



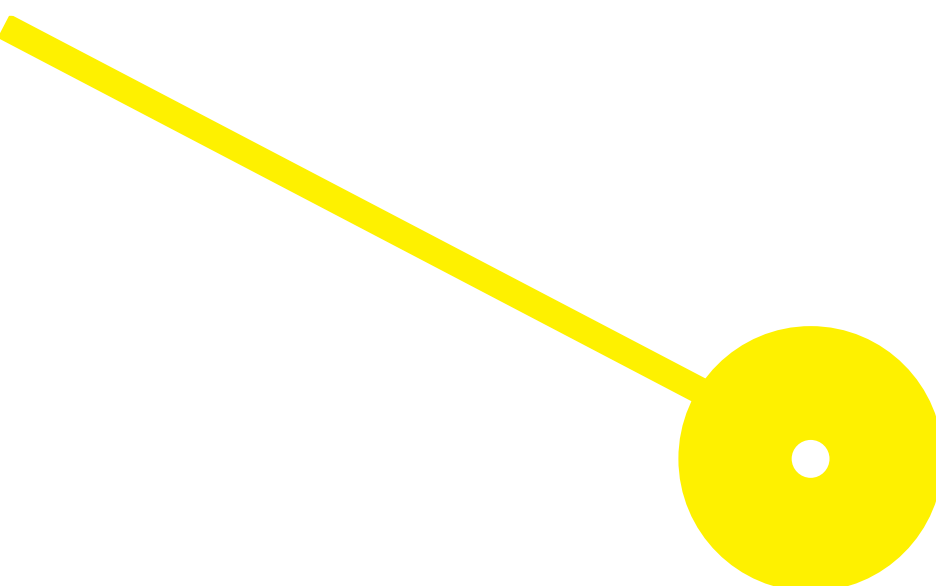
—
MESTRADO

ANÁLISES CLÍNICAS E SAÚDE PÚBLICA

Comparação do desempenho do Sysmex UF-4000 com Urocultura para o diagnóstico de Infeções do Trato Urinário

Ana Sofia Martins Nunes

10/2022





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**



Comparação do desempenho do Sysmex UF-4000 com Urocultura para o diagnóstico de Infeções do Trato Urinário

Autor

Ana Sofia Martins Nunes

Orientadores

Professora Maria de Céu Lamas, Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA),
Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESSIP.Porto)

Dr^a Joana Nery Ramos, Moduslab-Centro de Análises Clínicas

Relatório de Estágio apresentado 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

Primeiramente, queria agradecer à professora Maria do Céu Lamas por toda a ajuda e disponibilidade, foi essencial na realização deste relatório.

À Dra. Joana Ramos do laboratório Moduslab por me ter recebido e acolhido da melhor forma, pelo apoio, disponibilidade e ajuda na integração na equipa do laboratório, foi fundamental durante os 6 meses do meu estágio.

À restante equipa do Moduslab que me recebeu e acolheu dentro da equipa, estando sempre disponíveis para me ajudar e ensinar.

Agradeço também a todos os professores que passaram pela minha formação académica durante este Mestrado e que me transmitiram os seus conhecimentos nas várias disciplinas lecionadas, conhecimentos estes que são um ponto de partida na prática profissional dos alunos.

Às minhas colegas de turma, um agradecimento especial à Márcia, à Andreia e à Rita pelo companheirismo, ajuda e apoio durante estes dois anos.

À minha melhor amiga, Ana Marques, que me acompanhou sempre, em todas as etapas da minha vida ao longo dos últimos 7 anos. Obrigada pela tua amizade, por teres sempre uma palavra de força e apoio nos melhores e piores momentos. Obrigada por estares sempre comigo e pela paciência nos meus piores dias.

Às minhas meninas de Albufeira e Faro, Filipa, Carolina, Fernanda, Inês, Arvela e Beatriz. Obrigada pelas constantes palavras de apoio e por perceberem sempre que não conseguia estar disponível.

À Rita e à Débora, que tornaram estes dois anos ainda mais especiais.

Ao meu namorado, por todo o apoio, força, incentivo, preocupação e amor.

Apesar de terem ficado para o fim, o meu maior obrigado vai para os meus pais, sem os quais nada seria possível. Pelo apoio, força, paciência e amor incondicional, sempre. Sei que as minhas vitórias também são as vossas.

Resumo

O presente relatório descreve as actividades realizadas no estágio curricular, e foi dividido em dois capítulos. O primeiro corresponde à descrição dos setores laboratoriais e equipamentos utilizados na determinação dos parâmetros analíticos, e às competências desenvolvidas. O segundo capítulo corresponde a um estudo caso denominado "Comparação do desempenho do Sysmex UF-4000 com Urocultura para o diagnóstico de Infecções do Trato Urinário". O objetivo foi comparar os resultados obtidos pelo equipamento Sysmex UF-4000 e Urocultura, relativamente ao tipo de bactéria.

Foram analisadas 545 urinas com suspeita de ITU. As amostras foram consideradas positivas pelo Sysmex se valores de densidade bacteriana fossem $\geq 200\mu\text{l}$ e/ou leucócitos $\geq 45\mu\text{l}$ e em cultura, caso o crescimento bacteriano fosse $\geq 10^5$ UFC/mL. Das 545 amostras analisadas, 108 são discordantes. Obteve-se uma sensibilidade= 94%, especificidade=87%, VPN= 97%, VPP= 73% e um Coeficiente de Kappa de Cohen= 0,786. A boa concordância, permite-nos afirmar que a implementação do método automatizado na rotina laboratorial é uma mais-valia na rapidez dos resultados e na diminuição dos exames culturais de urina. No entanto, deverão ser realizados mais estudos para aferir um valor de cut-off de acordo com as variáveis: sexo, idade, patologias e os níveis de contagem de colónias.

Palavras-chave: Infecção do trato Urinário; Urocultura; Bactérias; Sysmex UF-4000

Abstract

This report describes the activities carried out in the curricular internship and is divided into two chapters. The first corresponds to the description of the laboratory sectors and equipment used in the determination of the analytical parameters and the skills developed. The second chapter corresponds to a case study called "Comparison of the performance of Sysmex UF-4000 with Uroculture for the diagnosis of Urinary Tract Infections". The objective was to compare the results obtained by Sysmex UF-4000 and Uroculture regarding the type of bacteria.

A total of 545 urine samples with suspected UTI were examined. Samples were considered positive by Sysmex if bacterial density values were $\geq 200\mu\text{l}$ and/or leukocytes $\geq 45\mu\text{l}$ and in culture if bacterial growth was $\geq 10^4$ CFU/mL. Of the 545 samples analyzed, 108 are discordant. A sensitivity=94%, specificity=87%, NPV=97%, PPV=73% and a Cohen's Kappa Coefficient of 0.786 were obtained. The good agreement allows us to affirm that the implementation of the automated method in the laboratory routine is an asset in the speed of results and in the reduction of urine culture exams. However, further studies should be carried out to determine a cut-off value according to the variables' sex, age, pathologies, and colony count levels.

Keywords: Urinary Tract Infections. Uroculture; Bacteria; Sysmex UF-4000

Índice

Capítulo I – Estágio	11
1. Contextualização do estágio	11
1.1. Caracterização do Laboratório de Análises Clínicas Moduslab	11
1.2. Estrutura Física.....	12
1.3. Aspetos Organizacionais.....	12
1.4. Controlo de Qualidade.....	13
1.4.1. Controlo Interno da Qualidade	13
1.4.2. Controlo Externo da Qualidade.....	13
2. Atividades desenvolvidas.....	14
2.1. Fase Pré-Analítica e colheita de amostras biológicas.....	14
2.1.1. Colheitas de Sangue	14
2.1.2. Colheitas de Urina	15
2.1.3. Triagem de amostras	16
3. Área de Microbiologia	16
3.1. Meios de Cultura.....	16
3.2. Técnicas de Coloração.....	18
3.3. Sistema de Identificação Bacteriana e de Suscetibilidade aos Antibióticos	19
3.3.1. Provas Rápidas de Identificação (Provas Presuntivas).....	19
3.3.2. Provas de identificação definitiva	19
3.3.3. Teste Suscetibilidade aos Antibióticos	20
3.4. Sistema automatizado para análise de Urina Sysmex UF-4000.....	21
3.5. Exame parasitológico das fezes	21
3.6. Pesquisa de Sangue Oculto na fezes.....	22
4. Área de Bioquímica e Imunologia.....	22
4.1. Sistemas automatizados de testes Bioquímicos e Imunoensaios	22
4.1.1. Sysmex UC-3500.....	22
4.1.2. Alinity ci – series	23
4.1.3. Phadia™ 200	24
4.1.4. Minicap®.....	25
4.2. Outras metodologias realizadas: Técnicas de Serologia.....	26
4.2.1. VDRL/RPR.....	26
4.2.2. TPHA.....	27

5. Área de Hematologia e Imunohematologia.....	27
5.1. Área de Hematologia.....	27
5.1.1. HemoGramma.....	27
5.1.2. Velocidade de Sedimentação.....	28
5.1.3. Hemoglobina Glicada.....	29
5.1.4. Provas de Coagulação.....	30
5.2. Área de Imunohematologia.....	31
5.2.1. Determinação de Grupos Sanguíneos.....	31
5.2.2. Testes de Coombs.....	32
6. Fase Pós-Analítica.....	33
Capítulo II – Estudo de Caso: Comparação do desempenho do UF-4000 com Urocultura para o diagnóstico de Infecções do Trato Urinário.....	34
1. Introdução.....	34
2. Objetivo.....	35
3. Materiais e métodos.....	35
3.1. Estudo e Amostra.....	35
3.2. Instrumentos e procedimentos.....	35
3.3. Tratamento e análise de dados.....	36
3.4. Questões éticas.....	36
4. Resultados.....	37
5. Discussão.....	38
5.1. Estágio.....	38
5.2. Estudo de caso.....	39
6. Conclusão.....	42
Referências Bibliográficas.....	44
Anexo.....	50

Lista de Abreviaturas

AFP	Alfa Fetoproteína
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Teste de Sensibilidade aos Antibióticos
AST	Aspartato Aminotransferase
CAN	Gelose CHROMID® Candida
CEA	Antigénio Carcinoembrionário
Cl	Cloro
CNA	Gelose Columbia + 5% de sangue de carneiro
CPSE	Gelose ChromID® CPS® Elite
DHEA	Desidroepiandrosterona
EQAS	External Quality Assessment Service
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FN	Falso Negativo
FP	Falso Positivo
FSH	Hormona Folículo-Estimulante
GGT	Gama Glutamiltransferase
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HEKT	Gelose Hektoen
Ig	Imunoglobulina
ITU	Infeção do Trato Urinário
K ⁺	Potássio
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LH	Lactato Desidrogenase
MCK	Gelose Mac Conkey
Na ⁺	Sódio

NEQAS	National External Quality Assessment Service
NT-proBNP	Péptido Natriurético Cerebral N-terminal
PSA	Antigénio Específico da Próstata
PTH	Paratormona
PVX	Gelose Chocolate PolyViteX
RIQAS	Randox International Quality Assessment Sample
SALM	Gelose chromID® Salmonella Elite
TSH	Hormona Estimulante da Tireoide
VCA 3	Gelose Chocolate PolyViteX™ VCAT3
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo
B-HCG	Hormona Gonadotrofina Coriónica Humana

Índice de Figuras

Figura 1 – Representação de coloração de Gram positivo (A) e Gram negativo (B)	18
Figura 2 – Vitek 2 Compact (BioMérieux).....	20
Figura 3 – Equipamento Sysmex UF-4000 (Kobe, Japan)	21
Figura 4 – Equipamento Sysmex UC-3500 (Kobe, Japan)	22
Figura 5 – Alinity ci series (Abbott).....	24
Figura 6 – Phadia™ 200 (ThermoFisher Scientific).....	25
Figura 7 – Minicap ® (Sebia).....	26
Figura 8 – Advia ® 2120 (Siemens)	28
Figura 9 – Alifax Test 1 BCL	29
Figura 10 – Adams A1C-HA-8160 (Arkray)	29
Figura 11 – Sysmex CA-600 Series.....	30
Figura 12 – Exemplo de determinação de grupo sanguíneo A.	32

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Parâmetros analíticos realizados em amostras de urina.....	15
Tabela 2 - Descrição dos vários meios de cultura usas no laboratório de Microbiologia	17
Tabela 4 -Parâmetros usados na avaliação do desempenho e concordância entre metodologias.	36
Tabela 5 - Resultados do equipamento Sysmex UF-4000 e Urocultura relativamente ao tipo de bactéria.....	37
Tabela 6 - Resultados discordantes	50

Capítulo I – Estágio

1. Contextualização do estágio

O Mestrado de Análises Clínicas e Saúde Pública – Microbiologia e Saúde Pública da Escola Superior Saúde do Instituto Politécnico do Porto integra no segundo ano do plano de estudos, um estágio na área das Análises Clínicas e Saúde Pública. O estágio realizado, decorreu no laboratório Moduslab em Faro, durante 6 meses, com início a 8 de Novembro de 2021 e foi dividido da seguinte forma: três meses na área da Microbiologia, dois meses na área da Bioquímica e Imunologia e um mês na área da Hematologia e Imunohematologia. Este estágio teve como objetivos consolidar todos os conhecimentos adquiridos ao longo do primeiro ano de mestrado, bem como adquirir e consolidar competências profissionais, envolvendo o processamento de amostras, aplicação e interpretação das várias metodologias, os resultados obtidos e validação. Durante o período de estágio acompanhei todo o processamento laboratorial, desde a fase pré-analítica à pós-analítica. Esta última por observação, atendendo que é efetuada apenas por especialistas da área.

O presente relatório encontra-se dividido em duas partes. Na primeira estão descritas todas as atividades efetuadas durante o estágio em cada um dos setores, destacando as várias metodologias/equipamentos utilizados. A segunda parte do relatório destina-se a um estudo de caso que consiste na comparação do desempenho do Sysmex UF-4000 com a análise microbiológica da Urina (Urocultura) para o diagnóstico de Infecções do Trato Urinário (ITU), que consiste numa validação metodológica do método automatizado para análise de urina através do equipamento Sysmex UF-4000 (Kobe, Japan).

1.1. Caracterização do Laboratório de Análises Clínicas Moduslab

O Moduslab – Centro de Análises Clínicas, situado na Rua da PSP, nº22 em Faro, está sob Direção Técnica da Dra. Elsa Nunes, Especialista em Análises Clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos.

O laboratório apresenta instalações bastante acolhedoras e funcionais dotadas de música ambiente e equipado com um sistema de extração e insuflação de ar para renovação constante do ar respirado, de maneira a garantir a satisfação tanto dos clientes como dos funcionários. Possui uma estação de tratamento de águas residuais, onde confluem diretamente os resíduos líquidos dos equipamentos, para promover a homogeneização dos efluentes e o equilíbrio do pH antes de serem lançados na rede de drenagem pública.

Além do laboratório principal localizado em Faro, existem também seis postos de colheita no Algarve, nomeadamente, em Olhão, em Faro (Clínicas Veloso Gomes e Ressonância Magnética), em São Brás de Alportel, Fuseta e, por fim, no Centro Médico de Quarteira.

O laboratório Moduslab pretende dignificar o máximo possível a sua imagem, assim como a de todas as instituições com quem estabelece parcerias, preenchendo elevados padrões de qualidade, assumindo-se como uma empresa caracterizada pela evidência dos seus valores éticos e boas práticas, aumentando a satisfação dos clientes e funcionários. Para que estes objetivos fossem alcançados, após um ano de abertura, o Moduslab concluiu o seu processo de certificação pela Norma NP EN ISO 9001 e pelas Normas para Laboratório Clínico da Ordem dos Farmacêuticos, com foco na melhoria contínua (1).

1.2. Estrutura Física

O laboratório Moduslab contém três setores principais: Microbiologia, Bioquímica e Imunologia e Hematologia e Imunohematologia. O setor de Microbiologia funciona numa sala independente, enquanto os restantes dois estão localizados na sala central, dotados com todos os equipamentos necessários para realização dos parâmetros analíticos. Fazem parte ainda: gabinetes administrativos e de reuniões, receção e sala de espera, três salas de colheitas, sala de lavagem de material e armazém para arrumação do material

1.3. Aspetos Organizacionais

Para prestar um serviço de qualidade que garanta a satisfação de todos os clientes, o Moduslab possui uma equipa técnica qualificada e competente constituída por especialistas em análises clínicas, técnicos superiores de análises clínicas e saúde pública, pessoal auxiliar e administrativo.

Quando é realizada a inscrição de um utente, é emitido um documento com as análises requisitadas e vários elementos de identificação do utente, entre eles o número de inscrição que é único. Esse documento permite aos técnicos de colheitas verificarem quais as análises solicitadas, o tipo de amostra e as condições de colheita adequadas, assim como a identificação do utente. Após a colheita, as amostras seguem para a triagem, onde se dá continuação à fase pré-analítica. Os tubos e frascos de colheita devem chegar à sala de triagem devidamente identificados com o número e código de barras atribuído a cada utente no momento da inscrição. De seguida, as amostras são encaminhadas para os diferentes setores, de acordo com a análise solicitada. Cada análise requisitada bem como o seu resultado fica registada no sistema informático do laboratório, que é posteriormente revisto e validado pelo especialista. Por fim, o boletim analítico é emitido para o doente.

1.4. Controlo de Qualidade

No laboratório Moduslab existe uma grande preocupação no que diz respeito á qualidade dos serviços prestados. O controlo da qualidade tem como objetivo assegurar que todos os resultados obtidos são fidedignos e que cumprem todos os requisitos exigidos (2). O processo de controlo da qualidade inicia-se na fase pré-analítica com a preparação do doente, colheita correta das amostras biológicas bem como o seu transporte e conservação. Na fase analítica, o controlo da qualidade passa pela manutenção adequada dos equipamentos, bem como o controlo e calibração dos sistemas analíticos. Na fase pós-analítica, o controlo da qualidade exige uma cuidadosa validação dos resultados obtidos.

1.4.1. Controlo Interno da Qualidade

O Controlo Interno consiste num registo intralaboatorial que permite avaliar a reprodutibilidade dos resultados, garantindo assim que estes cumprem os requisitos necessários (3). O controlo interno é realizado diariamente em cada equipamento com amostras fornecidas por entidades de referência, de acordo com o fabricante de cada equipamento, antes do processamento das amostras dos doentes. Os resultados do controlo baseiam-se na avaliação das cartas de controlo (cartas de Levey-Jennings) tendo em conta as regras de Westgard. Quando existe alguma não conformidade, procede-se à ação corretiva, que poderá passar por calibrações, verificação da estabilidade de reagentes, entre outras. De seguida é efetuada uma nova corrida de controlo, uma vez que as amostras são apenas processadas após verificar a conformidade de todos os parâmetros analíticos, sendo esta uma medida necessária para uma validação correta dos resultados.

1.4.2. Controlo Externo da Qualidade

O controlo externo da qualidade baseia-se num processo de comparação interlaboratorial que permite avaliar a exatidão dos resultados(3). Todos os setores analíticos do Moduslab participam em programas de controlo externo, tais como: NEQAS, EQAS, RIQAS, entre outros. Os técnicos das respetivas áreas analíticas são informados das datas de receção das amostras a avaliar. As amostras são analisadas nas mesmas condições das amostras dos clientes, e, uma vez terminadas as análises, os resultados são avaliados e encaminhados para a entidade correspondente na data acordada. Após a receção do relatório elaborado por cada uma das entidades, o laboratório avalia e corrige as eventuais não conformidades.

2. Atividades desenvolvidas

2.1. Fase Pré-Analítica e colheita de amostras biológicas

A fase pré-analítica é a etapa mais suscetível a erros que podem influenciar os resultados obtidos em todos os processos analíticos e, por consequência, a decisão clínica a eles associados. Assim, é importante controlar todas as variáveis presentes nesta fase, que se inicia com a solicitação das análises e os diversos fatores relacionados com a preparação do doente (jejum, dieta específica, hora adequada para a colheita, entre outros). Para além disso, é necessário uma correta colheita e identificação das amostras, bem como o seu transporte, processamento e armazenamento.

A colheita de amostras é um dos processos mais importantes num laboratório de análises clínicas, uma vez que qualquer erro pode comprometer a credibilidade dos resultados.

Durante o processo de inscrição do paciente, o sistema informático do laboratório gera um código de barras que permite a identificação do paciente e das respetivas amostras, que ficam associadas ao processo de cada utente. Nas salas de colheitas, os técnicos são responsáveis por confirmar a identificação do paciente, bem como garantir que este cumpriu os requisitos específicos de acordo com as análises solicitadas. Se estão reunidas todas as condições necessárias, procede-se à colheita das amostras, que será feita consoante a natureza do produto biológico.

2.1.1. Colheitas de Sangue

O sangue é o produto biológico mais utilizado em análises clínicas, uma vez que contém a maioria dos analitos estudados.

Após colocar o garrote, para uma melhor deteção da veia, o técnico deve selecionar o local da punção tendo em atenção os seguintes fatores:

- Não selecionar o braço do lado de uma mastectomia,
- Não selecionar um local com várias punções e/ou hematoma
- Não selecionar o braço onde o doente foi sujeito a uma infusão intravenosa.

Nesta fase, é necessário ter em atenção qual os tubos adequados ao tipo de análise solicitada. Os tubos para colheitas de sangue têm tampas de cores diferentes, o que os distinguem na presença ou não de anticoagulantes ou aditivos. O sangue pode ser colhido para tubos secos sem nenhum aditivo, obtendo-se o soro (4,5), utilizado na maior parte das análises bioquímicas e imunológicas ou, então, em tubos com anticoagulante, obtendo-se o plasma após centrifugação, (4,5), que é utilizado em análises hematológicas. Os antiacoagulantes mais comumente utilizados são o EDTA e o citrato de sódio.

Após a escolha adequada dos tubos de colheita de sangue, a zona da punção deve primeiramente ser desinfetada com um spray desinfetante deixando atuar por alguns segundos e, em seguida, retira-se o excesso com algodão ou compressa em movimentos circulares de dentro para fora, num só movimento de forma a não voltar a passar na área já desinfetada. O utente deverá ter o braço esticado e apoiado com a palma da mão virada para cima. O Sistema de colheitas de sangue usado pelo Moduslab é o sistema de vácuo e, por isso, é necessário ajustar o tubo de colheita e aguardar que ele fique cheio para poder ser retirado e substituído pelo próximo, se necessário. O técnico deve então retirar o garrote e, colocar o algodão ou compressa por cima da agulha retirando-a, pressionando cerca de um minuto até ser colocado o penso rápido. O sistema de vácuo deverá ser colocado num contentor próprio para perfurantes.

2.1.2. Colheitas de Urina

A urina é das amostras mais frequentes num laboratório de análises Clínicas. As colheitas são geralmente feitas pelo próprio utente salvo exceções como bebés ou indivíduos imobilizados/acamados, em que são utilizados sacos coletores. Algumas das análises realizadas com amostras de urinas bem como os parâmetros analíticos a determinar estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros analíticos realizados em amostras de urina.

Tipo de análise	Amostra	Parâmetros a analisar
Análise sumária da urina	Primeira urina manhã, jato médio. Urina ocasional, jato médio.	Densidade, cor, turvação, glicose, pigmentos biliares, proteínas, pH, hemoglobina, cetonas, urobilinogénio, nitritos e esterase leucocitária. Eritrócitos, presença de cristais, cilindros, células epiteliais, muco e esperma,
Análise microbiológica da urina	Urina jato médio após higienização da zona urovaginal	Densidade bacteriana e de leveduras, concentração de leucócitos.
Urina de 24h	Urina recolhida ao longo do dia	Creatinina, Taxa de Filtração Glomerular, Ureia, Ácido Úrico, Microalbuminúria, Sódio, Cálcio, Potássio

2.1.3. Triagem de amostras

Todas as amostras que chegam ao laboratório passam pela sala da triagem, onde são rececionadas e registadas no sistema informático pelo técnico responsável. Neste setor, é verificada a qualidade das amostras e se estas cumprem todos os requisitos para prosseguir para a fase analítica. Alguns dos critérios de rejeição de amostras implementados são:

- Amostras não identificadas
- Amostras hemolisadas (caso possa interferir com o resultado da análise requisitada)
- Amostras com volume incorreto
- Amostras colhidas em tubos ou materiais inadequados
- Condições de transporte e/ou armazenamento incorreto

Após verificar estes parâmetros, as amostras são centrifugadas, quando necessário, e distribuídas pelos diferentes setores, de acordo com as análises solicitadas.

3. Área de Microbiologia

No sector da Microbiologia são realizadas análises bacteriológicas, parasitológicas e micológicas. Os produtos biológicos mais comuns analisados são a expectoração, urina, fezes, exsudados (vaginais, uretrais, purulentos) e esperma. Apesar de grande parte do trabalho realizado neste setor ser efetuado manualmente (sementeiras, preparação de amostras para análise microscópica e colorações) existem dois equipamentos automatizados – o Vitek2, para a identificação de microrganismos presentes em cultura e o Sysmex UF-4000 para análise de urinas. Serão abordados os meios, testes e equipamentos utilizados ao longo do estágio no setor da Microbiologia, de acordo com o estipulado para cada produto biológico.

3.1. Meios de Cultura

Durante o estágio foram utilizados vários meios de cultura descritos na Tabela 2 que permitiram uma rápida e fácil identificação presuntiva dos microrganismos presentes nos mais diversos tipos de produtos biológicos.

Tabela 2 – Descrição dos vários meios de cultura usas no laboratório de Microbiologia (6)




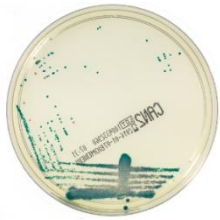
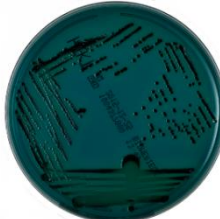

Meio de Cultura	Descrição	Aplicações
 <p>Gelose ChromID® CPS® Elite (CPSE)</p>	<p>O CPSE é um meio de cultura cromogénico. Permite a identificação direta da <i>Escherichia coli</i>, uma vez que esta adquire uma coloração vermelha-roxa.</p>	<p>Isolamento, contagem e identificação de bactérias na urina. Identificação presuntiva das seguintes espécies bacterianas ou géneros: <i>Enterococcus</i>; <i>Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Serratia</i>, <i>Citrobacter</i> (KESC); <i>Proteus</i>, <i>Providencia</i>, <i>Morganella</i> (Proteeae).</p>
 <p>Gelose Mac Conkey (MCK)</p>	<p>O MKC permite o isolamento seletivo de Enterobactérias. Ajuda na deteção de microrganismos fermentadores de lactose que produzem colónias cor-de-rosa a Vermelho, ao contrário dos não fermentadores que produzem colónias incolores.</p>	<p>Útil no estudo de vários produtos biológicos como esperma, exsudados genitais e purulentos e expeturação.</p>
 <p>Gelose Columbia + 5% de sangue de carneiro (CNA)</p>	<p>O meio de cultura CNA é um meio seletivo para bactérias gram-positivas particularmente exigentes como <i>Streptococcus</i> e <i>Listeria</i> permitindo também a deteção de hemólise.</p>	<p>Útil em produtos biológicos como: exsudados genitais, purulentos, faríngeos e nasais, expetoração e esperma.</p>
 <p>GeloseChocolate PolyViteX (PVX)</p>	<p>O PVX é um meio de cultura utilizado para isolamento de bactérias exigentes como é o caso de <i>Neisseria</i>, <i>Haemophilus</i> e <i>Streptococcus pneumoniae</i>. É enriquecido com fatores X (Hemina) e V (NAD).</p>	<p>Útil em produtos biológicos como: Exsudados genitais, purulentos e faríngeos, esperma e expectoração.</p>
 <p>Gelose Chocolate PolyViteX™ VCAT3 (VCA3)</p>	<p>O meio de cultura VCA, à semelhança do PVX, é composto por uma base nutritive e enriquecida com os fatores X e V, sendo um meio de isolamento seletivo de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> e <i>Neisseria meningitidis</i>.</p>	<p>É usado em amostras genitais (exsudados e esperma), e pode também ser usado em exsudados faríngeos caso seja especificamente requisitada a pesquisa de <i>Neisseria</i>.</p>

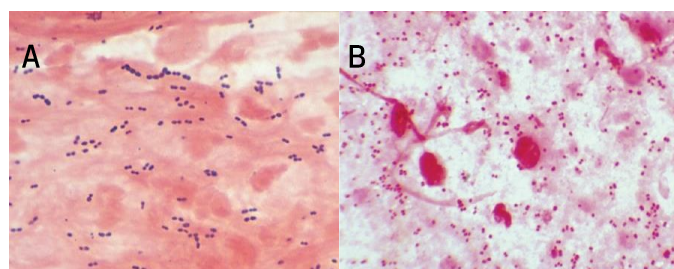
Tabela 3 – Descrição dos vários meios de cultura usas no laboratório de Microbiologia (6)(Cont.)

Meio de Cultura	Descrição	Aplicações
 <p>Gelose CHROMID® Candida (CAN2)</p>	<p>CAN é um meio de cultura cromogénico que permite o isolamento seletivo de leveduras e a identificação direta de <i>Candida albicans</i>, que produz colónias azuis.</p>	<p>Útil no isolamento de leveduras a partir de exsudados genitas, faríngeos, nasais e purulentos, esperma, expectoração, urina e fezes.</p>
 <p>Gelose Hektoen (HEKT)</p>	<p>Hektoen é um meio de cultura que permite o isolamento seletivo de <i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i>. Colónias de cor verde a verde-azulado com ou sem centro preto (produtores de H₂S) é uma indicação da presença de uma destas bactérias.</p>	<p>Útil no isolamento de <i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i> presentes em fezes.</p>
 <p>Gelose chromID® Salmonella Elite (SALM)</p>	<p>O meio de cultura cromogénico para o isolamento seletivo de <i>Salmonella</i>, uma vez que esta, quando presente, produz colónias roxas. Antes de isolar a amostra no meio é necessário o enriquecimento em caldo de Selenito F, que favorece o crescimento de estirpes de <i>Salmonella</i>.</p>	<p>Útil no isolamento seletivo de <i>Salmonella</i> a partir de amostras de fezes.</p>

3.2. Técnicas de Coloração

Foram executados esfregaços de vários produtos biológicos e posterior coloração pelo método de Gram.

A coloração de Gram permite diferenciar bactérias Gram positivo de bactérias Gram negativo, baseando-se na diferença da composição química das paredes bacterianas. As bactérias Gram positivo possuem uma camada espessa de peptidoglicano enquanto as bactérias Gram negativo têm uma camada mais fina



de peptidoglicano e uma membrana externa adjacente. Desta forma, as bactérias Gram positivo, conseguem reter o primeiro corante – cristal violeta, e por isso adquirem uma coloração roxa (Figura 1A).

Figura 1 – Representação de coloração de Gram positivo (A) e Gram negativo (B)

Por outro lado, as bactérias Gram negativo, uma vez que têm uma camada menos espessa de peptidoglicano, são facilmente descoradas pelo álcool/acetona, e por isso, adquirem uma coloração rosa (Figura 1B), proveniente do segundo corante – Fucsina (7).

3.3. Sistema de Identificação Bacteriana e de Susceptibilidade aos Antibióticos

3.3.1. Provas Rápidas de Identificação (Provas Presuntivas)

Para efeito de identificação do agente etiológico, é possível realizar provas de identificação rápida que permitem diferenciar de forma preliminar qual a bactéria presente em cultura. Neste âmbito foram realizados:

- **Teste da Catalase**

Este teste baseia-se em verificar a presença da enzima catalase, que hidrolisa o peróxido de hidrogénio em água e oxigénio, o que permite a distinção entre *Staphylococcus spp.* (Catalase positivo) e *Streptococcus spp.* e *Enterococcus spp.* (Catalase negativo) (7).

- **Teste da Coagulase**

Este teste permite diferenciar a bactéria *Staphylococcus aureus* de outros cocos Gram positivos. A conversão de fibrinogénio em fibrina possibilita a visualização de uma aglutinação, que indica a presença de *S. aureus* coagulase positivo (7)

- **Teste da Oxidase**

Este teste é útil na identificação de bactérias que contêm a enzima oxidase. O aparecimento de uma coloração purpura dá indicação da presença de bactérias oxidase positivas como bactérias do género *Neisseria* e *Pseudomonas*, o que permite distinguir das bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, que pelo contrário, não adquirem uma cor roxa e, por isso, são classificadas como oxidase negativo (7).

3.3.2. Provas de identificação definitiva

Para identificar a espécie do microrganismo presente, usa-se o sistema Vitek2 compact (Figura 2). Este é um importante equipamento nos laboratórios de Microbiologia, por permitir não só a identificação de microrganismos, mas também realizar os respetivos testes de suscetibilidade aos antibióticos.

Antes da sua utilização, é importante saber que tipo de bactéria está presente em cultura, uma vez que o Vitek usa diferentes cartas de identificação (ID), que contêm substratos que permitem medir várias atividades metabólicas e o crescimento microbiano na presença de certas substâncias (8,9), e cartas AST

que possuem antibióticos e que permite ao equipamento registrar a concentração mínima inibitória para cada fármaco(9,10). Para isto, o equipamento usa um sistema ótico com diferentes comprimentos de onda no espectro visível, realizando técnicas turbidimétricas e colorimétricas (8,10). As cartas de Vitek usadas foram as seguintes:

- Cartas de Identificação de Gram Negativo (GN)
- Carta AST N359 – Carta de antibioGramas para determinação da sensibilidade de bacilos Gram negativo aeróbios com significado clínico.
- Carta AST N373 – Carta de antibioGramas para determinação da sensibilidade de bacilos Gram negativo aeróbios não fermentadores com significado clínico.
- Cartas de identificação Gram Positivo (GP)
- Carta AST P586 – Carta de antibioGramas para determinação da sensibilidade de *Enterococcus spp.*, e *Streptococcus* β -hemolíticos
- Carta AST P648 – Carta de antibioGramas para *Staphylococcus*
- Carta AST ST03 – Carta de antibioGramas para determinação da sensibilidade de *S. pneumoniae*, *Streptococcus* β -hemolíticos e *viridans*

Depois, é necessário preparar uma suspensão bacteriana a partir das colônias puras obtidas em cultura, sendo que, a turbidez da suspensão deve ser ajustada, numa escala entre 0.5 a 2.20 McFarland dependendo do microrganismo, usando um medidor adequado (8,9) Posteriormente, a suspensão é colocada no equipamento juntamente com as cartas adequadas. Após o período de incubação, O Vitek compara os resultados com uma base de dados, tentando encontrar um microrganismo com o mesmo padrão de resultados. Caso não seja possível, indica uma lista possível de microrganismos ou a impossibilidade de identificação (8).



Figura 2 – Vitek 2 Compact (BioMérieux)(11)

3.3.3. Teste Suscetibilidade aos Antibióticos

Para a preparação das cartas de sensibilidade aos antibióticos é necessário preparar uma suspensão bacteriana a partir de colônias puras em 3mL de solução salina, com uma turvação equivalente a 0,5 McFarland. O equipamento Vitek 2 Compact determina o valor da concentração mínima inibitória para

cada antibiótico e interpreta os resultados de acordo com as normas EUCAST, identificando se a bactéria é resistente ou sensível a cada fármaco testado.

3.4. Sistema automatizado para análise de Urina Sysmex UF-4000

O laboratório Moduslab possui um citômetro de fluxo da gama UF, Sysmex UF-4000 (Kobe, Japan) (Figura 3). Este equipamento utiliza a citometria de fluxo de fluorescência que consiste em fazer incidir uma luz laser em partículas como as células, medindo a luz difusa e a fluorescência resultantes para determinar as características dessas partículas (12), tais como: bactérias, glóbulos vermelhos, glóbulos brancos, células epiteliais, leveduras e cilindros (12,13). Para isso, usa um laser semiconductor azul com um comprimento de onda de 488 nm (14-16) e dois canais de análise diferentes: canal de superfície – Analisa partículas de urina que não contêm ácido nucleico (como glóbulos vermelhos, cristais e cilindros) e o canal central – analisa partículas de urina que contêm ácido nucleico (como leucócitos, células epiteliais e bactérias) (13-15).



A citometria de fluxo classifica partículas/células de acordo com a análise de: a) Luz dispersa frontal, indicando o tamanho e o comprimento das partículas; b) Luz dispersa lateral, que fornece informações sobre o conteúdo celular como núcleo e grânulos; c) Luz fluorescente lateral, que indica a quantidade de DNA e RNA presente nas células e, por fim, d) Luz despolarizada lateral (DSS), que indica a magnitude de birrefringência das partículas (12,15-18). O controle de qualidade do Sysmex UF-4000 foi realizado diariamente alternando os dois níveis de controle.

Figura 3 - Equipamento Sysmex UF-4000 (Kobe, Japan) (12)

3.5. Exame parasitológico das fezes

Esta análise é feita usando o método de concentração de Richie, que permite concentrar as várias estruturas parasitárias num sedimento, após centrifugação, que é posteriormente sujeito a avaliação por microscopia ótica utilizando como corante uma solução de lugol (19,20). O exame microscópico para avaliação da presença de ovos, quistos ou outras formas parasitárias é efetuado pelo especialista responsável.

3.6. Pesquisa de Sangue Oculto na fezes

O teste de pesquisa de sangue oculto nas fezes é usado como triagem para cancro colorretal e de outros problemas gastrointestinais que podem originar sangue nas fezes, como úlceras, pólipos, entre outros. No Moduslab, este exame é realizado recorrendo ao kit One Strep Rapid Test (Healgen), um teste que deteta baixos níveis de hemoglobina (até 50 ng/ml), baseado num método imunocromatográfico que usa o ensaio de sandwich de anticorpo duplo (21). Para a realização desta análise, é geralmente solicitada ao utente amostras de fezes de três dias consecutivos de modo a aumentar a sensibilidade do rastreio. Esta análise é realizada no setor da Microbiologia uma vez que este composto por uma sala independente que se destina às análises de fezes, evitando contaminações entre produtos biológicos.

4. Área de Bioquímica e Imunologia

Para determinar parâmetros analíticos relativos ao setor da Bioquímica e Imunologia, este é composto por vários equipamentos automatizados. Fazem parte desta área os equipamentos: Sysmex UC-3500, Alinity ci-series, Phadia™ 200 e Minicap®.

4.1. Sistemas automatizados de testes Bioquímicos e Imunoensaios

4.1.1. Sysmex UC-3500

Para a análise sumária da urina foi utilizado o equipamento automatizado Sysmex UC-3500 (Kobe, Japan) (Figura 4), que permite avaliar os parâmetros: urobilinogénio, sangue, proteínas, glucose, corpos cetónicos, bilirrubina, nitrito, leucócitos, pH, creatinina, albumina, proporção proteínas/creatinina, proporção albumina/creatinina e gravidade específica. Para isso, o Sysmex UC-3500 distribui gotas da amostra pelas “almofadas” presentes nas tiras teste, que são escaneadas por um sensor semiconductor de óxido de metal complementar para efetuar as medições de cor, usando métodos de fotometria por refletância e refratometria (22,23).

Após a análise pelo equipamento, o especialista responsável avalia os resultados e, caso necessário, é realizado o sedimento urinário e analisado ao microscópio pelo especialista.



Figura 4 – Equipamento Sysmex UC-3500 (Kobe, Japan) (23)

4.1.2. Alinity ci – series

O equipamento Alinity ci –series (Abbott) (Figura 5) compreende dois módulos distintos: um módulo da Bioquímica e um módulo de imunoenaios.

Relativamente ao módulo da Bioquímica (Alinity c), este utiliza a tecnologia de deteção fotométrica, medindo a absorvância das amostras para quantificação da concentração do analito em questão, e a deteção potenciométrica para medir o potencial elétrico das amostra (24). Neste módulo é possível determinar os seguintes parâmetros:

- **K⁺, Cl⁻, Na⁺** – Doseamento de iões/IonoGramma
- **Cálcio, Magnésio e Fósforo** – Metabolismo Mineral-Ósseo
- **HDL, LDL, Colesterol total e Triglicéridos** – Metabolismo dos Lípidos
- **Ureia, Creatinina, Ácido Úrico e Microalbuminúria** – Função Renal
- **Bilirrubina total e direta, Fosfatase Alcalina, LDH, AST, ALT e GGT** – Função Hepato-Biliar
- **Amilase** – Função Pancreática
- **Creatina Cinase** – Marcador de Lise Muscular
- **Ferro, Ferritina, Transferrina e capacidade total de fixação do ferro** – Metabolismo do Ferro
- **Proteína C-reativa e Fator Reumatóide** – Marcadores de Inflamação
- **IgA, IgG e IgM** – Imunoglobulinas

O controlo de qualidade interno é realizado diariamente, utilizando 2 ou 3 níveis de controlo alternados, dependendo do parâmetro.

O módulo de Imunologia (Alinity i) utiliza o método de imunoenensaio quimioluminescente com micropartículas – usado para determinar a presença de antigénios, anticorpos e outros analitos nas amostras (24). Neste módulo foi possível determinar os seguintes parâmetros:

- **AFP, PSA livre e total, CA 125, CA 15-3, CA 19-9 e CEA** – Marcadores Tumorais
- **T4 livre e total, T3 livre e total e TSH** – Marcadores da função tiroideia
- **Vitamina B12 e Folato** – Marcadores Metabólicos
- **FSH, LH, Prolactina, Testosterona, Progesterona, Insulina, Cortisol, DHEA, Estradiol, β hCG e PTH** – Marcadores hormonais

- **Hepatite B (anti-HBs, HBsAg), Hepatite C (anti-HCV), Rubéola (IgM e IgG), Citomegalovírus (IgM e IgG), Toxoplasma (IgM e IgG), Sars-CoV-2 (IgM e IgG) e HIV (Antigénio e anticorpo) –** Marcadores de doenças infecciosas
- **NT-proBNP** – Marcador de insuficiência cardíaca
- Outros parâmetros: **Vitamina D, Péptido C e Homocisteína**



Figura5 - Alinity ci series (Abbott)(25)

O controlo de qualidade é realizado diariamente com um a três níveis de controlo alternados, dependendo do parâmetro.

4.1.3. Phadia™ 200

Phadia™ 200 (ThermoFisher Scientific) (Figura 6) é um equipamento automatizado utilizado no diagnóstico de alergologia e autoimunidade.

Para o diagnóstico de alergias é usado o métodos de imunoensaios fluoroenzimático, que deteta a presença de anticorpos IgE específicos, que é considerado o teste de identificação especificado alergénio responsável pela sintomatologia alérgica (26–28). As determinações analíticas efetuadas foram as seguintes:

- **IgE total** – Útil em pacientes que sofrem de asma, rinite ou dermatite atópica devido a alergia. Casos em que a concentração de IgE total pode estar elevada (29).
- **IgE específico** – Ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Lepidoglyphus destructor*, *Blomia tropicalis*), *Olea europaea* (oliveira), *Phleum pratense* (Planta), Ovo, *Ostrea edulis* (Ostra), *Persea americana* (abacate), *Apis mellifera* (abelha), Caspa e pêlo de cão, caspa e pêlo de gato, leite de vaca, trigo, entre outros.
- **Phadiatop e Phadiatop infant** – Árvores, Ervas Infestantes, Gramíneas, Frutos, fungos e cereais.

Para o diagnóstico da autoimunidade, é utilizada a metodologia Elia™ que mede um anticorpo IgG específico (26)(30). No Moduslab este método é utilizado na deteção de anticorpos antitiroideos, nomeadamente:

- **Anticorpos antitireoide peroxidase (anti-TPO):** marcador sorológico para o diagnóstico de tireoidite de Hashimoto (30–32).
- **Anticorpos anti-tiroglobulina (anti-TG):** Essencial e de grande sensibilidade no seguimento dos pacientes com cancro da tiróide. Maioritariamente detetado em conjunto com anti-TPO, no entanto, os pacientes podem ser positivos para anti-TPO, mas negativos para anti-TG ou vice-versa(30–32).

Apesar do controlo de qualidade deste equipamento não ter feito parte das minhas atividades desenvolvidas, o mesmo é realizado com um nível de controlo por técnica/dia de trabalho, alternadamente, e com dois níveis de controlo de curva em cada dia de trabalho.



Figura 6 – Phadia™ 200 (ThermoFisher Scientific)(33)

4.1.4. Minicap ®

O analisador Minicap ® (Sebia) (Figura 7) consiste num sistema automatizado de eletroforese capilar que permite realizar eletroforeses de proteínas e de hemoglobinas.

- **Eletroforese de Proteínas**

A análise da eletroforese de proteínas permite diagnosticar doenças como mieloma múltiplo e outras doenças associadas a proteínas séricas (34–37) A eletroforese separa as proteínas séricas em 6 frações diferentes (Albumina, α_1 -globulina, α_2 -globulina, β_1 -globulina, β_2 -globulina, e γ -globulina) de acordo com as suas propriedades físicas gerando um gráfico , permitindo analisar as bandas obtidas e verificar a existência de padrões associados com diversas patologias, de acordo com as alterações visualizadas(34–37)

- **Eletroforese de Hemoglobinas**

A eletroforese de hemoglobinas é uma análise que permite a separação das hemoglobinas normais A (2 cadeias α e duas cadeias β), F (duas cadeias α e duas cadeias γ) e A2 (duas cadeias α e duas cadeias δ) utilizando o método da eletroforese capilar em solução livre, onde as moléculas carregadas eletricamente são separadas em capilares de silício e são detetadas a um comprimento de onda de 415nm, específico

para hemoglobinas (38,39). A deteção de possíveis padrões anormais é efetuada através da visualização dos diaGramas eletroforéticos resultantes. As irregularidades qualitativas resultantes são denominadas de hemoglobinopatias, onde existe a substituição por mutação de um aminoácido num dos quatro tipos de cadeias polipeptídicas, e as quantitativas são denominadas de talassemias, provocadas por uma diminuição na síntese de uma das cadeias de hemoglobina (38–40).

O controlo de qualidade deste equipamento não fez parte das minhas atividades desenvolvidas durante o estágio, no entanto é realizado com um nível de controlo em cada dia de trabalho, em ambas as análises.



Figura 7 - Minicap © (Sebia)(41)

4.2. Outras metodologias realizadas: Técnicas de Serologia

O diagnóstico serológico da sífilis é realizado no setor da química/imunologia. As análises realizadas para o diagnóstico da sífilis são realizadas neste setor uma vez que este era composto por uma bancada destinada às análises manuais realizadas com soro, desta forma são evitadas contaminações.

A sífilis é uma doença transmissível por via sexual ou vertical, provocada pelo *Treponema pallidum* (42,43). Como ainda hoje, a bactéria não é cultivável, o diagnóstico laboratorial desta doença pode ser feito através das seguintes análises (implementadas no Moduslab):

4.2.1. VDRL/RPR

O VDRL e o RPR são testes de rastreio serológicos manuais inespecíficos designados não-treponémicos que detetam a presença de anticorpos IgM e IgG contra material lipídico libertado por células hospedeiras infetadas, bem como material semelhante a lipoproteínas e cardioplipina libertada pela bactéria *T. pallidum* (44–46). Ambos os testes detetam a floculação dos antígenos lipídicos através do soro de indivíduos afetados. No entanto, o teste RPR ao contrário do VDRL, é um teste de microfloculação que utiliza partículas de carvão ativado para fixar os antígenos e, desta forma, a reação de aglutinação é visível a olho nu (42,44–46).

Entre estes dois testes o VDRL foi o único que realizei durante o meu estágio, sendo também o mais requisitado pelos pacientes do Moduslab.

O seu controlo de qualidade é realizado aquando da abertura de um novo lote, com a amostras controlo presente no kit do teste.

4.2.2. TPHA

O TPHA é um teste treponémico que utiliza antigénios da bactéria e *T. pallidum*, por isso, é um teste mais específico que os não-treponémicos. Este teste consiste na hemaglutinação passiva que deteta anticorpos anti-treponémicos no soro, utilizando glóbulos vermelhos sensibilizados com *T.pallidum* que se agregam quando expostos ao soro de pacientes infetados, causando aglutinação (42,45).

O controlo de qualidade deste teste é feito aquando da abertura de um novo lote com a amostra controlo proveniente do kit do teste.

5. Área de Hematologia e Imunohematologia

Neste sector são realizadas diversas análises bastante requisitadas pelos pacientes como é o caso do hemoGramas, velocidade de sedimentação, provas de coagulação e hemoglobina glicada. Para isso, dentro deste setor estão presentes os seguintes equipamentos: Advia ® 2120, Alifax Test 1 BCL, Adams A1C-HA-8160 e Adams A1C-HA-8160.

5.1. Área de Hematologia

5.1.1. HemoGramas

O hemoGramas é das análises mais solicitadas no Moduslab, uma vez que permite fazer uma triagem de várias patologias associadas com os constituintes do sangue.

No Moduslab, é no equipamento Advia ® 2120 (Siemens) (Figura 10) que se realizam os hemoGramas. Consiste num Sistema automatizado de citometria que utiliza amostras de sangue total para determinar o número de eritrócitos, leucócitos e plaquetas, assim como os parâmetros relacionados com os com os mesmos (47–50):

- **EritroGramas** – Hematócrito, Concentração de Hemoglobina, Número de Glóbulos Vermelhos Circulantes e Índices Eritrocitários (Volume Globular Médio, Hemoglobina Globular Média, Concentração de Hemoglobina Globular Média e Coeficiente de Dispersão Eritrocitária (RDW));

- **LeucoGrama** – Contagem Total de Glóbulos Brancos e respetiva Fórmula Leucocitária (Neutrófilos, Eosinófilos, Basófilos, Linfócitos e Monócitos);
- **Contagem de Plaquetas** – número de plaquetas, plaquetócrito e dois índices plaquetários: volume Plaquetário Médio (VPM) e o Coeficiente de Dispersão Plaquetária (PDW, do inglês, Platelet Distribution Width).

Sempre que as contagens efetuadas de modo automático emitem alarmes, são realizados os esfregaços do sangue periférico utilizando a coloração Wright-Giemsa, que permite a contagem diferencial dos elementos da série leucocitária e o estudo morfológico das séries eritrocitária, leucocitária e trombocítica.

O controlo de qualidade deste equipamento não fez parte das minhas atividades desenvolvidas, no entanto, é realizado alternadamente, um nível da amostra de sangue controlo por dia.



Figura 8 - Advia @ 2120 (Siemens)(51).

5.1.2. Velocidade de Sedimentação

No Moduslab, a velocidade de sedimentação é analisada em amostras de sangue total com EDTA e corresponde à distância, em milímetros, de sedimentação dos eritrócitos durante uma hora, de acordo com o método de Westergren em que o resultado é expresso em mm/h (50,52–54). Para medir a VS é utilizado o equipamento Alifax Test 1 BCL (Figura 9) que determina a sedimentação por fotometria capilar de fluxo (53,54)

A tendência para a sedimentação mais rápida dos eritrócitos é um indicador de inflamação e pode estar relacionada com vários tipos de estados patológicos, normalmente relacionado ao aumento do fibrinogénio e outras proteínas de fase aguda no plasma, bem como alterações na forma e quantidade dos eritrócitos, que também pode ser uma causa de VS aumentada (4,50).

O controlo de qualidade deste equipamento não fez parte das minhas atividades durante o período de estágio, no entanto, é realizado diariamente com dois níveis de controlo.



Figura 9 – Alifax Test 1 BCL (54)

5.1.3. Hemoglobina Glicada

A hemoglobina glicada (HbA_{1c}) corresponde a uma molécula de hemoglobina ligada covalentemente a uma molécula de glucose e a sua concentração no sangue depende do tempo de vida dos Eritrócitos (55). Uma vez que a concentração de HbA_{1c} é proporcional à concentração de glucose no sangue e que a sua determinação fornece um índice dos níveis médios de glucose sanguínea. Esta análise é útil na avaliação do controlo glicémico e por consequência, no diagnóstico de diabetes (4,55).

A HbA_{1c} é determinada no equipamento Adams A1C-HA-8160 (Arkray) (Figura 10) através dos métodos de cromatografia líquida de alto rendimento (HPLC) (4,55,56), situado neste setor.

O controlo de qualidade deste equipamento é realizado diariamente com um nível de controlo, alternado. No entanto, não fez parte das minhas atividades durante o período de estágio.



Figura 10 – Adams A1C-HA-8160 (Arkray) (57)

5.1.4. Provas de Coagulação

Os parâmetros analíticos para avaliar a coagulação, medidos em amostras de plasma, foram realizados no equipamento Sysmex CA-600 Series (Figura 11) que emprega métodos de detecção ótica (58). Os parâmetros analisados são: tempo de Protrombina, tempo de Trombina e Fibrinogénio.



Figura 11 – Sysmex CA-600 Series (59)

- **Tempo de Protrombina**

O tempo de Protrombina refere-se ao tempo que demora até à coagulação do plasma recalcificado na presença de concentrações ótimas de tromboplastina(4,50,60). A análise ao tempo de protrombina indica a eficiência do sistema de coagulação extrínseco que envolve os fatores II, V, VII, X e o fibrinogénio (4,50,60,61). O Tempo de protrombina ajuda na monitorização da deficiência da vitamina K, função hepática e terapia anticoagulante oral a longo prazo (4,60,61).

- **Tempo de Trombina**

O tempo de Trombina permite avaliar a última fase da coagulação (Via comum), onde o fibrinogénio é convertido a fibrina(4,50,60,62). Para avaliar o tempo de trombina, esta é adicionada ao plasma e o tempo de coagulação é medido, podendo este ser afetado pela concentração e reação do fibrinogénio e pela presença de substâncias inibidoras, incluindo os produtos de degradação do fibrinogénio e heparina(4,50,60,62).

- **Fibrinogénio**

O fibrinogénio (fator I) é uma glicoproteína sintetizada no fígado que, sob a ação da trombina, pode ser sintetizado em fibrina, formando um coágulo(50,60,62). Para dosear o fibrinogénio é necessário diluí-lo numa solução de grandes concentrações de trombina e o tempo de coagulação medido é comparado com uma curva padrão, que indica a concentração de fibrinogénio presente na amostra (50,60). Alterações nos

níveis de fibrinogénio podem se indicativos de trombose e doenças hepáticas como a disfibrinogenemia(4,60).

O controlo de qualidade deste equipamento não fez parte das minhas competências, no entanto, é realizado diariamente com dois níveis de controlo.

5.2. Área de Imunohematologia

5.2.1. Determinação de Grupos Sanguíneos

O sangue de cada indivíduo pode ser classificado de acordo com a presença de determinados antígenos nos glóbulos vermelhos(50). A análise para determinação dos grupos sanguíneos foi efetuada de modo manual através de um kit (Immucor), por aglutinação. e esta informação é essencial em casos de, por exemplo, transfusões sanguíneas e doações de sangue (50,63). As determinações basearam-se nos dois sistemas principais de classificação do grupo sanguíneo:

- **Sistema ABO**

O Sistema ABO é definido pela presença de um antígeno A (grupo A), um antígeno B (grupo B), u antígenos A e um antígeno B (grupo AB), nenhum antígeno (grupo O) e pelos anticorpos naturais anti-A e anti- B, que correspondem ao antígeno ausente nos eritrócitos. Desta forma, quando os dois antígenos estão presentes, o soro não contém nenhum anticorpo. A fenotipagem do grupo ABO consiste na prova direta (ou globular) e na prova reversa (ou sérica) (63,64). Na prova direta é analisada por aglutinação uma suspensão eritrocitária do paciente com antissoros conhecidos anti-A, anti-B e anti-AB presentes no kit (Figura 12) (63,64). Na prova reversa é analisada a presença dos anticorpos anti-A e anti-B presentes no plasma da amostra com a ajuda de células conhecidas A1, A2, B e O (63,64). O grupo ABO só pode ser definido se existir concordância entre os resultados destas duas provas. Desta forma, caso sejam concordantes, é possível classificar o sangue em quatro grupos: A, B, AB e O (50,60) e os fenótipos do Sistema ABO podem ser observados na seguinte Tabela 3.

Tabela 3- Fenótipos do sistema ABO

Fenótipo	Antigénios Eritrocitários	Anticorpos
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A + B	-
O	-	Anti-A + Anti-B

- **Sistema Rhesus – Rh**

O sistema Rh consiste na pesquisa do antígeno D (Rh D) nos eritrócitos por aglutinação com um soro anti-D (Figura 12) (60,63,64). Ao contrário do sistema ABO, no sistema Rh quando há ausência dos antígenos D nas células, há também ausência dos anticorpos anti-D no soro (63). Desta forma, é possível distinguir o fenótipo Rh D +, com a presença do antígeno D, e Rh D -, com a ausência do mesmo antígeno (60,63,64). Alguns indivíduos possuem um subgrupo D fraco que pode não produzir uma reação positiva com alguns soros anti-D comerciais.



Figura 12 – Exemplo de determinação de grupo sanguíneo A.

5.2.2. Testes de Coombs

O teste de coombs, também conhecido como teste de teste de Antiglobulina Humana e tem como objetivo verificar a compatibilidade eritrocitária entre o dador e o recetor (64) através de hemaglutinação em microplaca. Existem dois tipos de testes de coombs:

- **Coombs direto**

O teste de coombs direto é usado para detetar *in vitro* a presença de anticorpos nos eritrócitos circulantes onde a sensibilização já aconteceu *in vivo* (60,63). Nesta análise está presente o soro de coombs, que ao reagir com os anticorpos que se encontram a sensibilizar as células, provoca uma aglutinação, indicando assim um resultado positivo que pode ser indicativo de doença hemolítica ou incompatibilidades em reações transfusionais (60,63). No Moduslab o teste de Coombs direto era maioritariamente requisitado por grávidas.

- **Coombs indireto**

O teste de coombs indireto tem como objetivo a deteção *in vitro* de eritócitos sensibilizados *in vitro* (60,63). O teste de coombs indireto é realizado em duas etapas. A primeira etapa inclui incubação a 37°C do soro do paciente com as células lavadas que contêm os antígenos correspondentes aos anticorpos que estão a ser pesquisados e, na segunda etapa, é possível verificar a sensibilização através da adição do soro de coombs (60,63). A visualização de aglutinação é indicativo de que o soro do indivíduo contém o anticorpo que revestiu os glóbulos vermelhos *in vitro*, o que indica uma possível incompatibilidade (60,63). No Moduslab o teste de Coombs indireto era realizado para a confirmação de grupos sanguíneos Rh negativos.

Este teste é bastante requisitado em mulheres grávidas Rh negativas, para verificar se estas apresentam anticorpos anti-D. Para além disso, o teste de coombs indireto é também usado como triagem de incompatibilidade antes de transfusões sanguíneas.

6. Fase Pós-Analítica

A fase pós-analítica corresponde à última etapa dos exames laboratoriais e consiste numa adequada e cuidadosa validação dos resultados obtidos na fase analítica, permitindo um diagnóstico fiável e para que, se for o caso, o paciente receba o tratamento clínico correto. No laboratório Moduslab, apesar da fase pós-analítica ser realizada apenas pelos especialistas em Análises Clínicas, durante todo o período de estágio, tive a oportunidade de acompanhar de forma observacional esta fase.

Capítulo II – Estudo de Caso: Comparação do desempenho do UF-4000 com Urocultura para o diagnóstico de Infecções do Trato Urinário

1. Introdução

As infecções do trato urinário são consideradas das infecções mais frequentes na comunidade (14,15,17,65–69), sendo caracterizadas pela presença de um largo espectro de microrganismos patogênicos ao longo do trato urinário (65,66). As bactérias Gram negativo são as mais representativas no que diz respeito às ITU, sendo as mais comuns pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, nomeadamente a *Escherichia coli* (14,17,65,67–70). Para além das bactérias Gram negativo da família *Enterobacteriaceae*, outros microrganismos reportados como causadores de ITU são bactérias Gram positivo, entre elas, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, e *Streptococcus agalactiae* assim como algumas leveduras (14,17,65,66).

Uma vez que as ITU são bastante frequentes, é importante um rápido diagnóstico para que o tratamento com antibióticos seja instituído o mais rapidamente possível, de maneira a garantir o sucesso do tratamento, e a prevenir possíveis resistências(15). A análise microbiológica da urina (Urocultura) continua a ser a metodologia *gold standard* (14,15,17,66,68,71), em meio de cultura CLED ou CPSE. No entanto, é um processo trabalhoso e demorado, que exige no mínimo 24h.

Com o objetivo de maior rapidez no processo de diagnóstico, têm vindo a ser desenvolvidos equipamentos automatizados para a análise de urinas por forma a triar amostras negativas antes de prosseguir para a cultura (15,17,18,66). Vários estudos demonstraram que parâmetros como bactérias e leucócitos podem ser detetados com grande sensibilidade por analisadores automáticos de urina, permitindo assim, fazer uma boa triagem das amostras positivas para ITU(14,17,18,66,68,71). Neste contexto, os citómetros de fluxo da série UF da Sysmex têm vindo a ser cada vez mais utilizados nos laboratórios de microbiologia clínica. Este trabalho é focado no equipamento Sysmex UF-4000, que consiste num processo automatizado de citometria de fluxo de fluorescência que utiliza um laser semiconductor azul com um comprimento de onda de 488nm(14–16,18) e dois canais de análise diferentes: o canal de superfície, que analisa partículas de urina que não contêm ácido nucleico (como glóbulos vermelhos, cristais e cilindros) e o canal central, que pelo contrário, analisa partículas de urina que contêm ácido nucleico (como leucócitos, células epiteliais e bactérias) (13–16). A citometria de fluxo classifica analisando: a) Luz dispersa frontal, indicando o tamanho e o comprimento das partículas; b) Luz dispersa lateral, que fornece informações sobre o conteúdo celular como núcleo e grânulos; c) Luz fluorescente lateral, que indica a quantidade de DNA e RNA presente nas células e, por fim, d) Luz despolarizada lateral, que indica a magnitude de birrefringência das partículas (12,14,18,68).

2. Objetivo

Este estudo tem por objetivo comparar o método automatizado para análise de urinas pelo equipamento Sysmex UF-4000 com os resultados obtidos pelo método *gold standard* – Urocultura, relativamente à positividade e tipo de bactéria (Gram negativo ou Gram positivo) presente nas amostras analisadas.

3. Materiais e métodos

3.1. Estudo e Amostra

Realizou-se um estudo observacional descritivo transversal. A população em estudo consistiu nos registos dos resultados das uroculturas e do equipamento Sysmex UF-4000 de urinas que deram entrada no Moduslab para análise microbiológica da urina, no período de 8 de Novembro de 2021 a 28 de Abril de 2022. Foram selecionadas 545 amostras de acordo com a existência de resultados segundo as duas metodologias.

3.2. Instrumentos e procedimentos

As culturas de urina foram realizadas segundo o protocolo instituído no laboratório, e utilizadas como padrão de referência. As urinas, colhidas por jato médio, foram homogeneizadas e 10µl foram transferidas com ansa esterilizada para meio de cultura CPSE (BioMérieux). Após incubação a 37°C, durante 18–24h. As culturas foram visualizadas e as colónias contadas. As uroculturas foram consideradas positivas para ITU se o crescimento bacteriano fosse $> 10^5$ UFC/mL. Para este estudo, mesmo não obtendo um resultado em cultura que estabeleça o diagnóstico de ITU, foi realizado o Gram a partir da cultura, independentemente do número de colónias.

As urinas submetidas no analisador automatizado Sysmex UF-4000 (Kobe, Japan), foram analisadas de acordo com a densidade bacteriana e leucocitária usando o analisador automatizado Sysmex UF-4000 (Kobe, Japan). Amostras são consideradas positivas para ITU se Bactérias $\geq 200\mu\text{l}$ e/ou Leucócitos $\geq 45\mu\text{l}$ e negativas se Bactérias $< 200\mu\text{l}$ e Leucócitos $< 45\mu\text{l}$. Segundo as especificações do equipamento (72) os resultados designados “Positivo” significam que a amostra tem presente bactérias do tipo Gram positivo. Resultados designados “Negativo” significa que a amostra tem presente bactérias do tipo Gram negativo. Resultados “Positivo/Negativo” infere que nas amostras em questão estão presentes dois tipos de bactérias e resultados “Sem Classificação” indicam que este não foi capaz de detetar qual o tipo de bactéria presente na amostra. Por outro lado, um resultado em Urocultura designados “Sem Classificação”

significa que o crescimento bacteriano não foi valorizável e resultados designado “NR” significa que não foi realizado o Gram uma vez que não houve crescimento bacteriano em placa.

3.3. Tratamento e análise de dados

Para a análise estatística foi usado o proGrama SPSS. A avaliação de desempenho do método e a análise da concordância entre os dois métodos foi baseada no cálculo dos parâmetros especificados na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros usados na avaliação do desempenho e concordância entre metodologias.

Parâmetro	Descrição	Fórmula
Sensibilidade	Capacidade do teste de identificar corretamente os indivíduos com a doença, ou seja, a percentagem de pessoas doentes que são corretamente identificadas como portadoras da doença (4, 73).	$S = \frac{VP}{VP + FN}$
Especificidade	Capacidade de um teste clínico para identificar corretamente indivíduos com a doença, ou seja, a percentagem de indivíduos saudáveis que são corretamente identificados como não sendo portadores da doença (4, 73).	$E = \frac{VN}{VN + FP}$
Valor Preditivo Negativo	Probabilidade de uma amostra negativa ser verdadeiramente negativa (73).	$VPN = \frac{VN}{VN + FN}$
Valor Preditivo Positivo	Probabilidade de uma amostra positiva ser verdadeiramente positiva (73).	$VPP = \frac{VP}{VP + FP}$
Coefficiente de concordância Kappa de Cohen	Método estatístico para calcular a concordância entre duas metodologias diferentes, sendo que, valores de kappa superiores a 0,75 indicam uma excelente concordância, valores entre 0,40 e 0,70 indicam concordância razoável a boa e, valores abaixo de 0,40 indicam uma baixa concordância entre as duas metodologias em estudo(4).	$K = \frac{I_0 - I_e}{1 - I_e}$

Legenda: VP – verdadeiros positivos; VN – verdadeiros negativos; FN – Falsos negativos; FP – falsos positivos; I_0 – Índice de concordância observado; I_e – Índice de concordância esperada ao acaso.

3.4. Questões éticas

O estudo foi autorizado pela direção do laboratório, devido ao interesse em diminuir a quantidade de culturas de urina para exame bacteriológico, na rotina laboratorial. Os registos das variáveis em estudo foram pseudoanonimizadas para garantir a confidencialidade dos registos utilizados.

4. Resultados

Os resultados das amostras obtidos através do equipamento Sysmex UF-4000 bem como da Urocultura, foram divididos em 4 grupos segundo a tipologia de resultado da coloração de Gram, conforme expresso na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados do equipamento Sysmex UF-4000 e Urocultura relativamente ao tipo de bactéria

		GRAM Sysmex				
		Negativo	Positivo	Positivo/Negativo	Sem Classificação	Total
GRAM Urocultura	Negativo	263	12	21	13	309
	Positivo	5	110	1	19	135
	Positivo e Negativo	1	4	3	5	13
	Sem Classificação	1	25	1	61	88
Total		270	151	26	98	545

Das 545 amostras, 437 (80,1%) e 108 (19,8%) não o foram. Constatou-se que 263 (48,3%) amostras concordaram para resultado bacteriano do tipo Gram negativo, 110 (20,2%) para crescimento bacteriano do tipo Gram positivo, 3 (0,6%) para amostras com cultura mista, e 61 (11,2%) amostras sem crescimento bacteriano.

A partir dos resultados expressos na Tabela 5, foram calculados os parâmetros pré-definidos para avaliação de desempenho do equipamento Sysmex UF-4000: sensibilidade (94%), especificidade (87%), valor preditivo negativo (97%) e valor preditivo positivo (73%). Para avaliar a concordância entre os dois métodos, foi calculado o Coeficiente de Kappa de Cohen na qual foi obtido o valor de 0,786.

Contudo, atendendo a que 19,8% dos resultados obtidos foram discordantes, procedeu-se à sua análise detalhada, associando a contagem de colónias por níveis (<10⁴ UFC/mL, 10⁴-10⁵ UFC/mL e >10⁵ UFC/mL) com os quatro critérios discriminatórios do equipamento Sysmex (identificados nos materiais e métodos), para perceber a variabilidade entre a densidade bacteriana, a concentração de leucócitos e o resultado do Gram, conforme expresso na Tabela 6 (Anexo 1). Os resultados evidenciaram discrepâncias independentemente do nível de contagem de colónias e dos critérios pré-estabelecidos para o equipamento.

5. Discussão

5.1. Estágio

A realização deste estágio curricular teve como objetivos adquirir e consolidar conhecimentos e competências profissionais no âmbito de um laboratório de Análises Clínicas: colheitas de produtos biológicos e receção de amostras, bem como o seu processamento e posterior validação dos resultados obtidos. Os objetivos foram atingidos, considerando que durante os seis meses de estágio acompanhei todo o processamento laboratorial desde a fase pré-analítica à fase pós-analítica, permitindo-me consolidar todos os conhecimentos adquiridos durante o primeiro ano do mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública. A integração em todas as áreas e setores do laboratório foi essencial para estar em contacto com todas as metodologias e equipamentos nos quais não tive acesso durante a minha formação académica e perceber o seu funcionamento e utilidade na rotina diária.

Na área da Microbiologia, o estágio permitiu-me desenvolver a prática de sementeiras de diferentes produtos biológicos que ainda não tinha tido contacto anteriormente, bem como trabalhar com dois equipamentos automatizados, o Vitek 2 – destinado para a identificação de microrganismos e respetivos antibiogramas e o Sysmex UF-4000 equipamento adquirido recentemente pelo laboratório e usado para a análise de urinas. Este último, baseado na citometria de fluxo, permite a análise sumária da urina com informação sobre a presença de células, cristais, cilindros e muco, assim como a triagem rápida para excluir ITU uma vez que, em poucos minutos, fornece resultados relativamente à densidade bacteriana, leveduras e concentração de leucócitos (15,17,74–76).

As áreas de Bioquímica e Imunologia foram as áreas nas quais adquiri mais conhecimentos novos, uma vez que nunca tinha tido contacto com nenhum dos equipamentos e metodologias usadas no laboratório. Reforço, nestas áreas, a importância que teve no meu estágio o contacto com o equipamento Alinity ci-series, em que me foi possível contactar com bastantes parâmetros analíticos, e interpretar os resultados dos mesmos, uma vez que este equipamento permite a análise simultânea de vários parâmetros nos módulos da química e imunologia com elevada precisão (77), o que facilita o trabalho dentro de um laboratório clínico. Por outro lado, foi também importante o contacto com técnicas de serologia manuais que ainda não conhecia, como é o caso do VDRL utilizado para o diagnóstico da Sífilis, importante para ajudar a estabelecer a fase da doença, bem como monitorizar a resposta ao possível tratamento (42).

Por fim, a área da Hematologia e Imunohematologia foi o setor na qual tive menos tempo, no entanto não deixa de ter a sua importância uma vez que me possibilitou o contacto com equipamentos como o Alifax Test 1 BCL para determinação da velocidade de sedimentação e o Sysmex CA-600 Series destinado para provas de coagulação, parâmetros estes que eu desconhecia antes da realização deste estágio. Na área da Imunohematologia foi importante a determinação de grupos sanguíneos que, apesar de não ser uma

técnica nova na minha formação, foi importante o contacto com estas metodologias no contexto de um laboratório clínico.

O Moduslab, sendo um laboratório certificado, foca-se na melhoria contínua. Desta forma, é uma preocupação constante o uso de equipamentos e de metodologias de referência, apostando no desenvolvimento de algumas medidas no sentido de melhorar a qualidade do serviço prestado, como é o caso do controlo de qualidade realizado pelo laboratório. O trabalho num laboratório certificado acarreta uma maior responsabilidade na análise das amostras, possibilitando-me assim, desenvolver o meu sentido crítico e de responsabilidade, uma vez que resultados incorretos põem igualmente em risco a imagem do laboratório (2). Outro aspeto importante durante o estágio foi o contacto com o paciente, que me possibilitou a interação e adaptação a diferentes personalidades, e enriquecendo ainda mais a minha experiência.

5.2. Estudo de caso

No estudo caso realizado no decorrer do estágio foi avaliada a capacidade do equipamento Sysmex UF-4000 identificar as urinas bacteriologicamente negativas e discriminar rapidamente qual o tipo de bactéria (segundo o método de Gram) presente em amostras positivas para ITU, por comparação com a Urocultura.

A todas as amostras avaliadas que chegaram ao laboratório para diagnóstico laboratorial de infeção urinária, foi utilizado o critério baseado no cut-off de densidade bacteriana $\geq 200\mu\text{l}$ e concentração de leucócitos $\geq 45\mu\text{l}$ para determinar se seriam ou não semeadas. Desta forma, permite minimizar a sementeira de uroculturas que à priori serão desnecessárias, e disponibilizar mais rapidamente o resultado. No entanto, a utilidade da triagem realizada pelo Sysmex UF-4000 depende da população em questão (17,72) e os valores de cut-off sugeridos pela casa comercial podem não ser aferidos a todos os cenários clínicos ou populações específicas de doentes, como pode ser verificado no estudo de Kim *et al* (17) em que é usado um cut-off de densidade bacteriana $< 15\mu\text{l}$ numa população de doentes imunocomprometidos. Também no Moduslab, pretende-se ajustar o valor de cut-off para excluir a realização de uroculturas, no maior número de casos possível. Por essa razão, avaliou-se o desempenho do método, tendo-se obtido valores de sensibilidade de 94%, especificidade de 87%, VPN de 97% e VPP de 73%. Um estudo publicado pela Sysmex Europe (72) revelou que uma contagem de bactérias $\geq 58\mu\text{l}$ seria o valor de cut-off mais sensível para diagnosticar ITUs com uma sensibilidade de 99,4%, especificidade de 78,2% e valor de VPN e VPP de 99,7% e 65,4% respetivamente, resultados relativamente semelhantes aos obtidos neste estudo, apesar dos parâmetros de desempenho não terem sido determinados por grupos. Alguns estudos anteriores (14,15) também avaliaram a concordância entre os dois métodos onde as contagens de bactérias foram investigadas em combinação com a contagem de

leucócitos, sendo que resultados semelhantes aos obtidos neste estudo podem ser observados no estudo de Ren *et al* (15) onde foram obtidos valores de sensibilidade=97,8%, especificidade=74,6%, VPN=99,3% e VPP=46,9%, usando valores de Cut-off para densidade bacteriana <30µl e concentração de leucócitos <200 µl. Na realidade, entre os estudos publicados, o desempenho do diagnóstico em termos de sensibilidade e especificidade difere, primeiramente, devido aos diferentes valores de cut-off para bactérias e/ou contagem de leucócitos, e em segundo lugar aos diferentes critérios para o diagnóstico de ITU, prevalência de doenças e características das populações estudadas (78). Por estas razões, é apropriado cada laboratório otimizar os seus cut-offs com base nas características da população prevalente e nos diferentes critérios de positividade para a cultura.

Pela análise do valor do Coeficiente de Kappa de Cohen (0.786), este situa-se entre o valor de significância -3,84 e 3,84, o que significa que os métodos não apresentam discordâncias significativas. Contudo, atendendo a que 19.8% dos resultados foram discordantes, optou-se por analisar detalhadamente esses resultados com o objetivo de perceber as possíveis razões que possam estar na sua origem. Assim, pela análise da Tabela 6 (Anexo 1), verificou-se que das 108 amostras discordantes, 56 (51,9%) apresentavam um crescimento em cultura <10⁴ UFC/mL, das quais, 27 (48%) amostras foram consideradas estéreis. Estas situações podem ser justificadas por características mais particulares de crescimento de algumas bactérias ou porque o microrganismo presente na amostra não é uma bactéria. No entanto, o risco de não se detetar uma ITU não se coloca, mesmo estando esta num estado inicial. De referir que as uroculturas estéreis nem sempre foram identificadas pelo equipamento com densidade bacteriana <200ul (n=3), pelo que o critério para sementeira residiu na concentração dos leucócitos ser ≥45µl. Das estéreis, as 24 amostras que foram sinalizadas como tendo uma densidade bacteriana >200µl, nem sempre apresentavam leucócitos ≥45 µl (n=15). Salienta-se ainda que o critério "Bactérias <200µl e Leucócitos ≥45µl" contempla 44,7% (25 amostras), e 42,8% apresentam uma densidade bacteriana <100µl, o que significa que, em alguns destes casos, não foi possível ao equipamento fazer uma leitura clara a partir do gráfico de dispersão obtendo-se um resultado classificado como "Sem classificação". Estas situações podem surgir por flora de contaminação, o que não é valorizável clínico-laboratoriamente.

Desta forma, foi possível verificar que nas culturas com crescimento bacteriano <10⁴UFC/mL e tendo em conta a densidade bacteriana, se fosse utilizado um cut-off <100µl, 48,2% das amostras não seriam semeadas. Song e colaboradores (2018) também selecionaram <10⁴ UFC/mL como critério de rastreio para a culturas negativas, com o objetivo de verificar se os testes baseados em analisadores poderiam prever que amostras de urina resultariam num resultado de cultura negativo, e não detectar amostras com bacteriuria, resultando em falsos resultados (66).

Por outro lado, 52 amostras (48,1%) apresentam um crescimento em cultura >10⁵UFC/ml. Contudo, 10 amostras (19,2%) com densidade bacteriana <100µl e a concentração de Leucócitos ≥45µl não foram

classificadas pelo equipamento. Apesar de se observar valores de densidade bacteriana $<100 \mu\text{l}$, a concentração de leucócitos apresentou valores $\geq 60 \mu\text{l}$. Possivelmente para concentrações baixas, o equipamento não conseguiu fazer uma leitura clara a partir do gráfico de dispersão, conforme percebido no grupo com contagem de colônias $<10^4 \text{UFC/mL}$. O mesmo aconteceu para a amostra 77 que também não foi classificada pelo equipamento, mas apresentava densidade bacteriana de $696 \mu\text{l}$ e concentração de Leucócitos de $443 \mu\text{l}$, classificada no critério “Bactérias $\geq 200 \mu\text{l}$ e Leucócitos $\geq 45 \mu\text{l}$ ”; e para as amostras 100 e 101 classificadas no critério “Bactérias $\geq 200 \mu\text{l}$ e Leucócitos $< 45 \mu\text{l}$ ” com densidades bacterianas de $850 \mu\text{l}$ e $348 \mu\text{l}$ respectivamente, e concentração de Leucócitos $\leq 30 \mu\text{l}$. Perante a incapacidade do equipamento classificar o tipo de bactéria presente nas amostras, considerando a elevada densidade bacteriana, poderá estar relacionado com interferentes presentes nas amostras. De qualquer forma, situações como estas devem ser investigadas futuramente.

As amostras identificadas com “Positivo/Negativo” pelo Sysmex UF-4000 bem como as que em não houve concordância de Gram entre metodologias pode estar relacionado com a menor sensibilidade de detecção de bactérias Gram positivas (78%), apesar de 96% de especificidade, enquanto que as bactérias Gram negativo apresentam uma sensibilidade e especificidade na ordem dos 89%(72). Estes resultados podem refletir as diferenças nas características das bactérias, uma vez que uma maior proporção de bactérias Gram negativo são patógenos verdadeiros, e as bactérias Gram positivo podem ser contaminantes. Entre os Gram negativo, as espécies bacterianas *P. aeruginosa*, *Proteus spp.*, *A. baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, e *Providencia spp.* apresentaram 10% de resultados discordantes, enquanto que espécies de *Streptococcus* apresentaram falsos resultados negativos significativamente elevados, para além dos difteróides (17).

Contudo, a detecção de bactérias Gram positivo tem implicações clínicas significativas, na medida em que os uropatógenos Gram positivo mais frequentemente isolados são *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus agalactiae* (67). No entanto, e apesar do desempenho de discriminação bacteriana do Sysmex UF-4000 para bactérias Gram negativo ser superior ao de bactérias Gram positivo o elevado grau de sensibilidade e especificidade fortalece a ideia deste equipamento ser uma boa medida de rastreio pré-cultura no diagnóstico de uma ITU, com benefícios clínicos e económicos. Vários estudos demonstraram que os citómetros de fluxo independentemente da geração, parecem satisfazer as necessidades de um rápido método de rastreio, a fim de reduzir o número de amostras cultivadas que exibem um crescimento não significativo ou estéril. Apontando como melhor indicador a contagem de bactérias (67,74–76,78,79).

Neste contexto, esta metodologia ao prever resultados culturais negativos, permite reduzir o volume de culturas e os custos associados, a carga de trabalho, o tempo de espera e consequentemente melhorar a

prestação de cuidados (15,67). Song e colaboradores (2018), constataram uma redução de cerca de 10% no número de uroculturas, sem sacrificar culturas de urina positivas (66).

Por outro lado, os doentes com bactérias Gram positivo identificadas pelo Sysmex UF-4000 podem beneficiar da exclusão de ITU por bacilos Gram negativo e de não serem medicados empiricamente para ITU clássica. Em oposição, perante tal resultado, a cultura de urina é recomendada, assim como a antibioterapia visando bactérias Gram positivo. Desta forma, evitam-se tempos de espera desnecessários e o uso excessivo ou desadequados de antibióticos (67).

Resultados discordantes podem, também, estar relacionados com uma alta densidade de outras células presentes na amostras e que coram pelo método de Gram, como é o exemplo de leveduras que coram positivamente, células epiteliais que coram negativamente (7) e outros tipos de elementos figurados presentes que possam intrefeir com a leitura do Gram por parte do equipamento, podendo assim justificar a discordância dos resultados pela presença deste tipo de células. No estudo de Yang e colaboradores (2021) (67), os *Lactobacillus* foram considerados como contaminação devido a recolha, transporte, conservação ou armazenamento inadequados. Também a maioria dos *Streptococcus* e *Staphylococcus* coagulase negativo, foram sugeridos como contaminantes, representando aproximadamente 46% das amostras com crescimento bacteriano (17).

6. Conclusão

Chegada ao fim desta etapa, posso afirmar que a realização deste estágio curricular foi a experiência mais enriquecedora em todo o meu percurso académico. Tive o privilégio de contactar com uma equipa de profissionais que me acolheu desde o início e que se assumiu sempre disponível a ajudar-me e ensinar-me. Durante os seis meses nem tudo foi perfeito, surgiram dúvidas, dificuldades e técnicas que não realizei com tanta facilidade, contudo foi um processo de adaptação e aprendizagem que fui gerindo, tornando-me uma melhor profissional. Sinto-me preparada para responder às exigências de um laboratório de Análises Clínicas em futuras experiências profissionais. Considero que a realização deste estágio foi uma mais valia na minha formação académica, profissional e pessoal.

Em relação ao estudo caso, foi possível aplicar conhecimentos adquiridos ao longo do curso de Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública para o seu desenvolvimento. A partir dos resultados obtidos, e atendendo ao carácter exploratório do estudo, é possível afirmar que o equipamento Sysmex UF-4000 fornece resultados fiáveis relativamente à positividade e ao tipo de bactéria presente nas amostras, uma vez que 80% dos resultados foram concordantes entre as duas metodologias, e o valor de concordância demonstrar não existir discordâncias significativas, apesar desta metodologia não permitir ainda substituir a metodologia *gold standard*. Neste momento, o aspeto de maior valia para o laboratório na utilização do

Sysmez-UF4000, será a triagem rápida de ITU negativas para diminuir o número de uroculturas realizadas desnecessariamente. A introdução desta metodologia permitirá reduzir a carga de trabalho manual e os custos associados, bem como melhorar a qualidade de atendimento ao paciente por fornecer um resultado mais rápido, podendo evitar o uso inadequado de antibióticos. No caso das urinas sinalizadas como positivas com identificação do tipo de bactério, permitirá ao clínico implementar a antibioterapia mais precocemente.

Assim, o critério para discriminar urinas negativas para ITU deverá ser estudado com valores de cut-off de densidade bacteriana inferiores. Associar as densidades bacterianas $<200\mu\text{l}$ e $<100\text{ul}$ com outros critérios disponibilizados pelo equipamento, como a capacidade discriminatória de identificar o tipo bacteriano, de inferir a presença ou não de bactérias, bem como com a concentração leucocitária seria uma hipótese a ser explorada. Tal como, determinar o desempenho e a concordância do método estratificado por níveis de colónias/ml e densidade bacteriana, e em função das variáveis espécie bacteriana presente e sexo dos indivíduos, para perceber se têm impacto na não concordância de algumas amostras entre os dois métodos, como realizado noutros estudos (14,15,17).

Referências Bibliográficas

1. Moduslab – Centro de Análises Clínicas, Lda. [Internet]. [cited 2022 Aug 4]. Available from: <https://www.moduslab.pt/>
2. Cooper G. Basic Lessons in Laboratory Quality Control – QC Workbook. Bio-Rad Lab. 2008;62.
3. ANVISA ANDVS. Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 2 – Controlo externo da qualidade. 2010;46.
4. Burtis Carl A., Ashwood Edward R. BDE. CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS. 5th ed. 2012. 1587–1589 p.
5. Guder WG, da Fonseca – Wollheim F, Heil W, Schmitt Y, Topfer G, Wisser H, et al. Quality of Diagnostic Samples. 2010;20–4. Available from: [file:///C:/Users/inez/Downloads/Quality_of_diagnostic_samples_final_version_23.9.2009\[1\] - zum Zusammenführen.pdf](file:///C:/Users/inez/Downloads/Quality_of_diagnostic_samples_final_version_23.9.2009[1] - zum Zusammenführen.pdf)
6. BioMérieux. bioMérieux – Meios de Cultura [Internet]. [cited 2022 May 17]. Available from: <http://www.biomerieux-culturemedia.com/>
7. Leboffe, Michael., Pierce B. A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory. Vol. 4, Morton publishing. 2011. 266 p.
8. Pincus DH. Microbial identification using the bioMérieux VITEK® 2 system. *Encycl Rapid Microbiol Methods*. 2010;1–32.
9. Garcia-Garrote F, Cercenado E, Bouza E. Evaluation of a new system, VITEK 2, for identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci. *J Clin Microbiol*. 2000;38(6):2108–11.
10. Ligozzi M, Bernini C, Bonora MG, De Fatima M, Zuliani J, Fontana R. Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *J Clin Microbiol*. 2002;40(5):1681–6.
11. Biomérieux. VITEK® 2 COMPACTO | microbiologia industrial bioMérieux [Internet]. [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.biomerieux-industry.com/en-us/products/vitek-2-compact>
12. Sysmex. Fully Automated Urine Particle Analyzer UF-4000. 2018;1–90.
13. Sysmex. UF-5000 Fully Automated Urine Particle Analyzer. 2019;9–10. Available from: <https://www.sysmex.com/la/pt/Pages/default.aspx>
14. De Rosa R, Grosso S, Lorenzi G, Bruschetta G, Camporese A. Evaluation of the new Sysmex UF-5000 fluorescence flow cytometry analyser for ruling out bacterial urinary tract infection and for prediction of Gram negative bacteria in urine cultures. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2018;484(March):171–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.05.047>
15. Ren C, Wu J, Jin M, Wang X, Cao H. Rapidly discriminating culture-negative urine specimens from

- patients with suspected urinary tract infections by UF-5000. *Bioanalysis*. 2018;10(22):1833–40.
16. Sysmex. UF-4000 Fully automated urine flow cytometer. 2016;3.
 17. Kim SY, Park Y, Kim H, Kim J, Koo SH, Kwon GC. Rapid screening of urinary tract infection and discrimination of gram-positive and gram-negative bacteria by automated flow cytometric analysis using sysmex UF-5000. *J Clin Microbiol*. 2018;56(8).
 18. Allain M, Sun K, Predal C, Nassif X, Ferroni A. Performance analysis of the Sysmex UF4000/UD10 for diagnosis of urinary tract infections. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2019;77(6):645–50.
 19. Anécimo RS, Tonani KAA, Fregonesi BM, Mariano AP, Ferrassino MDB, Trevilato TMB, et al. Adaptation of Ritchie's method for parasites diagnosing with minimization of chemical products. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2012;2012.
 20. Abreu Tonani K, Fonseca Almeida A, Magosso Takayanagui A, Segura-Muñoz S, Moreira dos Santos V. La adaptación del Método de Ritchie para la diagnosis de Helmintos y protozoos en muestras de aguas residuales con minimización de productos químicos. *O Mundo da Saúde* [Internet]. 2009;33(4):427–32. Available from: http://www.saocamilo-sp.br/pdf/mundo_saude/70/427a432.pdf
 21. Healgen. TM-FOB [Internet]. [cited 2022 Jan 9]. Available from: <https://www.healgen.com/tm-fob>
 22. Sysmex. Fully Automated Urine Chemistry Analyzer - UC-3500. 2018;1–56.
 23. Sysmex. Analisador de química de urina totalmente automatizado UC-3500 [Internet]. 2019. p. 2. Available from: <https://www.sysmex.com.br/>
 24. Abbott. Alinity ci-series Operations Manual. 2018;1752. Available from: file:///C:/Users/User/Downloads/pdfcoffee.com_alinity-ci-series-operations-manualpdf-pdf-free.pdf
 25. Alinity ci-series | Core Laboratory at Abbott [Internet]. [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.corelaboratory.abbott/int/pt/offerings/brands/alinity/alinity-ci-series>
 26. ThermoFisher Scientific. Diagnóstico de Alergia e Doenças Autoimunes | Thermo Fisher Scientific [Internet]. [cited 2022 May 21]. Available from: <https://www.thermofisher.com/phadia/wo/en/our-solutions.html>
 27. Direção-Geral da Saúde. Prescrição de Exames Laboratoriais para Avaliação de Doença Alérgica. Norma Da Direção - Geral Da Saúde [Internet]. 2013;1(1):9. Available from: <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i018596.pdf>
 28. ThermoFisher Scientific. ImmunoCap Alergénios. 2020;33.
 29. ThermoFisher Scientific. ImmunoCAP™ IgE Total | Thermo Fisher Scientific [Internet]. [cited 2022 May 22]. Available from: <https://www.thermofisher.com/phadia/wo/en/our-solutions/immunocap-allergy-solutions/total-ige.html>

30. ThermoFisher Scientific. Testes laboratoriais de doenças autoimunes da tireóide | Thermo Fisher Scientific [Internet]. [cited 2022 May 22]. Available from: <https://www.thermofisher.com/phadia/wo/en/our-solutions/elia-autoimmunity-solutions/thyroid-diseases.html>
31. de Carvalho GA, Silva Perez CL, Sterian Ward L. Utilização dos testes de função tireoidiana na prática clínica. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013;57(3):193–204.
32. Teixeira S. Doenças Auto-imunes e Neoplásicas de Tiróide. 2002;46:65–71.
33. Phadia™ 200 | Instrumento de teste de diagnóstico | Thermo Fisher Scientific [Internet]. [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.thermofisher.com/phadia/wo/en/our-solutions/phadia-laboratory-systems/phadia-200.html>
34. Vavricka SR, Burri E, Beglinger C, Degen L, Manz M. Serum protein electrophoresis: An underused but very useful test. *Digestion*. 2009;79(4):203–10.
35. Lopes ADF, Malena R, Faria D De. Eletroforese de proteínas séricas : interpretação e correlação clínica. 2008;18(2):116–22.
36. O'Connell TX, Horita TJ, Kasravi B. Understanding and interpreting serum protein electrophoresis. *Am Fam Physician*. 2005;71(1):105–12.
37. Eletroforese Capilar | Sebia | PT [Internet]. [cited 2022 Sep 9]. Available from: <https://www.sebia.com/pt-pt/technologies/eletroforese-capilar/>
38. Sebia. Minicap hemoglobin(e) minicap 2014/06. 2014;
39. Jenkins MA, Ratnaike S. Capillary isoelectric focusing of haemoglobin variants in the clinical laboratory. *Clin Chim Acta*. 1999;289(1–2):121–32.
40. Schneider R. Methods for Detection of Hemoglobin Variants and. *Clin Rev Clin Lab*. 1978;(November).
41. MINICAP FLEX-PIERCING | Sebia | PT [Internet]. [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.sebia.com/pt-pt/instruments/minicap-flex-piercing/>
42. Arando M, Guerra O. Sífilis. 2019;37(6):398–404.
43. Coca MG, Roblas RF, Gironés IG. Serología en el siglo XXI: ¿continúa teniendo interés? 2009;XVI(46):107–12.
44. Microbe Notes. Teste de Reagina Rápida de Plasma (RPR) [Internet]. [cited 2022 May 24]. Available from: <https://microbenotes.com/rapid-plasma-reagin-rpr-test/>
45. Microbe Notes. Diagnóstico laboratorial da sífilis por *Treponema pallidum* [Internet]. [cited 2022 May 24]. Available from: <https://microbenotes.com/laboratory-diagnosis-of-syphilis-caused-by-treponema-pallidum/>
46. Microbe Notes. Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) Test [Internet]. [cited 2022 May 24]. Available from: <https://microbenotes.com/venereal-disease-research-laboratory-vdrl->

test/

47. Bain BJ. Células Sanguíneas – Um guia prático. 5th ed. 2016. 504 p.
48. Siemens Health Care Diagnostics Inc. Operator's Guide. Tarrytown, NY, USA. 2010;9–33.
49. Lab testes Online – Hemograma Completo (CBC) [Internet]. [cited 2022 Jun 14]. Available from: <http://labtestsonline.org/>
50. Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM. Practical Haematology. 11th ed. 2011. 650 p.
51. ANALISADOR DE HEMATOLOGIA SIEMENS ADVIA 2120/120 – Bioprom [Internet]. [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://bioprom.gr/en/product/advia-120/>
52. Jou JM, Lewis SM, Briggs C, Lee SH, De La Salle B, Mcfadden S. ICSH review of the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol*. 2011;33(2):125–32.
53. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, Bernardi D, Stockreiter E. The TEST 1 automated system: A new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Am J Clin Pathol*. 1998;110(3):334–40.
54. ALI FAX. Test 1 – User Manual. 2021;87.
55. Rhea JM, Molinaro R. Pathology consultation on HbA1c methods and interferences. Vol. 141, *American Journal of Clinical Pathology*. 2014. p. 5–16.
56. Arkray. Analisador automático de hemoglobina glicada – ADAMS A1C HA–8180V, ADAMS A1C HA–8180T – Arkray – para diagnóstico clínico / compacto [Internet]. [cited 2022 Jun 15]. Available from: <https://www.medicalexpo.com/pt/prod/arkray/product-80534-508058.html>
57. Arkray. Automatic Glycohemoglobin Analyzer HA–8180V ARKAY [Internet]. Available from: http://www.arkray.eu/english/upload/docs/ha_8180v.pdf
58. Sysmex. Fully Automated Coagulation Analyser CA–600. :4. Available from: www.sysmex-ap.com
59. CA–600 – Sysmex [Internet]. [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.sysmex-ap.com/product/ca-600/>
60. A. Victor Hoffbrand PAHM. Hoffbrand's Essential Haematology. 7th ed. Vol. 59. 2016. 382 p.
61. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal MAP. Medical Microbiology. 7th ed. Vol. 155, *Military Medicine*. Elsevier; 2012. 1023 p.
62. Mary A. Williamson LMS. Interpretação de Exames Laboratoriais. 9th ed. Vol. 59. 2013. 626 p.
63. Sousa M, Mota S. Manual Prático de Imunohematologia [Internet]. Escola Superior de Saúde – P. Porto. 2020. Available from: <https://doi.org/10.26537/y594-hs65>
64. Antunes E, Nascimento F, Rodrigues F, Duran J, Figueiredo M, Amil M, et al. Imuno Hematologia – Recomendações. *Direção Geral de Saúde* [Internet]. 2008;31. Available from: <http://rihuc.huc.min-saude.pt/handle/10400.4/801>
65. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2010;7(12):653–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2010.190>

66. Song D, Lee H-J, Jo SY, Lee SM, Chang CL. Selection of Unnecessary Urine Culture Specimens Using Sysmex UF-5000 Urine Flow Cytometer. *Ann Clin Microbiol*. 2018;21(4):75.
67. Yang SSD, Yang CC, Chen YS, Chang SJ. A performance comparison of the fully automated urine particle analyzer UF-5000 with UF-1000i and Gram staining in predicting bacterial growth patterns in women with uncomplicated urinary tract infections. *BMC Urol* [Internet]. 2021;21(1):1–6. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12894-021-00791-x>
68. Jiménez-Guerra G, Heras-Cañas V, Valera-Arcas MD, Rodríguez-Grangér J, Navarro JM, Gutiérrez-Fernández J. Comparison between urine culture profile and morphology classification using fluorescence parameters of the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer. *J Appl Microbiol*. 2017;122(2):473–80.
69. Medina M, Castillo-Pino E. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Ther Adv Urol* [Internet]. 2019 [cited 2021 Dec 1];11. Available from: </pmc/articles/PMC6502976/>
70. Andreu A, Cacho J, Coira A, Lepe JA. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario [Internet]. Vol. 29, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2011. p. 52–7. Available from: <https://www.cuf.pt/saude-a-z/cistite>
71. Shang Y, Wang Q, Zhang J, Xu Y, Zhang W, Chen Y, et al. Systematic review and meta-analysis of flow cytometry in urinary tract infection screening. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2013;424:90–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2013.05.014>
72. Sysmex. How innovative technology leads to a faster diagnosis and more targeted treatment of UTI Diagnostic parameters. 2020;(May):1–7.
73. Todas as notas de estudo de biologia e microbiologia (ordem alfabética) [Internet]. [cited 2022 Jan 8]. Available from: <https://thebiologynotes.com/predictive-value/>
74. Kadkhoda K, Manickam K, DeGagne P, Sokolowski P, Pang P, Kontzie N, et al. UF-1000i™ flow cytometry is an effective screening method for urine specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2011;69(2):130–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.09.013>
75. Jolkkonen S, Paattiniemi EL, Kärpänoja P, Sarkkinen H. Screening of urine samples by flow cytometry reduces the need for culture. *J Clin Microbiol*. 2010;48(9):3117–21.
76. Pieretti B, Brunati P, Pini B, Colzani C, Congedo P, Rocchi M, et al. Diagnosis of bacteriuria and leukocyturia by automated flow cytometry compared with urine culture. *J Clin Microbiol*. 2010;48(11):3990–6.
77. Westgard S, Petrides V, Schneider S, Berman M, Herzogenrath J, Orzechowski A. Assessing precision, bias and sigma-metrics of 53 measurands of the Alinity ci system. *Clin Biochem* [Internet]. 2017;50(18):1216–21. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.09.005>

78. De Rosa R, Grosso S, Bruschetta G, Avolio M, Stano P, Modolo ML, et al. Evaluation of the Sysmex UF1000i flow cytometer for ruling out bacterial urinary tract infection. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2010;411(1–16):1137–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2010.03.027>
79. Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M, Tinello A, Ferrian M, Hoffer P, et al. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2009;65(2):103–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.06.003>

Anexo

Tabela 6 – Resultados discordantes

AMOSTRA	RESULTADOS UROCULTURA		RESULTADOS SYSMEX			
	UFC/mL	Gram Urocultura	Densidade bacteriana	Concentração de leucócitos	Gram Sysmex	Crítérios Sysmex
1	<10 ⁴	NR	158 uL	54 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
2	<10 ⁴	NR	128 uL	192 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
3	<10 ⁴	NR	103 uL	87 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
4	<10 ⁴	NR	1062 uL	50 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
5	<10 ⁴	NR	385 uL	358 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
6	<10 ⁴	NR	1386 uL	98 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
7	<10 ⁴	NR	428 uL	8521 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
8	<10 ⁴	NR	17506 uL	100 uL	Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
9	<10 ⁴	NR	937 uL	79 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
10	<10 ⁴	NR	893 uL	266 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
11	<10 ⁴	NR	415 uL	77 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
12	<10 ⁴	NR	417 uL	2730 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
13	<10 ⁴	NR	534 uL	3 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
14	<10 ⁴	NR	257 uL	6 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
15	<10 ⁴	NR	439 uL	25 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
16	<10 ⁴	NR	219 uL	8 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
17	<10 ⁴	NR	312 uL	37 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
18	<10 ⁴	NR	456 uL	24 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
19	<10 ⁴	NR	316 uL	17 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
20	<10 ⁴	NR	273 uL	27 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
21	<10 ⁴	NR	253 uL	27 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
22	<10 ⁴	NR	252 uL	3 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
23	<10 ⁴	NR	270 uL	16 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
24	<10 ⁴	NR	461 uL	8 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
25	<10 ⁴	NR	1080 uL	7 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
26	<10 ⁴	NR	230 uL	19 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
27	<10 ⁴	NR	352 uL	3 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
28	<10 ⁴	Negativo	27uL	1 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos < 45 µl, mas negativas para ITU

Tabela 6 – Resultados discordantes (Cont)

AMOSTRA	RESULTADOS UROCULTURA		RESULTADOS SYSMEX			
	UFC/mL	Gram Urocultura	Densidade bacteriana	Concentração de leucócitos	Gram Sysmex	Crítérios Sysmex
29	<10 ⁴	Negativo	29 uL	0 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos < 45 µl mas negativas para ITU
30	<10 ⁴	Negativo	125 uL	2 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos < 45 µl mas negativas para ITU
31	<10 ⁴	Negativo	136 uL	2 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos < 45 µl mas negativas para ITU
32	<10 ⁴	Negativo	118 uL	2 uL	Positivo/Negativo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos < 45 µl mas negativas para ITU
33	<10 ⁴	Positivo	39 uL	133 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
34	<10 ⁴	Positivo e Negativo	17 uL	144 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
35	<10 ⁴	Positivo e Negativo	13 uL	62 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
36	<10 ⁴	Positivo	33 uL	66 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
37	<10 ⁴	Positivo e Negativo	81 uL	2062 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
38	<10 ⁴	Negativo	6 uL	3579 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
39	<10 ⁴	Positivo	26 uL	197 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
40	<10 ⁴	Negativo	0 uL	60 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
41	<10 ⁴	Positivo	37 uL	205 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
42	<10 ⁴	Positivo	65 uL	336 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
43	<10 ⁴	Positivo	25 uL	177 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
44	<10 ⁴	Negativo	2 uL	168 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
45	<10 ⁴	Positivo	74 uL	3243 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
46	<10 ⁴	Positivo	65 uL	1062 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
47	<10 ⁴	Positivo	21 uL	60 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
48	<10 ⁴	Positivo	47 uL	222 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
49	<10 ⁴	Positivo	73 uL	94 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
50	<10 ⁴	Positivo	63 uL	7350 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
51	<10 ⁴	Negativo	24 uL	110 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
52	<10 ⁴	Positivo	384 uL	4485 uL	Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
53	<10 ⁴	Positivo	6757 uL	26 uL	Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45 µl
54	<10 ⁴	Positivo	12 uL	52 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl
55	<10 ⁴	Positivo	95 uL	77 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45 µl

Tabela 6 – Resultados discordantes (Cont)

AMOSTRA	RESULTADOS UROCULTURA		RESULTADOS SYSMEX			
	UFC/mL	Gram Urocultura	Densidade bacteriana	Concentração de leucócitos	Gram Sysmex	Crítérios Sysmex
56	< 10 ⁴	Positivo	23 uL	72 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
57	10 ⁴ -10 ⁵	Negativo	23 uL	60 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
58	> 10 ⁵	Negativo	46 uL	5461 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
59	> 10 ⁵	Negativo	25 uL	103 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
60	> 10 ⁵	Positivo	23 uL	179 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
61	> 10 ⁵	Negativo	135 uL	13069 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
62	> 10 ⁵	Negativo	88 uL	97 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
63	> 10 ⁵	Positivo	66 uL	158 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
64	> 10 ⁵	Negativo	31 uL	84 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
65	> 10 ⁵	Negativo	63 uL	7350 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
66	> 10 ⁵	Negativo	118 uL	51 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
67	> 10 ⁵	Negativo	104 uL	74 uL	Positivo	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
68	> 10 ⁵	Positivo	13722 uL	193 uL	Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
69	> 10 ⁵	Negativo	533 uL	66 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
70	> 10 ⁵	Negativo	533 uL	66 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
71	> 10 ⁵	Negativo	5333 uL	66 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
72	> 10 ⁵	Negativo	1130 uL	1215 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
73	> 10 ⁵	Positivo	16501 uL	297 uL	Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
74	> 10 ⁵	Negativo	431 uL	115 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
75	> 10 ⁵	Negativo	573 uL	259 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
76	> 10 ⁵	Positivo	11273 uL	211 uL	Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
77	> 10 ⁵	Positivo	696 uL	443 uL	Sem Classificação	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
78	> 10 ⁵	Positivo	11136 uL	41670 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
79	> 10 ⁵	Negativo	1277 uL	496 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
80	> 10 ⁵	Negativo	42687 uL	174 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
81	> 10 ⁵	Positivo e Negativo	2443 uL	60 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
82	> 10 ⁵	Positivo e Negativo	2261 uL	73 uL	Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
83	> 10 ⁵	Negativo	39682 uL	12691 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
84	> 10 ⁵	Negativo	3784 uL	210 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
85	> 10 ⁵	Positivo e Negativo	433 uL	46 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
86	> 10 ⁵	Negativo	62119 uL	14378 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
87	> 10 ⁵	Negativo	424 uL	5591 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl

Tabela 6 – Resultados discordantes (Cont)

AMOSTRA	RESULTADOS UROCULTURA		RESULTADOS SYSMEX			
	UFC/mL	Gram Urocultura	Densidade bacteriana	Concentração de leucócitos	Gram Sysmex	Crítérios Sysmex
88	> 10 ⁵	Negativo	51400 uL	112 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
89	> 10 ⁵	Positivo e Negativo	769 uL	13882 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
90	> 10 ⁵	Negativo	61888 uL	6217 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
91	> 10 ⁵	Negativo	13712 uL	495 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
92	> 10 ⁵	Negativo	583 uL	100 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
93	> 10 ⁵	Negativo	9851 uL	544 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
94	> 10 ⁵	Negativo	545 uL	403 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
95	> 10 ⁵	Negativo	8696 uL	6745 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
96	> 10 ⁵	Negativo	2179 uL	245 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
97	> 10 ⁵	Negativo	5466 uL	313 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
98	> 10 ⁵	Negativo	65459 uL	4119 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
99	> 10 ⁵	Negativo	315 uL	21 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
100	> 10 ⁵	Negativo	850 uL	5 uL	Sem classificação	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
101	> 10 ⁵	Positivo	348 uL	30 uL	Sem classificação	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
102	> 10 ⁵	Negativo	92227 uL	11 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
103	> 10 ⁵	Negativo	221 uL	5 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
104	> 10 ⁵	Positivo e Negativo	654 uL	23 uL	Positivo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
105	> 10 ⁵	Negativo	30735 uL	37 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
106	> 10 ⁵	Negativo	42304 uL	42304 uL	Positivo/Negativo	Bactérias ≥ 200 µl e Leucócitos < 45µl
107	> 10 ⁵	Negativo	10 uL	398 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl
108	> 10 ⁵	Negativo	30 uL	1998 uL	Sem classificação	Bactérias < 200 µl e Leucócitos ≥ 45µl

Legenda: NR- Não realizado