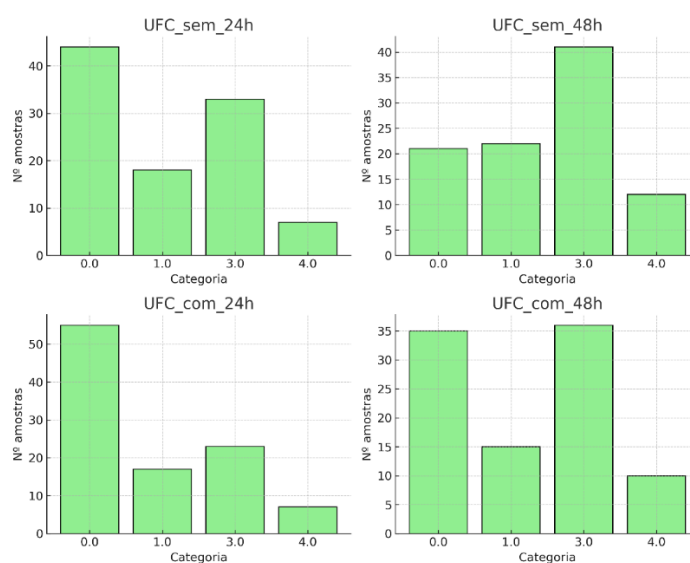


Figura 10 – Evolução temporal do crescimento bacteriano



A Figura 10 representa a evolução temporal do crescimento bacteriano, comparando as duas condições. Observa-se que ao longo de 24h para 48h, o aumento das categorias de UFC foi muito mais acentuado nas amostras sem ácido bórico, enquanto as amostras com ácido bórico mantiveram valores praticamente constantes, confirmando que o aditivo limita a progressão do crescimento ao longo das 48 horas.

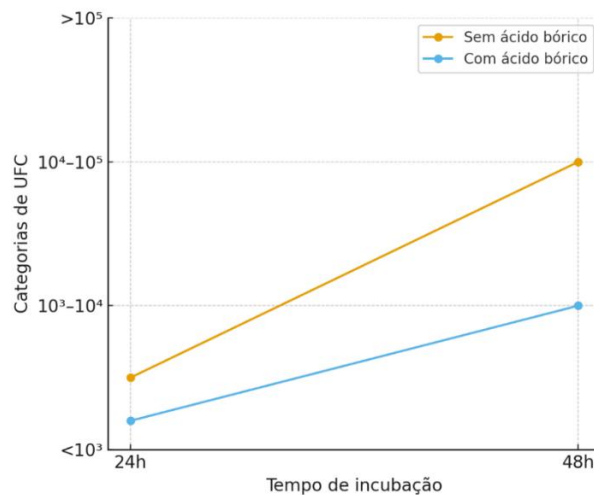


Figura 11 – Evolução das categorias médias de UFC ao longo do tempo

Para analisar a dispersão de valores, procedeu-se à representação por boxplots das categorias de UFC (Figura 12). Observa-se que as amostras sem ácido bórico exibem medianas mais elevadas e maior amplitude interquartil, sugerindo maior variabilidade e tendência para crescimento excessivo. Já nas amostras com ácido bórico, os valores concentram-se nas categorias mais baixas, confirmando a função estabilizadora do conservante.

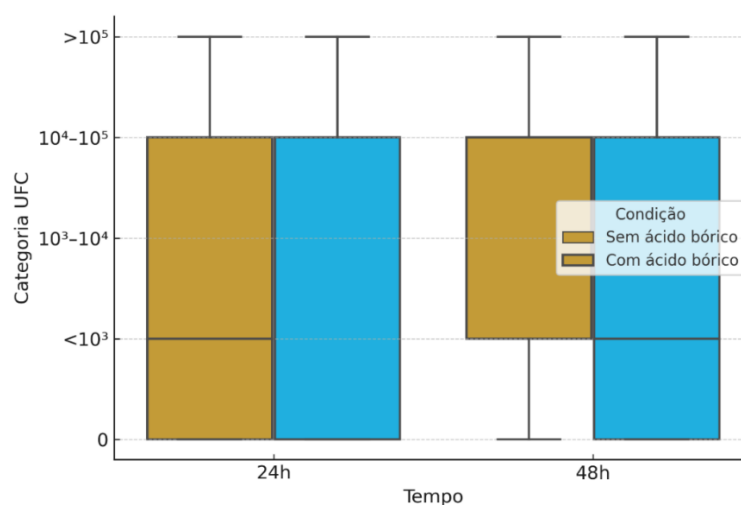


Figura 12: Boxplots comparativos de UFC por condição e tempo



Após a análise gráfica apresentada na **Figura 11**, torna-se evidente a diferença de distribuição das categorias de UFC entre as amostras sem e com ácido bórico. Para confirmar estatisticamente estas observações visuais, procedeu-se à aplicação de testes não paramétricos, nomeadamente o teste de **Wilcoxon**, cujos resultados se encontram resumidos na **Tabela 7**.

Tabela 7 – Resultados do teste de Wilcoxon (pares sem vs. com ácido bórico)

Tempo	n	W	p	r (efeito)	Média sem	Média com
24h	96	1,0	<0,001	0,856	2,17	0,88
48h	95	0,0	<0,001	0,849	2,64	0,92

Podemos constatar existir diferenças altamente significativas entre as duas condições em ambos os tempos avaliados. No entanto, para melhor compreender a relevância clínica destas diferenças, foi ainda necessário avaliar a ocorrência de falsos positivos através do teste de McNemar, apresentado na **Tabela 8**.

Tabela 8 – Resultados do teste de McNemar

Tempo	Estatística	p	Observação
24h	7,2	0,0074	Menor taxa de falsos positivos com ácido bórico
48h	15,6	0,00012	Diferença ainda mais acentuada

Os resultados obtidos confirmam que a preservação com ácido bórico reduz de forma significativa o número de falsos positivos, reforçando a utilidade prática do conservante no contexto laboratorial e clínico. Para aprofundar a análise e identificar fatores associados ao crescimento bacteriano, foi posteriormente ajustado um modelo de regressão ordinal, cujos resultados são apresentados na **Tabela 9**.



Tabela 9 – Resultados do modelo de regressão ordinal

Variável	Coef.	SE	p	OR	IC95% OR
Condição (com ácido bórico)	-0,426	0,193	0,027	0,65	0,44 – 0,96
Tempo (48h vs 24h)	+0,723	0,157	<0,001	2,06	1,52 – 2,79
Idade	-0,034	0,013	0,008	0,97	0,95 – 0,99
Sexo (feminino)	+2,124	0,742	0,004	8,36	2,01 – 34,7

Os dados revelam que a condição com ácido bórico se associa a uma redução significativa do risco de progressão para categorias superiores (OR = 0,65; IC95%: 0,44–0,96; p = 0,027), confirmando o efeito protetor do conservante. Em contrapartida, o tempo de 48h constitui um fator de risco, aumentando mais do dobro a probabilidade de se observar maior crescimento bacteriano (OR = 2,06; IC95%: 1,52–2,79; p < 0,001). A idade apresenta-se como fator protetor ligeiro, com diminuição de cerca de 3% no risco por cada ano adicional (OR = 0,97; IC95%: 0,95–0,99; p = 0,008). Já o sexo feminino associa-se a um risco substancialmente superior de crescimento bacteriano (OR = 8,36; IC95%: 2,01–34,7; p = 0,004), o que pode refletir a maior predisposição das mulheres para infeções urinárias devido a fatores anatómicos e fisiológicos.

Relativamente à aceitação do procedimento pelos utentes, os resultados do questionário (Tabela 10) revelam elevada taxa de adesão e perceção de clareza nas instruções.

Tabela 10 – Resultados do questionário de aceitação do novo meio de transporte com ácido bórico

SITUAÇÃO	IGUAL %	MAIS FÁCIL %	MAIS DIFÍCIL %	NÃO PERCEBERAM %
Mudança do método	45,7	25,7	19,0	4,7
Clareza das instruções	23,8	62,8	4,7	4,7
Dificuldade de execução	20,9	58	10,4	4,7



Do total de participantes, 45,7% (n=48) consideraram que o método de recolha de urina se manteve inalterado, enquanto que 25,8 % (n = 27) acharam o novo procedimento mais simples, 19,0 % (n = 20) consideraram-no mais difícil e 4,7 % (n = 5) afirmaram não ter compreendido a mudança. Relativamente à clareza das instruções, 23,8% (n=25) consideraram-nas similares ao método anterior, 62,8%(66) mais claras, 4,7% (n=5) acharam-nas mais confusas e e em igual número, expressaram não as ter entendido. Quanto à dificuldade na execução da recolha da urina, 58% (n=61) referiram nenhuma dificuldade, 20,9% (n=22) acharam-na similar ao procedimento habitual, 10,4%(n=11) expressaram alguma dificuldade. Apenas 4,7%(n=5) não perceberam as instruções e não transferiram a urina para o tubo com ácido bórico.

A análise global destes parâmetros evidencia boa aceitação do novo método, demonstrando que este novo procedimento é viável e fácil de implementar na prática clínica.

## 5. Discussão

A caracterização sociodemográfica da amostra, marcada pela predominância das mulheres e pela elevada representação de utentes da Obstetrícia, é consistente com a epidemiologia das infeções do trato urinário. Estas afetam sobretudo mulheres em idade fértil, conforme relatado em inquéritos nacionais de vigilância).(23)

O presente estudo demonstrou que o transporte de urina em tubos contendo ácido bórico reduziu significativamente a contaminação bacteriana, preservando melhor a quantidade e diversidade de colónias quando comparado ao método tradicional. Estes resultados são concordantes com outros estudos (24, 25) que referem a eficácia do ácido bórico na estabilização da flora bacteriana por períodos de 24 a 48 horas, evitando a multiplicação excessiva de contaminantes e assegurando maior fiabilidade dos resultados laboratoriais.

Verificou-se ainda uma redução expressiva de falsos positivos – 0,9% contra 12,4 % verificados no transporte convencional,  $p < 0,01$  – o que evidencia uma redução clinicamente importante. Este resultado reforça a importância de métodos de preservação adequados para garantir a fiabilidade da urocultura, uma vez que falsos positivos podem conduzir a terapêuticas desnecessárias e a aumento da resistência antimicrobiana, conforme já documentado em estudos nacionais e internacionais. Em Portugal, num estudo realizado no Centro Hospitalar Universitário de Lisboa (26), observou-se que a utilização de conservantes como o ácido bórico contribuiu para a redução de falsos positivos em uroculturas, sobretudo quando o tempo de transporte ultrapassava as 4 horas recomendadas. De forma semelhante, Ferreira e colaboradores (2021) (27), verificaram uma redução significativa na variabilidade de colónias



em amostras transportadas em condições não refrigeradas, quando preservadas com ácido bórico. A nível internacionalmente, os resultados obtidos são corroborados por outros estudos: um estudo multicêntrico no Reino Unido demonstrou que a adição de ácido bórico manteve a estabilidade bacteriana por até 48 horas, sem comprometer a identificação microbiológica (28). De igual modo, o estudo desenvolvido por Martins e colaboradores (2017) (29) demonstrou uma redução de 35% no número de amostras descartadas por contaminação após a implementação de kits de colheita com conservante, e Ben-David e colaboradores (17) verificaram que, após a introdução de recipientes com ácido bórico, a positividade de culturas no intervalo 4–24 h desceu de 30,4 % para 24,0% (OR 0,80; 95 % CI 0,67–0,94;  $p=0,008$ ). Do ponto de vista clínico, a diminuição de falsos positivos traduz-se em menor probabilidade de prescrição empírica de antibióticos, contribuindo para um uso mais criterioso destes fármacos e para a mitigação do fenómeno de resistência bacteriana, como evidenciado em estudos recentes onde tratamentos foram iniciados mesmo sem confirmação microbiológica ou clínica (30).

Além disso, a possibilidade de transporte seguro por períodos mais longos oferece uma vantagem logística relevante para unidades periféricas ou com recursos limitados, alinhando-se com conclusões de estudos canadenses e escandinavos sobre melhoria da rede de cuidados de saúde rurais (31, 32).

O tempo decorrido entre a colheita da urina e a entrada do produto no LM pode ser facilmente explicado no estudo em questão, uma vez que todos os utentes que participaram eram oriundos das consultas que recebiam o kit e traziam o material em dias distintos. Contudo, a presença de ácido bórico em contacto com as amostras de urina confere a capacidade de inibir a replicação bacteriana, mantendo a carga microbiana existente ou praticamente existente no momento da colheita.

O ácido bórico atua como conservante e preserva as amostras de urina de forma similar às amostras que não contém ácido bórico mesmo sob refrigeração por 24 horas (22). Apesar de idealmente o tempo máximo da coleta da urina até a entrada no LM seja de 4 horas, muitas das vezes esse tempo não pode ser respeitado seja pelo tempo que o paciente demora de casa até o hospital, ou até mesmo pela logística interna hospitalar e demandas administrativas que podem prolongar o tempo de espera do material até seu destino final.

Neste estudo, 15,2% ( $n=16$ ) das culturas de urina neste estudo foram positivas, com crescimento  $>10^5$  UFC/mL. Em 82,8% ( $n=87$ ) observou-se discrepância nos resultados entre as amostras que foram transportadas e conservadas com ácido bórico em relação às amostras padrão que chegam ao LM atualmente. Pode-se observar não só a redução na quantidade de colónias em 44,7% ( $n=47$ ), mas também a redução na variedade de tipos de colónias 14,2% (15) e até mesmo sua ausência 14,2% (15).



A estabilização do crescimento bacteriano observada nas amostras com ácido bórico, mesmo após 48h, confirma a sua capacidade de manter a carga microbiana próxima da recolha inicial.

A análise multivariada (Tabela 12) reforçou estes achados, evidenciando que o ácido bórico reduz em 35% a probabilidade de aumento nas categorias de crescimento, enquanto o tempo de 48h duplica esse risco.

Adicionalmente, observou-se que a idade mais avançada se associa a menor crescimento bacteriano e que o sexo feminino apresentou maior risco de positividade, em consonância com a epidemiologia conhecida das infeções urinárias.

Apesar das evidências positivas, persistem algumas limitações, nomeadamente, o número relativamente reduzido de participantes e a inclusão de apenas uma instituição hospitalar, a curta duração temporal do estudo e a ausência de análise clínica mais detalhada. Fatores que podem restringir a generalização dos resultados. No entanto, e de acordo com Larsen et al. (2020) (33), mesmo estudos de curta duração são relevantes para validar práticas laboratoriais, especialmente quando demonstram impacto imediato na redução de contaminações.

Futuros trabalhos multicêntricos e com períodos de seguimento alargados serão essenciais para confirmar a robustez destas conclusões e avaliar o impacto económico em larga escala, tal como sugerido por meta-análises recentes (33).

Em síntese, os resultados obtidos neste estudo confirmam a utilidade do ácido bórico como aditivo no meio de transporte de urina, constituindo uma solução prática e eficaz, por melhorar de forma mensurável a qualidade das uroculturas, reduzir o número de falsos positivos e possibilitar uma gestão mais racional da antibioterapia, com benefícios clínicos, económicos e logísticos que merecem ampla implementação.

Relativamente à aceitação do novo procedimento pelos utilizadores, a maioria considerou o processo simples e de fácil execução. Esta adesão é essencial, pois a correta colheita e transporte das amostras influencia diretamente a qualidade dos resultados. O estudo português desenvolvido em contexto hospitalar (34) reforça que a simplificação das instruções de colheita reduz erros e melhora a adesão dos doentes.



## 6. Conclusão

Este estudo apresentou algumas limitações, uma vez que a origem dos pacientes foi limitada a apenas três departamentos (Obstetrícia, Urologia e Nefrologia) que foram escolhidos com base na maior contaminação de amostras evidenciadas anteriormente pelo LM. O tempo decorrido entre a entrega dos kits e o processamento das amostras foi de apenas quatro meses. Os dados clínicos e histórico dos pacientes também não foram analisados. Além disso, nem todos os registros continham o horário do processamento das amostras, apesar de conter o horário da colheita da urina.

Contudo, é significativo que as urinas transportadas em tubo com ácido bórico apresentaram melhor performance no que tange a preservação das características presentes no momento da colheita da urina, principalmente em relação a redução na quantidade de colónias encontradas, na sua variabilidade e até mesmo ausência na presença do ácido bórico.

Sendo assim, a introdução do tubo de ácido bórico nos transportes da urina trará inúmeros benefícios caso seja implementado não só para o LM, mas também para o CHUSJ e os utentes, onde para além de resultados mais precisos e confiáveis, tem-se ainda a redução de Insumos necessários para realização da urocultura, uma vez que repetições de colheita por amostra contaminada serão reduzidas. Além disso, sabe-se que esta análise é frequentemente solicitada quando há suspeita de Infecção do trato urinário e o prognóstico pode ser adiado caso o utente tenha que refazer a colheita da urina, o que pode acarretar no agravamento da Infecção ou até mesmo na prescrição de antibiótico antes que o TSA seja realizado.

Por fim, a preservação da urina desde o momento da colheita até seu processamento pelo LM deve ser priorizada para que o objetivo principal da cultura da urina seja atingido através de resultados precisos e entregues em tempo hábil aos utentes.



## Referências Bibliográficas

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. General principles of laboratory diagnosis. In: Medical microbiology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 16–21.
2. Tripathi N SA. Gram Staining. In: Stat Pearls Publishing, Treasure Island (FL); 2020 Sep 24.
3. Bactérias Gram-Positiva e Gram-Negativa [Internet]. [cited 2025 Sep 14]. Available from: <https://diferencias.info/diferencia-entre-bacterias-gram-positivas-y-negativas/>
4. Connie RM, Donal CL. In: Diagnostic Microbiology. 7<sup>th</sup> ed. Elsevier; 2023.
5. Previ Color Gram [Internet]. [cited 2025 Mar 01]. Available from: <https://www.biomerieux.com/corp/en/our-offer/clinical-products/previ-color-gram.html>
6. Ford M, editor. Medical Microbiology. In: 3rd ed. Oxford University Press; 2019
7. Manual interno do Laboratório de Microbiologia do CHUSJ.
8. Combi-Strip: [Internet]. [cited 2025 Mar 01]. Available from: <https://www.corisbio.com/products/combi-strip>
8. Vitek® MS PRIME [Internet]. [cited 2025 Mar 01]. Available from: <https://www.biomerieux.com/corp/en/our-offer/clinical-products/vitek-ms-prime.html>
9. Vitek®2 [Internet]. [cited 2025 Mar 01]. Available from: <https://www.biomerieux.com/corp/en/our-offer/clinical-products/vitek-2.html>
10. Jorgensen JH, Ferraro MJ, Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*. 2009;49. doi: 10.1086/647952
11. Greissi C, Saleh A, Hamprecht A. O.K.N.V.I. RESIST-5. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2019;38(2):331–5.
12. Microbiology Quality Control ATCC [Internet]. [cited 2025 Mar 01]. Available from: <https://www.atcc.org/microbe-products/applications/quality-control#t=productTab&numberOfResults=24>
13. UK NEQAS | External Quality Assessment Services [Internet]. [cited 2025 Mar 01]. Available from: <https://ukneqas.org.uk/>
14. Friedrich R, Rappold E, Bogdan C, Held J. Laboratory Focus on Improving the culture of biosafety. *J Clin Microbiol*. 2018;56(9).



15. Marques AG, Doi AM, Pasternak J, Damascena MDS, França CN, Martino MDV. Performance of the dipstick screening test as a predictor of negative urine culture. *Einstein (Sao Paulo)*. 2017;15(1):34–39. doi: 10.1590/S1679-45082017A03936.
16. Miranda AL, de Oliveira ALL, Nacer DT, Aguiar CAM. Results after implementation of a protocol on the incidence of urinary tract infection in an intensive care unit. In: *Rev. Latino-Am. Enfermagem* 24, 2016. [Internet]. [cited 2025 Abr 01]. Available from: <https://doi.org/10.1590/1518-8345.0866.2804>
17. Ben-David, D., Cohen, Y., Zohar, I. et al. The impact of Boric Acid tubes on quantitative urinary bacterial cultures in hospitalized patients. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 43, 1639–1644 (2024). [Internet]. [cited 2025 Jun 10]. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10096-024-04874-z>
18. Pernille H, Lars B, Marjukka M, Volkert S, Anne H. Sampling of urine for diagnosing urinary tract infection in general practice – First-void or mid-stream urine? *Scand J Prim Health Care*. 2019;37(1):113–119. doi:10.1080/02813432.2019.1568708.
19. Claeys KC, Weston LE, Pineles L, Morgan DJ, Krein SL. Implementing diagnostic stewardship to improve diagnosis of urinary tract infections across three medical centers: A qualitative assessment. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2023;44(12):1932–1941. doi: 10.1017/ice.2023.106.
20. Moreland RB, Brubaker L and Wolfe AJ. Polymicrobial urine cultures: reconciling contamination with the urobiome while recognizing the pathogens. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2025;15:1562687. doi: 10.3389/fcimb.2025.1562687
21. LaRocco MT, Franek J, Leibach EK, Weissfeld AS, Kraft CS, Sautter RL, Baselski V, Rodahl D, Peterson EJ, Cornish NE. Effectiveness of Preanalytic Practices on Contamination and Diagnostic Accuracy of Urine Cultures: a Laboratory Medicine Best Practices Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Microbiol*. 2016;29. doi.org/10.1128/cmr.00030-15
22. Eisinger SW, Schwartz M, Dam L, Riedel S. Avaliação dos tubos de urina C&S conservantes BD Vacutainer Plus em comparação com amostras de urina sem conservantes armazenadas a 4°C e à temperatura ambiente. *Am J Clin Pathol*. 2013;140(3):306–313. doi.org/10.1309/AJCP50N9JHXVNQOD
23. Norma clínica 019/2015 atualizada a 29 de agosto de 2022: “Feixe de Intervenções” para a Prevenção da Infecção Urinária Associada a Cateter Vesical. [Internet]. [cited 2025 Sep 24]. Available from: [https://normas.dgs.min-saude.pt/wp-content/uploads/2015/12/norma\\_019\\_2015\\_atualizada\\_29\\_08\\_2022\\_feixe-de-intervencoes-de-prevencao-de-infecao-urinaria-associada-a-cateter-vesical.pdf](https://normas.dgs.min-saude.pt/wp-content/uploads/2015/12/norma_019_2015_atualizada_29_08_2022_feixe-de-intervencoes-de-prevencao-de-infecao-urinaria-associada-a-cateter-vesical.pdf).



24. Pinto, M., Rodrigues, F., & Silva, A. Preservação de urinas com ácido bórico: revisão da evidência científica. *Revista Portuguesa de Microbiologia*, 2020;16(1), 12–19.
25. Wilson ML, Gaido L. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin Infect Dis*. 2004;38(8):1150–8. doi: 10.1086/383029.
26. Santos, H., Almeida, J., & Correia, C. O papel do ácido bórico na qualidade das uroculturas hospitalares. *Revista Lusitana de Ciências da Saúde*. 2018;15(3), 87–95.
27. Ferreira, A., Costa, L., & Mendes, R. Impacto do ácido bórico na preservação de amostras de urina em transporte não refrigerado. *Acta Médica Portuguesa*. 2021, 34(7–8), 523–530.
28. Kilpatrick, C., Holmes, A., & Moore, L. Boric acid as a urine preservative: a multicentre evaluation in UK hospitals. *Journal of Clinical Pathology*. 2021;74(5), 310–316.
29. Martins, D., Silva, V., & Rocha, R. (2017). Efetividade do ácido bórico na preservação de amostras de urina em hospitais brasileiros. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 53(4), 229–234.
30. Fésüs, A.; Matuz, M.; Papfalvi, E.; Hambalek, H.; Ruzsa, R.; Tánzos, B.; Bácskay, I.; Lekli, I.; Illés, Á.; Benkó, R. Evaluation of the Diagnosis and Antibiotic Prescription Pattern in Patients Hospitalized with Urinary Tract Infections: Single-Center Study from a University-Affiliated Hospital. *Antibiotics* 2023. doi.org/10.3390/antibiotics12121689.
31. McLean KC, Syed M, Pasupathi M, Adler JM, Dunlop WL, Drustrup D, Fivush R, Graci ME, Lilgendahl JP, Lodi-Smith J, McAdams DP, McCoy TP. The empirical structure of narrative identity: The initial Big Three. *J Pers Soc Psychol*. 2020;119(4):920–944. doi: 10.1037/pspp0000247.
32. Olesen MD, Modlinski RM, Poulsen SH, Rosenvinge PM, Rasmussen HH, Holst M. Prevalence of signs of dysphagia and associated risk factors in geriatric patients admitted to an acute medical unit. *Clin Nutr ESPEN*. 2021; 41:208–216. doi: 10.1016/j.clnesp.2020.12.020
33. Larsen, P., Schmidt, C., & Kristensen, B. Short-term validation studies in microbiology: relevance and limitations. *Clinical Microbiology Reviews*. 2020;33(2), e00120–19.
34. Carvalho, J., Gomes, P., & Alves, R. Melhoria da qualidade na colheita de urinas para urocultura em contexto hospitalar. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*. 2019;37(2), 45–52.



## Anexos

### Anexo 1 – Meios de Cultura

Podem ser classificados conforme as condições nutricionais disponíveis no meio e o estado físico no qual se encontram.

Meio de cultura	Tipo de meio	Aplicações
Agar MacConkey	seletivo e diferencial	enterobactérias
Agar Manitol	seletivo e diferencial	identificar bactérias fermentadoras de manitol como a <i>Staphylococcus aureus</i>
Agar SS	seletivo e diferencial	Inibir o crescimento de bactérias Gram positivas para identificação de <i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i>
Agar Sangue	diferencial e enriquecido	promover o crescimento de bactérias que carecem de nutrientes adicionais que são encontrados no sangue. Ex: <i>Streptococcus</i> spp e <i>Staphylococcus</i> spp.
Agar Cled	diferencial	isolar e diferenciar bactérias presentes em amostras de urina. Ex: <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp, <i>Enterobacter</i> spp, <i>Proteus</i> spp, <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Caldo Brain Heart Infusion (BHI)	diferencial e enriquecido	cultivar bactérias fastidiosas ou exigentes. Ex: Enterobactérias, <i>Streptococcus</i> , <i>Pneumococcus</i> , bactérias não fermentadoras, leveduras e fungos
Agar Chocolate	diferencial e enriquecido	cultivar bactérias que necessitam de condições específicas para o seu crescimento. Ex: <i>Neisseria gonorrhoeae</i> e meningitidis, <i>Haemophilus influenzae</i> .



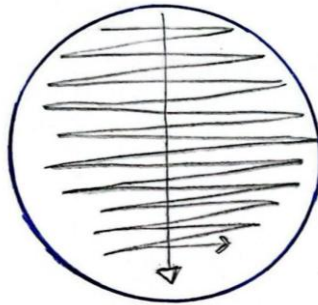
Agar Sabouraud	seletivo ou enriquecido	cultivar fungos e leveduras, possui pH ácido que inibe o crescimento da maioria das bactérias. Ex: dermatophytes
----------------	-------------------------	--

Tipo de meio	Aplicações
Meio seletivo	Atua na inibição do crescimento de microrganismos específicos em detrimento do crescimento de outros, onde são adicionados ao meio substâncias com propriedades inibitórias, assim como sais biliares e azida sódica. (5)
Meio diferencial	Possibilita o crescimento de espécies diferentes, porém o ambiente viabiliza a diferenciação das espécies através da análise de suas características morfológicas ou bioquímicas. (5)
Meio de enriquecimento	É o meio adequado para isolamento de microrganismos com exigência nutricional, uma vez que possibilita o crescimento do microrganismo patógeno mesmo que este se encontre em baixa quantidade, contudo tem baixa seletividade. (5)
Meio sólido	A quantidade de agar presente nesse meio é superior, conferindo ao mesmo uma consistência gelatinosa. (5)
Meio semi-sólido	Tem uma quantidade de agar inferior ao sólido, o que possibilita a dispersão dos microrganismos no meio. (5)
Meio líquido	Seu uso é direcionado para amostras com baixa quantidade de microrganismos disponíveis. (5)

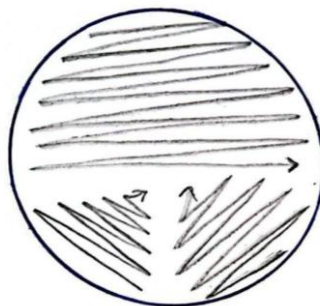


## Anexo 2 – Técnicas de Sementeira

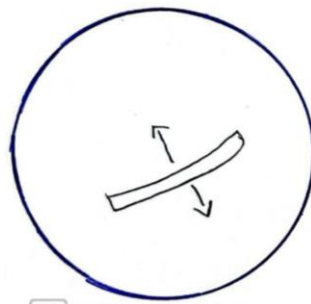
Sementeira quantitativa: tem como finalidade a quantificação do número de colónias (UV=FC). Com o auxílio de uma ansa estéril faz-se a recolha da amostra a ser inoculada, onde é feita um estria longitudinal de cima para baixo. Com movimentos em zig-zag, inicia-se as estrias da parte mais concentrada (superior) até a menos concentrada (inferior).



Sementeira por esgotamento: É realizada para obtenção de colónias isoladas. Com o auxílio de uma ansa estéril faz-se a recolha da amostra a ser inoculada na parte superior no meio de cultura. Em seguida, a partir do concentrado que foi depositado, prossegue-se com estrias em zig-zag em três quadrantes distintos.



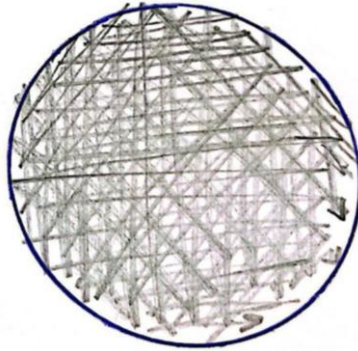
Sementeira por rolamento: consiste em uma técnica semi-quantitativa para pesquisa de microrganismos contidos em cateter central. O cateter é posicionado sob o meio de cultura, onde com o auxílio de uma ansa estéril é realizado movimentos de forma a cobrir toda a superfície do meio.



Sementeira em toalha: realizada com o objetivo de obter uma suspensão bacteriana uniformemente em meio de cultura sólido. Para isso, após realizada a suspensão, deve-se mergulhar a zaragatoa na mesma



e semear toda a extensão do meio de cultura, em tres direções distintas, além de realizar um movimento circular em toda a borda do meio, com o objetivo de selar a placa.










### Anexo 3 – KIT entregue aos utentes





## Anexo 4 - Procedimento de colheita/transferência da amostra

 SÃO JOÃO	Serviço de Patologia Clínica	
<b>UNIDADE COLHEITAS</b>		
<b>Instruções a fornecer ao paciente</b>		
<p>1- Não remova a etiqueta protetora na tampa do recipiente: existe uma agulha sob o rótulo, <b>PERIGO DE PERFURAÇÃO!</b></p>		
		
<p>2- Desenrosque a tampa do contentor. Não coloque as mãos dentro da embalagem ou na tampa.</p>		
		
<p>3- Recolher a primeira urina da manhã ou seguir as indicações do médico. Não urine dentro do compartimento da agulha.</p>		
		
<p>4- Feche o recipiente corretamente, enroscando a tampa. Entregue ao profissional de saúde.</p>		
		
<p> <small>           CENTRO-HISTÓRIAS UNIVERSIDADE DE SÃO JOÃO E.P.C. (Serviço de Patologia Clínica) Versão 2024/1/Rev. 1/30 25.5.2.006 pt4Q/pt4Q/pt4Q/pt4Q/pt4Q/pt4Q            Página 3 de 3            44         </small> </p>		



Serviço de Patologia Clínica

## UNIDADE COLHEITAS

## Instruções a fornecer ao paciente

5- Retire a etiqueta protetora da tampa do recipiente, certifique-se de que não há presença de urina no compartimento da agulha o que poderia gerar salpicos indesejados. Por favor inserir o tubo totalmente.



6- Aguarde até que o tubo atinja o volume correto de urina e depois retire-o do adaptador do contentor. Identifique a amostra com os dados do paciente.



7- Volte a aplicar a etiqueta de proteção na tampa do recipiente. Após utilização descarte contentor



8- No caso de tubo de ensaio com conservante, inverter cuidadosamente 5-8 vezes após a recolha para obter mistura homogênea da urina e conservante.





## Anexo 5 – Questionário entregue aos utentes

## Questionário novo procedimento urinas

1. Qual a sua opinião em relação a este método de recolha de urina?

Mais difícil	Pouco difícil	Igual	Algo mais fácil	Muito mais fácil
--------------	---------------	-------	-----------------	------------------

2. As instruções de recolha estavam claras?

Nada claras	Pouco claras	Igual	Algo mais claras	Muito mais claras
-------------	--------------	-------	------------------	-------------------

3. Teve alguma dificuldade na execução da recolha?

Muita dificuldade	Alguma dificuldade	Igual	Menos dificuldade	Nenhuma dificuldade
-------------------	--------------------	-------	-------------------	---------------------

4. Tem alguma sugestão a fazer?

---

---

---

---

---

---

---

---



## Anexo 6 – Consentimento de cada participante

## CONSENTIMENTO INFORMADO, ESCLARECIDO E LIVRE



SÃO JOÃO

## PARA INVESTIGAÇÃO CLÍNICA

Considerando a "Declaração de Helsínquia" da Associação Médica Mundial (Helsínquia 1964, Tóquio 1975, Viena 1983, Hong Kong 1989, Somerset West 1996, Edimburgo 2000, Seul 2006, Fortaleza 2013)

**Designação do Estudo** (datilografado em português)

Estudo Comparativo entre meio de transporte utilizado para exame microbiológico de urina, com novo meio de transporte com ácido bórico.

Confirmando que expliquei ao participante/representante legal, de forma adequada e compreensível, a investigação referida, os benefícios, os riscos e possíveis complicações associadas à sua realização.

Informação escrita em anexo:  Não  Sim (Nº de páginas \_\_\_\_\_)

**O investigador responsável**

Nome: Wene Jessica Pereira Mendonça ramos Data: 10 / 01 / 2025 Wene Jessica P.M. Ramos  
datilografado assinatura

**Identificação do participante**

Nome: \_\_\_\_\_  
datilografado

BI/CC nº: \_\_\_\_\_

**Participante/Representante legal**

- Compreendi a explicação que me foi facultada acerca do estudo que se tenciona realizar: os objetivos, os métodos, os benefícios previstos, os riscos potenciais, eventual desconforto e política de acesso a registos clínicos.
- Solicitei todas as informações de que necessitei, sabendo que o esclarecimento é fundamental para uma boa decisão.
- Fui informado da possibilidade de livremente recusar ou abandonar a todo o tempo a participação no estudo, sem que isso possa ter como efeito qualquer prejuízo na assistência que me é prestada.
- Declaro não ter sido incluído em nenhum outro projeto de investigação nos últimos três meses.
- Concordo com a participação neste estudo, de acordo com os esclarecimentos que me foram prestados, como consta neste documento, do qual me foi entregue uma cópia.

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
assinatura

Nome (Pais/Representante legal, se aplicável): \_\_\_\_\_

BI/CC nº: \_\_\_\_\_ Grau de parentesco: \_\_\_\_\_  
datilografado



## Anexo 7 – Informação ao participante

Identificação do estudo: Estudo comparativo entre o meio de transporte utilizado para exame microbiológico de urina com novo meio de transporte com ácido bórico.

Investigador responsável: Wene Jessica Pereira Mendonça Ramos: 10230052@ess.ipp.pt

Profissional Elo de Ligação ULS SAO JOÃO: anacm.castro@ulssjoao.min-saude.pt

Encarregado da Proteção de Dados: Dr. Paulo Silva, epd@ulssjoao.min-saude.pt

O estudo intitulado: Estudo comparativo entre o meio de transporte utilizado para exame microbiológico de urina com novo meio de transporte com ácido bórico, tem como objetivo identificar se o novo meio de transporte implementado traz benefícios em relação ao método utilizado anteriormente. Consiste em uma análise comparativa, na qual será observado se há inibição do crescimento bacteriano por contaminação no novo método. Os dados pessoais utilizados serão idade e sexo. Os benefícios consistem em proporcionar aos utentes um método de transporte mais eficaz, a fim de reduzir a necessidade de nova colheita de urina para exame microbiológico, os resultados serão entregues em tempo mais hábil (uma vez que não será necessária uma nova colheita) e consequentemente economia de consumíveis ao hospital. Não há riscos associados, a participação no estudo é voluntária e pode ser interrompida quando o participante decidir, sem que haja qualquer comprometimento em relação ao seu tratamento e relacionamento com seu médico. O profissional Elo de Ligação ULS SÃO JOÃO (anacm.castro@ulssjoao.min-saude.pt) é o seu contacto preferencial, caso exista a necessidade de contacto para esclarecer quaisquer dúvidas, follow-up ou se desejar retirar o consentimento. É garantido a privacidade e confidencialidade dos seus dados pessoais, que serão conservados pelo período de até 1 ano (um ano).

O direito de reclamação à Autoridade de Controlo é assegurado, caso considere que os seus dados não estão a ser objeto de tratamento legítimo, pode, a todo o momento, apresentar uma reclamação junto da autoridade competente, a Comissão Nacional de Proteção de Dados ([www.cnpd.pt](http://www.cnpd.pt)).



**P. PORTO**

ESCOLA  
SUPERIOR  
DE SAÚDE



**M**

**MESTRADO**

ANÁLISES CLÍNICAS E SAÚDE PÚBLICA