

Centro de Medicina Molecular

Diagnóstico *in vitro*

Siemens SA – Medical Solutions

2006 / 2007

Ana Raquel Godinho Saiote



Departamento de Física

Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade de Coimbra

Centro de Medicina Molecular

Diagnóstico *in vitro*

Siemens SA - Medical Solutions

2006 / 2007

501022555 - Ana Raquel Godinho Saiote



Departamento de Física

Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade de Coimbra

2007

Orientador na FCTUC: **Professora Maria Filomena Botelho**

Supervisor na Siemens SA – Medical Solutions: **Doutor Paulo Cruz**

Aos meus pais, à minha irmã e à minha avó.

Agradecimentos

Agradeço à professora Filomena Botelho pelo apoio dado, ao Doutor Paulo Cruz pela oportunidade de realizar este estágio e por todo o apoio durante a minha estadia na empresa, à Conceição Granja pela colaboração prestada durante a execução do projecto, nomeadamente no que concerne à articulação entre este trabalho e o seu próprio projecto de doutoramento assim como aos meus colegas do MEDLab, pelos momentos de convívio que contribuíram para a minha integração na empresa.

Um agradecimento especial aos colegas da divisão *Diagnostics* por todo o apoio dado e toda a disponibilidade demonstrada, em particular ao Dr. Rui Freitas e ao Dr. Bruno Abrantes.

Agradeço a todos os meus amigos por compreenderem a minha ausência temporária e por todo o apoio e, em particular, ao meu amigo André Peixe pela paciência e disponibilidade e à Duxa.

Agradeço ao Diogo pela paciência e por todo o apoio, principalmente nos piores momentos de nervosismo, próprios de quem está entre a vida académica e a vida activa. Agradeço também à minha irmã o apoio moral e a sua capacidade de me pôr bem disposta mesmo naqueles momentos em que surgia alguma insegurança, à minha avó pelo simples facto de estar presente na minha vida e, por último, mas de maior importância, agradeço aos meus pais por todas as oportunidades que me deram, todo o apoio, força... por tudo!

Resumo

Os Prestadores de Cuidados de Saúde (PCS) contemplam, entre outros, o laboratório de diagnóstico *in vitro*. O actual tempo de resposta e eficácia de um laboratório podem ser melhoradas através de uma gestão adequada de todos os recursos envolvidos, conseguindo-se, desta forma, otimizar a prestação de cuidados de saúde, contribuindo para a satisfação do utente e para a rentabilização do funcionamento do serviço.

A optimização dos processos é conseguida através da modelação do fluxo de trabalho. Para tal, é necessária uma análise e caracterização do funcionamento do laboratório a nível de tecnologias e equipamentos, modelo organizacional, *layout* e fluxos de trabalho.

O presente trabalho foca-se no estudo das tecnologias e equipamentos associadas ao diagnóstico *in vitro*, das tarefas envolvidas no fluxo de trabalho num laboratório, em termos de recursos (espaços, equipamentos, pessoal) e duração temporal assim como à sua optimização, culminando este trabalho com a caracterização de um laboratório considerado óptimo e um estudo de caso.

Palavras Chave (Tema): Automação, Diagnóstico *in vitro*, *Layout*, Medicina Molecular, Optimização, *Workflow*

Palavras Chave (Tecnologias): Absorvância, Biosensores, Citometria de Fluxo, Electroforese, Fluorescência, Hibridação, Imunoensaio, Potenciometria, Quimioluminescência, Sequenciação, Transdutores

Índice

PARTE I : ENQUADRAMENTO GERAL.....	1
Capítulo 1 – O Enquadramento do Relatório e do Estágio.....	3
1.1. Enquadramento.....	3
1.2. Apresentação do projecto de estágio	3
1.3. Apresentação da Empresa	4
1.4. Contributos deste trabalho.....	5
1.5. Organização do relatório	6
PARTE II - O PAPEL DO DIAGNÓSTICO IN VITRO NO CONTEXTO DA MEDICINA MOLECULAR	7
Capítulo 1 – A Medicina Molecular	9
1.1. O que é a Medicina Molecular	9
1.2. Projectos em Desenvolvimento em Portugal.....	11
1.3. Futuro da Medicina Molecular	12
1.3.1. Tecnologias	13
1.3.2. Clientes	15
1.4. Mercado <i>in vitro</i>.....	17
Capítulo 2 –O Laboratório de Diagnóstico <i>in vitro</i>.....	19
2.1. Diagnóstico <i>in vitro</i>	19
2.1.1. Tecnologias	20
2.1.2. Áreas de Intervenção.....	23
2.1.2.1. Hematologia	23
2.1.2.2. Química Clínica.....	25
2.1.2.3. Imunodiagnóstico	26
2.1.2.4. Gasimetria	29
2.1.2.5. Diagnóstico Molecular	30
2.1.2.6. Urinálise	31
2.2. Fluxos de Trabalho num Laboratório IVD.....	32

2.2.1. Introdução	32
2.2.2. Competências e Responsabilidades do Pessoal do Laboratório	33
2.2.2.1. Médicos Especialistas.....	33
2.2.2.2. Enfermeiro.....	33
2.2.2.3. Técnico Superior	34
2.2.2.4. Técnico de Análises Clínicas	34
2.2.2.5. Auxiliar de Análises Clínicas	34
2.2.3. Mapeamento dos Fluxos de Trabalho	34
2.2.4. Automatização de Laboratório.....	37
2.3. Layout	43
2.4. Optimização	47
PARTE III - O Laboratório Modelo	51
Capítulo 1 - Conceção de um Laboratório Modelo	53
1.1. Introdução.....	53
1.2. Layout e Equipamentos.....	53
1.3. Modelo Organizacional.....	56
1.4. Recursos Humanos.....	58
1.5. O Fluxo de Trabalho.....	59
PARTE IV – ESTUDO DE CASO	63
Capítulo 1 - Estudo de caso prático.....	65
1.1. Clínica Privada	65
1.1.1. Processo Actual.....	65
1.1.2. Optimização	76
1.2. Hospital Público	77
1.2.1. Processo Actual.....	78
1.2.2. Optimização	89
1.3. Análise Comparativa	91
Conclusão.....	95

Referências Bibliográficas.....	99
ANEXOS.....	101
Anexo 1 Laboratórios Associados	103
Anexo 2 Dados Relativos à População em Portugal	125
Anexo 3 Transdutores	127
Anexo 4 Bioreceptores	139
Anexo 5 Questionário para Caracterização do Laboratório	161
Anexo 6 Tempos Recolhidos no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Público	177
Anexo 7 Tempos Recolhidos no Serviço de Análises Clínicas da Clínica Privada	179

Índice de Figuras

<i>Figura 1 - Papel do Diagnóstico in vitro (Fonte: SMS Diagnostics)</i>	10
<i>Figura 2 – Os testes de theranostic ocupam uma posição pivot no cruzamento das forças motrizes que contribuem para melhores cuidados de saúde</i>	13
<i>Figura 3 - Crescimento previsto (2004 a 2009) nas diferentes áreas do diagnostico In-vitro (Fonte: Roche)</i>	18
<i>Figura 4 – Esquema de classificação de biosensores (Adaptado de [7])</i>	20
<i>Figura 5 - Diagrama do princípio de funcionamento de um biosensor.(Adaptado de [7])</i>	22
<i>Figura 6 – (a) ADVIA® 2120, (b) ADVIA® Autoslide Slide Maker Stainer, (c) ADVIA® 120 (Adaptado de [12])</i>	24
<i>Figura 7 – (a) ADVIA® 1800, (b) ADVIA® 2400, (c) ADVIA® 1200, (d) ADVIA® 1650, (e) T60, (f) T30, (g) T20xt (Adaptado de [12])</i>	26
<i>Figura 8 - Imunoensaio para determinação da concentração de EPO (Adaptado de [13])</i>	27
<i>Figura 9 – Imunoensaio para determinação da concentração de anti-IgG rubella virus (Adaptado de [13])</i>	28
<i>Figura 10 – (a) Immulite 2500, (b) Immulite 2500SMS, (c) Immulite 2000, (d) Immulite 1000, (e) Immulite, (f) Advia Centaur XP, (g) Advia Centaur, (h) Advia Centaur CP, (i) ACS:180® SE Automated Chemiluminescence System (Adaptado de [12])</i>	28
<i>Figura 11 – (a) RapidLab 1200, (b) RapidPoint 400 series, (c) RapidLab 248/348 (Adaptado de [12])</i>	29
<i>Figura 12 – (a) VERSANT HIV RNA 3.0, (b) VERSANT HBV DNA 3.0 Assay, (c) VERSANT HCV RNA 3.0 Assay (Adaptado de [12])</i>	30
<i>Figura 13 - VERSANT HCV RNA Qualitative Assay (TMA) (Adaptado de [12])</i>	30
<i>Figura 14 – (a) ADVIA® Urinalysis WorkCell, (b) Clinitek Atlas Automated Urine Chemistry Analyzer, (c) UF-100 Urine Cell Analyzer, (d) Clinitek Atlas Automated Urine Chemistry Analyzer (Carousel), (e) Clinitek 500 Urine Chemistry Analyzer (Adaptado de [12])</i>	31
<i>Figura 15 – (a) Clinitek Status Analyzer, (b) Clinitek 500 Urine Chemistry Analyzer, (c) Clinitek Microalbumin Reagent Strips (resultados de albumina, creatinina e racio albumina/creatinina num minuto), (d) Multistix PRO Reagent Strips (racio proteína/creatinina para detecção de doença renal) (e) Multistix 10 SG Reagent Stripes (para infecções no tracto urinário) (Adaptado de [12])</i>	32
<i>Figura 16 - Fluxo de Trabalho num Laboratório</i>	35
<i>Figura 17 - Fluxo de trabalho num laboratório não automatizado vs. Fluxo de trabalho num laboratório automatizado(Fonte: Siemens Medical Solution Diagnostics)</i>	38

<i>Figura 18 – Um sistema de automação laboratorial total (TLA) é uma combinação de instrumentos que efectuam a maior parte das tarefas analíticas e pré-analíticas no laboratório. As amostras podem ser alíquotadas directamente no analisador de amostras ou removidas por um braço robótico para serem colocadas no analisador. (Adaptado de [18])</i>	39
<i>Figura 19 – Uma workcell automatizada consiste num gestor de amostras, numa centrífuga (como opção), um manipulador mecânico (normalmente um braço robótico) e um analisador (Adaptado de [18]).</i>	40
<i>Figura 20 – Uma workcell modular. O gestor de amostras envolve a frente (ou parte de trás) dos módulos analíticos que são desenhados para operar optimamente como instrumentos automatizados. (Adaptado de [18])</i>	40
<i>Figura 21 – Workcell pré-analítica é configurada com equipamentos mecânicos que efectuam a maioria das tarefas requeridas antes da análise.(Adaptado de [18])</i>	40
<i>Figura 22 - ADVIA WorkCell (Adaptado de [12])</i>	41
<i>Figura 23 - Distribuição do tempo de trabalho. Fonte: Argent Consulting, worldwide survey 2004</i>	41
<i>Figura 24 - Custos, por amostra. Fonte: Enterprise Analysis Corp., laboratories surveyed from US, England, Australia and Netherlands – 2004</i>	42
<i>Figura 25 - Distribuição do tempo de trabalho pré-analítico, Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics</i>	42
<i>Figura 26 - Distribuição do tempo de trabalho na fase analític. Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics</i>	42
<i>Figura 27 - A complexidade dos sistemas de informação laboratorial está a adaptar-se à crescentes necessidades de input e output existentes num laboratório automatizado. A informação sobre o utente é inserida manualmente na base de dados do sistema de informação laboratorial (LIS) e no sistema de informação do hospital. O software de controlo de processo regula a função dos sistemas automatizados, armazenando e manipulando conhecimento sobre a performance e estado do sistema. Este contolo de processo é fundamental para o sucesso de um sistema automatizado (Adaptado de [18])</i>	43
<i>Figura 28 - Plano aberto (Adaptado de [19])</i>	45
<i>Figura 29 - Uma das versões de uma cadeia automatizada para imunoquímica. Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics</i>	46
<i>Figura 30 – Esquema do layout do laboratório modelo</i>	55
<i>Figura 31- Organigrama do laboratório modelo</i>	56
<i>Figura 32- Fluxo de trabalho num laboratório modelo</i>	61
<i>Figura 33 –À esquerda: Recepção e Registo dos utentes. À direita: sala de espera.</i>	67

<i>Figura 34 - Sala de colheitas</i>	67
<i>Figura 35 - Zona de colheitas. A sala de espera tem capacidade para cerca de 100 pessoas.</i>	68
<i>Figura 36 - Área analítica e pré-analítica</i>	68
<i>Figura 37 - Amostras provenientes da sala de colheitas, antes de darem entrada</i>	68
<i>Figura 38 - À esquerda: sala de separação. À direita: centrífugas</i>	69
<i>Figura 39 - Amostras descapsuladas e prontas para serem transportadas para zona analítica</i>	69
<i>Figura 40 - Workcell</i>	70
<i>Figura 41 - Immulite 2000</i>	70
<i>Figura 42 - Fluxo de trabalho nos sectores de hematologia, imunologia e química clínica</i>	72
<i>Figura 43 - Estudo de outliers na amostra recolhida na zona de colheitas da clínica</i>	74
<i>Figura 44 - Estudo de outliers na amostra recolhida na sala de separação da clínica.</i>	75
<i>Figura 45 - Padrão de chegada dos utentes dia 12 de Junho de 2007</i>	77
<i>Figura 46 - Entrada principal e sinalização da área de colheitas do Hospital</i>	79
<i>Figura 47 - Layout do Laboratório do Hospital</i>	80
<i>Figura 48 - Área de recepção de amostras, Serviço de Patologia Clínica do Hospital</i>	80
<i>Figura 49 - Sala de fase pré-analítica e triagem</i>	81
<i>Figura 50 - Architect 2000SR e ADVIA centaur</i>	82
<i>Figura 51 -Área de Química Clínica</i>	83
<i>Figura 52 -Técnico a trabalhar na área da urgência</i>	83
<i>Figura 53 - Estudo de outliers na amostra recolhida na zona de colheitas do Hospital</i>	85
<i>Figura 54 - Estudo de outliers na amostra recolhida nas áreas pré-analítica e analítica do Hospital</i>	87
<i>Figura 55 -Fluxo de trabalho no sector de imunologia do Hospital público</i>	88
<i>Figura 56 - Módulo centrífuga-descapsulador(Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics)</i>	90
<i>Figura 57 - Espectro electromagnético. A espectrofotometria utiliza a radiação compreendida entre o ultravioleta (ultraviolet) e o infravermelho (infrared). (Adaptado de [7])</i>	128
<i>Figura 58 - Espectrofotómetro. A luz é dividida em feixes de diferentes comprimentos de onda por meio de um monocromador e passa através da amostra, contida numa cuvette ou célula de fotómetro. (Adaptado de [7])</i>	128
<i>Figura 59 -Eléctrodos de Referência de Colomelanos comerciais (Adaptado de [6])</i>	134
<i>Figura 60 - Esquema de uma sonda para detecção de dióxido de carbono(Adaptado de [6])</i>	136

<i>Figura 61 - Esquema do anticorpo IgG. (Adaptado de [8])</i>	139
<i>Figura 62 - Modelo Chave-Fechadura (Adaptado de [8])</i>	139
<i>Figura 63 - Radioimunoensaio (RIA)</i>	141
<i>Figura 64 - Curva Obtida</i>	141
<i>Figura 65 - Princípio da Hibridação.</i>	150
<i>Figura 66 - Diagrama de um sistema de electroforese capilar (Adaptado de [5])</i>	151
<i>Figura 67 - (A) Instrumentação de Electroforese Capilar. Um potencial é aplicado através de eléctrodos de Pt (não é mostrado) nos reservatórios de injeção e detecção. (B) Migração de aniões e catiões na ausência de fluxo electroosmótico (EOF) (C) Migração de aniões e catiões na presença de EOF. (Adaptado de [7])</i>	152
<i>Figura 68 - Molécula de DNA (Adaptado de [9])</i>	153
<i>Figura 69 - Passos envolvidos na PCR. (Adaptado de [13])</i>	155

Índice de Tabelas

<i>Tabela 1 – Planeamento do projecto</i>	4
<i>Tabela 2- Cinco empresas de top no Mercado IVD (Medical Product Outsourcing, Junho 2006)</i>	18
<i>Tabela 3 - Aplicações de Algumas Modalidades de Detecção em IVD (adaptado de [5])</i>	21
<i>Tabela 4 - Medições de alguns parâmetros sanguíneos (Adaptado de [11])</i>	24
<i>Tabela 5 - Alocação dos Recursos Humanos num Laboratório IVD Modelo</i>	58
<i>Tabela 6- Distribuição dos Recursos Humanos pelos diferentes sectores da clínica privada</i>	66
<i>Tabela 7 - Análise estatística dos dados recolhidos na zona de colheitas da clínica</i>	73
<i>Tabela 8 - Análise estatística dos dados recolhidos na sala de separação dos sectores de hematologia, imunologia e química clínica da clínica.</i>	75
<i>Tabela 9- Distribuição dos Recursos Humanos pelos diferentes sectores do Serviço de Patologia Clínica do Hospital</i>	78
<i>Tabela 10 - Horário e Proveniência das amostras recepcionadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital</i>	80
<i>Tabela 11 - Alocação dos Técnicos no Sector de Imunologia</i>	82
<i>Tabela 12 - Análise estatística dos dados obtidos na zona de colheitas do Hospital</i>	84
<i>Tabela 13 - Análise estatística dos dados obtidos no espaço pré-analítico e analítico do Hospital</i>	86
<i>Tabela 14 - Diferença entre os dois serviços em estudo</i>	92
<i>Tabela 15 - Projectos a decorrer no Instituto de Biologia Molecular e Celular</i>	105
<i>Tabela 16 - Projectos a decorrer no Instituto Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto</i>	109
<i>Tabela 17 - Projectos a decorrer no Instituto de Tecnologia Química e Biológica</i>	113
<i>Tabela 18 - Projectos a decorrer no Laboratório de Instrumentação e Física Experimental</i>	116
<i>Tabela 19 - Projectos a decorrer no Centro de Neurociências</i>	118
<i>Tabela 20 - Projectos a decorrer no Instituto de Medicina Molecular</i>	121
<i>Tabela 21 - Esperança de vida à nascença em Portugal em 1960, 1970, 1980, 1990 e 2002</i>	125
<i>Tabela 22 - Taxas de mortalidade padronizada (método directo) geral e por algumas causas</i>	125
<i>Tabela 23 - Aplicações Clínicas da Citometria de fluxo (Adaptado de [7])</i>	131
<i>Tabela 24 - Potencial para vários tipos de eléctrodo (Adaptado de [6])</i>	134
<i>Tabela 25 - Imunoensaios Enzimáticos (Adaptado de [7])</i>	142

<i>Tabela 26 - Procedimentos de Acoplamento de Enzimas (Adaptado de [7])</i>	145
<i>Tabela 27 - Imunoensaios por Fluorescência (Adaptado de [7])</i>	146
<i>Tabela 28 - Procedimentos Quimioluminescentes (Adaptado de [7])</i>	148
<i>Tabela 29 - Amplificação de ácidos nucleicos baseada em PCR (Adaptado de [7])</i>	155
<i>Tabela 30 – Hibridação (Adaptado de [7])</i>	157
<i>Tabela 31 - Tecnologia de DNA Ramificado (bDNA) (Adaptado de [7])</i>	158

Notação e Glossário

Ab	Anticorpo (<i>Antibody</i>)
Ag	Antigénio (<i>Antigene</i>)
AVC	Acidente Vascular Cerebral
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
EIA	Imunoensaio Enzimático (<i>Enzyme Immunoassay</i>)
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
EPO	Eritropoietina
FISH	Hibridação in situ por Fluorescência (<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>)
FRET	<i>Fluorescence Resonance Energy Transfer</i>
HCV	Vírus da Hepatite C
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida (<i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
HSV- I	Herpes Simplex Virus Tipo I
IVD	Diagnóstico <i>in vitro</i> (<i>In vitro Diagnostic</i>)
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade (<i>Low-Density Lipoproteins</i>)
LIS	Sistema de Informação Laboratorial (<i>Lab Information System</i>)
MBPL	Manual de Boas Práticas Laboratoriais
NIR	Infravermelhos Próximos (<i>Near Infrared</i>)
PCR	Reacção em cadeia de polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PCS	Prestador de Cuidados de Saúde
RIA	Radioimunoensaio (<i>Radioimmunoassay</i>)
RNA	Ácido Ribonucleico (<i>Ribonucleic acid</i>)
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TDM	Monitorização de terapia por fármacos (<i>Therapy Drug Monitoring</i>)
TLA	Automação laboratorial total (<i>Total Laboratory Automation</i>)

UV Ultra Violeta

PARTE I : ENQUADRAMENTO GERAL

Capítulo 1 – O Enquadramento do Relatório e do Estágio

Ao terminar a parte curricular do curso de Engenharia Biomédica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, compete-me no último ano do curso desenvolver, em contexto empresarial, um trabalho na área de medicina molecular.

1.1. Enquadramento

A medicina molecular é uma nova área do conhecimento, que permite revelar causas e fornecer pistas para a prevenção e cura de várias patologias através da compreensão de mecanismos moleculares específicos das mesmas.

O progresso da medicina molecular pode induzir a mudança na filosofia dos sistemas de saúde de uma medicina reactiva (espera de sintomas ou evidência clara de uma doença) baseada no *sickness repair* para uma medicina preventiva, preditiva e personalizada.

Este trabalho incidirá especialmente no diagnóstico *in vitro* (IVD), cujo papel é de extrema importância desde a detecção precoce das diferentes patologias até ao tratamento e monitorização continuada para evitar a recorrência das mesmas.

1.2. Apresentação do projecto de estágio

Através do projecto desenvolvido, pretende-se ganhar as competências necessárias para dimensionar um centro de medicina molecular, a nível nacional, para estar preparado para os próximos 10 a 15 anos, focando-se o estudo sobre o diagnóstico *in vitro*.

As grandes alterações demográficas que se verificam em todo o mundo, alteram significativamente os desafios para o sistema de cuidados de saúde, fornecendo simultaneamente novas oportunidades. A população idosa está a aumentar, havendo um aumento nas necessidades de cuidados de saúde.

Como referido anteriormente, a medicina molecular tem um papel relevante no diagnóstico tanto *in vivo* como *in vitro*, permitindo com uma detecção precoce das patologias, uma terapia mais eficiente e personalizada, tendo o diagnóstico *in vitro* um papel activo desde a detecção precoce de doenças até à terapia e considerando as características populacionais anteriormente referidas, a investigação nesta área é extremamente importante.

Assim, este projecto consiste na pesquisa e análise do estado-da-arte de tecnologias associadas ao diagnóstico *in vitro*, aos projectos em desenvolvimento na área que poderão fornecer novas ferramentas para o desenvolvimento de melhores tecnologias assim como a um estudo e optimização de fluxos de trabalho num laboratório de diagnóstico *in vitro* e dos recursos associados ao mesmo. Também o *layout* é um aspecto a estudar e optimizar, culminando este projecto com o *layout* de um centro de medicina molecular, com uma caracterização do *workflow* e recursos humanos necessários.

A tabela 1 apresenta o planeamento do projecto.

Tabela 1 – Planeamento do projecto

ID		Tarefa		Timeline e 1º Semestre																							
				Setembro				Outubro				Novembro				Dezembro											
				S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4								
1	Conhecer a Empresa	█																									
2	Pesquisa sobre tecnologias, produtos e soluções associadas a IVD	█	█	█	█																						
3	Pesquisa sobre investigação realizada em centros de I&D em Portugal																										
				Timeline 2º Semestre																							
				Janeiro				Fevereiro				Março				Abril				Maio				Junho			
				S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
4	Pesquisa sobre futuras tecnologias e clientes do CMM	█	█																								
5	Pesquisa na legislação e em manuais de boas práticas sobre fluxos de trabalho e competências profissionais																										
6	Pesquisa sobre <i>layout</i> de laboratórios																										
7	Pesquisa sobre optimização de fluxos de trabalho e sistemas de automação																										
8	Visita a PCS																										
9	Análise e optimização do fluxo de trabalho do PCS																										
10	Planeamento de um laboratório considerado ideal																										

1.3. Apresentação da Empresa

A Siemens, SA – Medical Solutions é um dos grupos operacionais inseridos na Siemens, SA. Apresenta produtos, sistemas e soluções na área da saúde, contribuindo significativamente para a optimização de processos em clínicas, centros de saúde e

hospitais, ajudando a tornar o diagnóstico mais rápido e preciso, facilitando assim a terapia.

A Siemens é líder em equipamentos de alta tecnologia para diagnóstico, terapia e monitorização, bem como em sistemas de comunicação e armazenamento digital de imagens, oferecendo um serviço completo de pós-venda.

Alguns exemplos de produtos inovadores são os sistemas de informação e imagem, de suporte à decisão clínica nas áreas de cuidados críticos, os sistemas de ressonância magnética, de tomografia axial computadorizada, os raios-X digital, a tomografia por emissão de positrões, as unidades de ecografia e mamografia assim como, mais recentemente, sistemas para diagnóstico *in vitro*.

1.4. Contributos deste trabalho

Este trabalho permite uma maior compreensão da nova área de intervenção da Siemens Medical Solutions – o diagnóstico *in vitro*, tanto a nível de tecnologias como a nível de funcionamento de um laboratório desta área.

Outra motivação que impulsiona a execução deste trabalho relaciona-se com o facto de ainda existir pouca informação sistematizada no que diz respeito aos fluxos de trabalho em serviços hospitalares, que esteja em concordância com o panorama nacional. Uma caracterização do fluxo de trabalho num laboratório de IVD, em termos de espaços, pessoal, meios e tempos de duração torna-se assim num conteúdo relevante, que poderá ser útil não só para um conhecimento mais profundo do funcionamento de um laboratório de IVD, mas também para uma posterior optimização.

O presente projecto permite não só incrementar o conhecimento da nova área de intervenção da Siemens Medical Solutions mas também, a partir da análise do fluxo de trabalho de um laboratório propor melhorias a vários níveis. Está assim perfeitamente enquadrado no objectivo principal da estratégia da Siemens, SA – Medical Solutions: auxiliar na melhoria da eficiência dos cuidados de saúde, o que significa, aumentar a qualidade dos cuidados de saúde e reduzir custos, isto é, melhorar a prestação de cuidados de saúde ao cliente.

1.5. Organização do relatório

Este relatório está dividido em quatro partes:

Parte I: Enquadramento Geral

Nesta parte, o relatório é contextualizado, foca-se a sua planificação assim como se identificam as reuniões de acompanhamento e se procede a uma pequena apresentação da empresa onde decorre o estágio.

Parte II: O papel do diagnóstico *in vitro* no contexto da Medicina Molecular

Esta parte encontra-se dividida em dois capítulos.

No primeiro, é feita uma abordagem à Medicina Molecular, a um futuro centro de medicina molecular e é feita a contextualização do diagnóstico *in vitro* nesta área tendo em conta a devida definição de conceitos.

No segundo é feita a sistematização de informação recolhida acerca de diagnóstico *in vitro*, desde as tecnologias, ao fluxo de trabalho num laboratório, *layout* e automatização e optimização de um laboratório.

Parte III: O Laboratório Modelo

Com base no capítulo anterior pretende-se planificar um laboratório que tenha um funcionamento “ótimo” e que permita uma fácil adaptação a tecnologias futuras podendo servir como exemplo para a implementação de novos laboratórios.

Parte IV: Estudo de Caso

Pretende-se nesta parte, mostrar o funcionamento de um laboratório real procedendo posteriormente à optimização do fluxo de trabalho aí praticado. Para o efeito, recorreu-se a uma visita a um hospital público e a uma clínica privada, tendo-se efectuado recolha de dados *in loco* e uma análise comparativa entre os dois métodos de trabalho.

**PARTE II - O PAPEL DO DIAGNÓSTICO IN
VITRO NO CONTEXTO DA MEDICINA
MOLECULAR**

Capítulo 1 – A Medicina Molecular

Este capítulo apresenta uma introdução ao conceito de medicina molecular e à contextualização do diagnóstico *in vitro* nesta disciplina. É também efectuada uma sistematização da informação recolhida sobre os projectos em desenvolvimento em Portugal na área de medicina molecular, permitindo inferir sobre o futuro desta área. Finalmente é apresentada uma abordagem ao mercado na área do diagnóstico *in vitro*, a área na qual este trabalho se insere.

1.1. O que é a Medicina Molecular

A medicina molecular é uma nova área do conhecimento, que surge da convergência entre a biologia molecular e celular e a tecnologia de imagem, e que é definida como a caracterização e a medição *in-vivo* de processos biológicos ao nível celular e molecular, podendo revelar causas e fornecer pistas para a prevenção e cura de várias patologias através da compreensão de mecanismos moleculares específicos das mesmas.

Os conceitos terapêuticos inovadores, tal como o conceito *theranostic* e *pharmacogenomics*, são simultaneamente forças directrizes que influenciam o progresso da medicina molecular. Estes conceitos podem induzir a mudança na filosofia dos sistemas de saúde de uma medicina reactiva (espera de sintomas ou evidência clara de uma doença) baseada no *sickness repair* para uma medicina preventiva, preditiva e personalizada.

A estratégia actual nesta disciplina consiste em identificar uma molécula alvo num órgão específico, ou o estado da doença num organismo vivo, desenvolver uma sonda de elevada afinidade com a molécula e utilizá-la para detectar a distribuição e farmacocinética da mesma. Os genes, constituídos por moléculas de ácido desoxiribonucleico (DNA), são um dos alvos principais da investigação, uma vez que muitas doenças podem ser provocadas por alterações a este nível.

Quando um gene é activado, é sintetizada uma proteína a partir da sua sequência nucleotídica.^[1] Também estas proteínas podem ser detectadas através de ensaios clínicos.

O objectivo da medicina molecular consiste essencialmente em detectar doenças precocemente, antes dos sintomas se revelarem ou de serem detectadas por exames de diagnóstico.^[2]

Um centro de medicina molecular consiste num centro onde estão reunidos meios de diagnóstico que permitem a detecção de eventos moleculares/celulares no organismo que podem desencadear uma série de patologias, nomeadamente o cancro.

Neste contexto, os meios de diagnóstico *in vivo* como é o caso de ressonância magnética, tomografia computadorizada, ultrassons e equipamentos de medicina nuclear (tomografia por emissão de positrões - PET e tomografia por emissão de fotão único - SPECT) fazem parte integrante. Também o papel do diagnóstico *in vitro* é de extrema importância devido ao elevado número de testes, nomeadamente marcadores tumorais, cardíacos, coagulação e de diagnóstico molecular, que são actualmente passíveis de serem realizados.

Este trabalho incidirá especialmente no diagnóstico *in vitro* (IVD), cujo papel é de extrema importância desde a detecção precoce da patologia até ao tratamento e monitorização continuada para evitar a recorrência das mesmas, como se pode observar no seguinte esquema (figura 1).

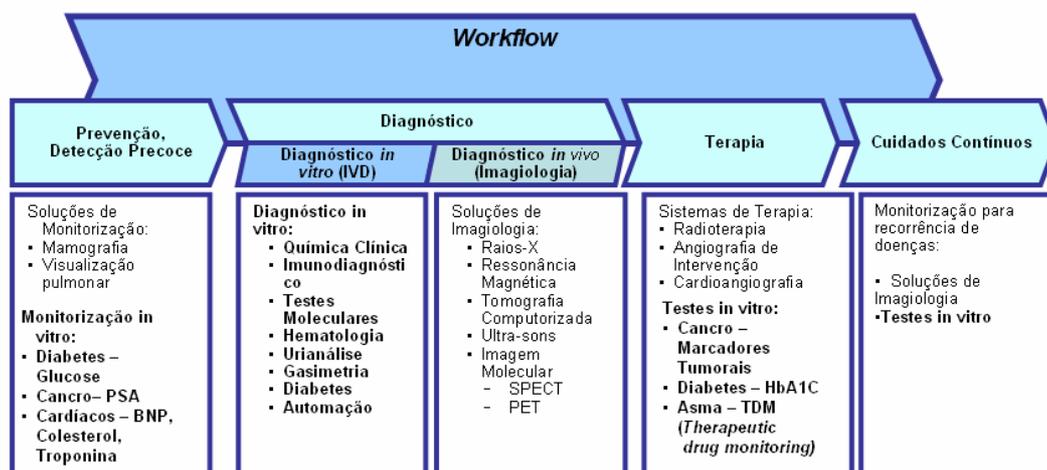


Figura 1 - Papel do Diagnóstico *in vitro* (Fonte: SMS Diagnostics)

1.2. Projectos em Desenvolvimento em Portugal

No contexto deste trabalho, são referenciados os projectos de investigação que se encontram em curso no nosso país, permitindo assim, uma melhor compreensão do presente e inferir algumas evoluções para o futuro.

Existem alguns laboratórios e unidades de investigação na área da química, biologia, bioquímica e medicina que visam o estudo de doenças genéticas, infecciosas, diagnóstico e prevenção do cancro, entre outros.

Entre estas unidades de investigação, incluem-se o Instituto de Biologia Molecular e Celular (IBMC), o Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (IPATIMUP), assim como grupos de investigação em algumas universidades.

Existem alguns projectos que visam a procura de novos marcadores e supressores tumorais assim como de novas terapias para o cancro.

O projecto do Genoma Humano despertou a curiosidade para a compreensão das doenças genéticas. Uma patologia estudada por vários intitutos é a Doença de Machado-Joseph, uma ataxia frequentemente diagnosticada em descendentes de açoreanos.

Sendo as mutações no DNA as responsáveis pelas doenças genéticas e tendo em conta que uma das principais funções do DNA é produzir proteínas, existem também vários projectos que visam o estudo de proteínas. Estes estudos são essencialmente efectuados no IBMC, sendo utilizadas técnicas de reacção em cadeia da polimerase (PCR), hibridação, electroforese e *microarrays*, entre outras.

No IPATIMUP também se desenvolvem alguns estudos genéticos sendo, no entanto, a *Helicobacter Pylori* o objecto central da maioria dos estudos, uma vez que se crê ser o principal precursor do cancro do estômago. De facto, neste instituto, os estudos incidem essencialmente sobre neoplasias malignas ou pré-malignas havendo também projectos de desenvolvimento de novos marcadores de prognóstico e novas ferramentas terapêuticas.

Sendo a obesidade considerada a epidemia do século XXI, é natural que haja bastantes estudos visando as perturbações a ela associadas, entre as quais a diabetes, sendo o Centro de Neurociências (CNC) um pioneiro neste tipo de estudos.

O CNC engloba também projectos na área da epilepsia e doenças neurodegenerativas. Uma vez que se tem verificado um aumento na esperança média de vida, este tipo de doenças torna-se mais frequente, nomeadamente a Doença de Alzheimer que afecta 8 a 15% das pessoas com mais de 65 anos.

O Instituto de Medicina Molecular (IMM) também possui projectos relevantes nesta procurando identificar potenciais alvos para o prognóstico, diagnóstico e terapêutica de doenças cardio- e cerebro-vasculares e neurodegenerativas através de estudos electrofisiológicos em doentes, modelos animais, e modelos celulares.

De grande relevância neste instituto são também os estudos de doenças como a SIDA e a Hepatite, estando neste momento em curso vários projectos que procuram elucidar os mecanismos de patogénese da infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (VIH), herpes (HSV-I e II) e Hepatite C (HCV), e ainda avaliar a reconstituição imune com tratamento antiretroviral em doentes com SIDA.

As universidades também são sedes de grupos de investigação e desenvolvimento, havendo projectos que visam o aumento de rapidez no diagnóstico, como por exemplo o MicroLab, um sistema portátil de análises, desenvolvido na Universidade do Minho, e *biochips* electrónicos, desenvolvidos no Instituto Superior Técnico.

O financiamento dos projectos por parte da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) tem sido constante ao longo dos últimos anos embora tenha havido um crescimento de financiamento atribuído em 2004, o que pode abrir grandes expectativas futuras. Nesse mesmo ano verificou-se um maior crescimento, especialmente nas áreas de Ciências Biológicas e Ciências da Saúde que são próximas e fundamentais para o desenvolvimento do IVD.

Informações mais detalhadas sobre esta matéria encontram-se no anexo 1.

1.3. Futuro da Medicina Molecular

Tendo como base os projectos em desenvolvimento nas várias unidades de investigação e desenvolvimento, pretende-se agora fazer uma breve abordagem àquelas que serão as tecnologias utilizadas no futuro, assim como quem serão os clientes de um futuro Centro de Medicina Molecular.

1.3.1. Tecnologias

O projecto do genoma humano em conjunto com o crescente conhecimento das interacções moleculares subjacentes ao normal funcionamento do corpo humano assim como às alterações que promovem as doenças, marcam o início da descoberta de novos marcadores e predisposição para doenças. Como consequência, estão a ser desenvolvidas novas terapias dirigidas para o foco da doença em conjunto com testes complementares de diagnóstico. Isto resulta na introdução de dois novos conceitos: *pharmacogenomics* e *theranostics*.

A *Pharmacogenomics* tem em atenção a influência da variação genética na resposta a fármacos em utentes, correlacionando a expressão génica ou polimorfismos com a eficácia ou toxicidade de um fármaco. Com isto, a *pharmacogenomics* pretende desenvolver meios para otimizar a terapia por fármacos tendo em conta o genótipo do utente, assegurando uma máxima eficácia com efeitos adversos mínimos.

O *theranostic* (terapia + diagnóstico) pode ser definido como a integração única de diagnóstico e terapia para com o objectivo de desenvolvimento de fármacos tendo como base a *pharmacogenomics*, diminuir o tempo de tratamento e melhorar a relação custo/eficácia.

Estes novos conceitos trazem a “medicina personalizada”, na qual fármacos e combinações de fármacos são otimizados para cada indivíduo.

Os testes de *theranostic* ocupam uma posição pivot no cruzamento das forças motrizes que contribuem para melhores cuidados de saúde (figura 2)

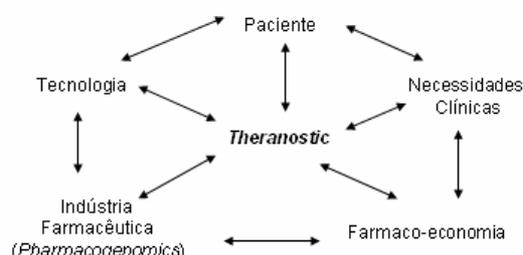


Figura 2 – Os testes de *theranostic* ocupam uma posição pivot no cruzamento das forças motrizes que contribuem para melhores cuidados de saúde

Os pontos críticos para o avanço da medicina molecular são a implementação de programas de investigação na área de medicina molecular e da terapia génica assim

como o desenvolvimento de novas tecnologias de imagem, sondas e agentes de contraste.

A expansão da nanotecnologia paralelamente ao desenvolvimento do projecto do genoma humano é fundamental para aplicação em novos biosensores, biomarcadores e libertação controlada de fármacos. São os nanosistemas que vão redefinir a prática de aquisição de imagem, passando esta a ser focada nos mecanismos celulares e moleculares das doenças.

Sondas moleculares podem ser agentes produtores de sinal acoplados a fármacos ou proteínas desenhadas para serem específicas para um dado processo biológico ou molecular. Uma sonda também pode ser introduzida como gene que codifica uma proteína opticamente activa ou a um receptor-contraste. Isto permite uma detecção *in vivo* através de equipamentos de imagiologia de tecnologia óptica que têm grande potencial apesar de no presente ainda terem algumas limitações.

Como já foi referido, a terapia génica também tem grande potencial para aplicação futura, nomeadamente em doenças cardiovasculares, uma das principais causas de morte em Portugal. Isto é possível graças à capacidade de alguns genes para estimular o crescimento de vasos sanguíneos, melhorando a insuficiência cardíaca, outros permitem a prevenção de trombozes.

Relativamente a tecnologias para novos equipamentos de IVD, devido à personalização da medicina, prevê-se uma revolução na área de diagnóstico molecular, devido não só às mutações dos vírus que acontecem frequentemente mas também à necessidade de recorrer ao DNA para detectar a predisposição para várias doenças.

Também todos os estudos em desenvolvimento em Portugal podem permitir novos conhecimentos acerca de proteínas ou anticorpos que permitam o desenvolvimento de novas tecnologias para imunodiagnóstico, assim como a existência de microlaboratórios (laboratórios num chip) que permitam um diagnóstico mais rápido efectuado inclusive nos consultórios.

No entanto, para verificação de resultados é sempre conveniente recorrer aos laboratórios de IVD que serão cada vez mais automatizados para eliminar o manuseamento de reagentes e amostras evitando erros e aumentando a segurança do

laboratório. É também necessário melhorar o tempo de resposta, a eficiência e a produtividade sem esquecer a necessidade de controlo de custos. Isto é possível graças ao avanços nas tecnologias de automatização, sendo o maior desafio – e também a maior oportunidade – a utilização de tecnologias de informação como ligação entre o resultado dos testes e o conhecimento havendo um maior suporte ao médico e ao utente numa melhor utilização dos resultados. O assunto da automatização será focado no segundo capítulo da parte II.

1.3.2. Clientes

O envelhecimento da população portuguesa fez-se sentir de forma particularmente evidente desde o início da década de quarenta do século XX até aos nossos dias.^[3]

O envelhecimento em si, revela-se com uma tendência positiva ligada a maior eficácia das medidas preventivas em saúde e avanço da ciência no combate à doença

O aumento da longevidade decorrente duma diminuição da mortalidade, conjugado com a diminuição dos nascimentos, conduziu Portugal no caminho do envelhecimento.

A esperança de vida à nascença é o indicador demográfico que espelha a melhoria do nível de saúde nos últimos 40 anos em Portugal (ver anexo 2). Apesar do País se encontrar, ainda, em posição inferior à média comunitária, tem apresentado uma evolução positiva neste indicador, tanto no sexo masculino, como no sexo feminino. No entanto, a distância entre homens e mulheres tem tido tendência a aumentar em favor destas.

A população idosa tem maior permeabilidade a determinadas doenças físicas e são os idosos quem mais recorre aos serviços de saúde que até ao momento não conseguiram implementar um modelo de assistência capaz de satisfazer as suas necessidades, na medida em que os seus problemas são específicos, são de longa duração, requerem pessoal qualificado, equipas multidisciplinares, acompanhamento em permanência, equipamentos próprios e exames complementares.

Entre 1980 e 2003 verificou-se uma descida acentuada na taxa de mortalidade padronizada para todas as causas (ver anexo 2). A taxa de mortalidade padronizada por doenças cérebro-vasculares, apesar da tendência decrescente verificada, continua a ser a principal causa de morte e Portugal, no contexto da União Europeia, continua

acima da média comunitária e permanece no grupo dos cinco países que apresentam esta taxa mais elevada.^[4]

Entre 1980 e 2002 assistiu-se a uma inversão das posições relativas da mortalidade por tumores malignos do pulmão e do estômago. Apesar de Portugal ser um dos quatro países da União Europeia com as mais elevadas taxas de mortalidade por tumor maligno do estômago, aquela tem vindo a decrescer paralelamente à da média da União Europeia, não se prevendo que, nos próximos anos, possa descer abaixo desta.

A taxa de mortalidade padronizada por tumores malignos da traqueia, brônquios e pulmões teve um crescimento de mais de 50% desde 2000, passando, no sexo masculino, de sexta a quarta causa de morte. A mortalidade por todos os tumores malignos tem-se mantido estável e abaixo da média comunitária.^[4]

As doenças não transmissíveis e de evolução prolongada, fruto das suas características insidiosas, incapacitantes e tendentes para a cronicidade, tornam-se as principais causas de morbilidade e mortalidade das pessoas idosas. Sabe-se, no entanto, que grande parte das complicações destas doenças, pode não apenas ser retardada no seu aparecimento, como minorada.

No contexto da patologia crónica que, em geral, mais afecta as pessoas idosas, não são, habitualmente, valorizadas as deficiências visuais e auditivas, assim como os problemas de saúde oral, os quais têm importante repercussão negativa, nomeadamente no isolamento e estado de nutrição destas pessoas bem como em todo o seu equilíbrio bio-psico-social.

No que se refere à doença de Parkinson, a sua prevalência aumenta de 0,6% aos 65 anos, para 3,5% aos 85 e mais anos, sendo uma das doenças crónicas neurodegenerativas mais comuns na população idosa.

Há que referir que a prevalência da demência aumenta, de 1% aos 65 anos, para 30% aos 85 anos de idade, duplicando, entre os 60 e os 95 anos, em cada cinco anos e sobrevivendo as mulheres com demência mais tempo do que os homens com esta doença, apesar de ser maior a incidência de doença de Alzheimer no sexo feminino.

De igual modo, a prevalência de acidente vascular cerebral (AVC) aumenta com a idade, de 3% aos 65 anos para 30% aos 85 e mais anos, sendo o AVC uma importante causa de morte e de séria deficiência na União Europeia. Refira-se que as pessoas com

doença cardiovascular têm um risco mais elevado, estimado em cerca de 30%, de desenvolverem demência, incluindo a doença de Alzheimer.^[5]

Tendo em conta toda esta informação pode-se inferir que um Centro de Medicina Molecular será de extrema importância para um diagnóstico precoce essencialmente de doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares e tumores assim como para pesquisa e aplicação de novas terapêuticas, nomeadamente terapêuticas personalizadas, sendo aplicada também a medicina preventiva.

Por outro lado, parece que investir na prevenção, reduzirá substancialmente os custos relativamente aos custos que se teriam no tratamento das doenças.

Aliado à investigação, o mercado avança tendo em vista a oferta de produtos vanguardistas que respondam cada vez melhor as necessidades da procura. É nessa sequência que passarei à abordagem do mercado *in vitro*

1.4. Mercado *in vitro*

Em 2004, efectuou-se um estudo do mercado *in vitro* nos Estados Unidos da América (EUA), avaliando o perfil de várias empresas, nos vários segmentos de mercado.

Este estudo teve em consideração os seguintes pontos: tecnologias; detalhes da estrutura da indústria; avaliação da cota de mercado das empresas e o perfil de 27 empresas.

A tabela 2 ilustra o total de vendas e as percentagens no mercado de 5 empresas no top do mercado *in vitro*.

O mesmo estudo visou a previsão de evolução deste mercado até 2009, concluindo-se que o mercado *in vitro* crescerá 6.1% até 2009. As áreas de imunodiagnóstico e análises de química clínica continuarão no topo das ciências do IVD enquanto que os produtos de diagnóstico molecular serão os que irão ter um maior crescimento (figura 3)

Tabela 2- Cinco empresas de top no Mercado IVD (Medical Product Outsourcing, Junho 2006)

Empresa / país de Origem	Vendas IVD (\$ Milhões)	Total de vendas da empresa (\$ Milhões)	% Dos negócios Totais da empresa no mercado IVD
Roche Diagnostics (Switzerland - U.S. HQ Indiana)	\$ 6,300	\$ 27,000	23%
Bayer Diagnostics (Germany)	\$ 2,500	\$ 32,000	8%
Beckman Coulter (U.S. - California)	\$ 6,300	\$ 27,000	79%
bioMerieux (France)	\$ 1,200	\$ 1,200	100%
Diagnostic Products Corp. (California)	\$ 399	\$ 399	100%

Os laboratórios hospitalares irão liderar o mercado baseado no aumento do internamento dos utentes, serviço de urgências e actividades de cuidados pós-cirúrgicos.

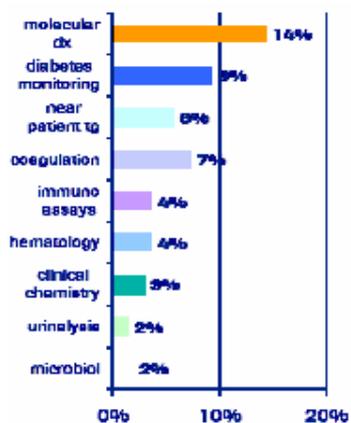


Figura 3 - Crescimento previsto (2004 a 2009) nas diferentes áreas do diagnóstico In-vitro (Fonte: Roche)

Desta forma e tendo em conta a previsão do crescimento nesta área de mercado assim como a importância do investimento na prevenção da doença e do papel do Centro de Medicina Molecular passarei a debruçar-me sobre o funcionamento de um Laboratório de IVD, assim como das tecnologias associadas ao mesmo.^[5]

Capítulo 2 –O Laboratório de Diagnóstico *in vitro*

Um sistema de saúde pode ser definido como uma soma de instituições prestadoras de cuidados de saúde (PCS) e de pessoas, que promovem, mantêm e restabelecem a saúde pública. Entre as múltiplas valências contempladas por um PCS encontra-se o laboratório de análises clínicas.

A principal missão de um laboratório é realizar serviços de análises clínicas e toxicológicas, atendendo aos requisitos de qualidade e propiciando aos clientes, através dos exames laboratoriais, auxílio à prevenção, diagnóstico, prognóstico e ao tratamento de diversas patologias.

Os fluidos que permitem obter os resultados clínicos pretendidos são o sangue, a urina, o fluído cerebrospinal ou o esperma, entre outros, podendo ser analisados nas várias áreas de diagnóstico *in vitro*: química clínica, imunologia, hematologia, urianálise, gasimetria e diagnóstico molecular.

Este capítulo consiste numa breve abordagem à importância e às tecnologias, associadas a cada área, sendo primeiramente feita uma abordagem às tecnologias de detecção de sinal, o factor fundamental para um correcto diagnóstico. Será posteriormente feita uma descrição do fluxo de trabalho para a realização de diagnóstico *in vitro* e do *layout* de um laboratório.

Este serviço é transversal a muitos serviços clínicos, sendo parte integrante da rotina clínica e, portanto, é importante que haja uma gestão adequada dos recursos envolvidos e um fluxo de trabalho optimizado.

2.1. Diagnóstico *in vitro*

Segue-se uma breve introdução a tecnologias de detecção em diagnóstico *in vitro*, nomeadamente absorvância, reflectância, fluorescência e quimioluminescência. Também os biosensores podem reconhecer biologicamente o analito, havendo posteriormente uma transdução do sinal detectado. Aqui enquadram-se por exemplo, os imunoensaios e a potenciometria. Será também efectuada uma breve abordagem às várias áreas do diagnóstico *in vitro* assim como uma associação destas tecnologias a cada área de diagnóstico

2.1.1. Tecnologias

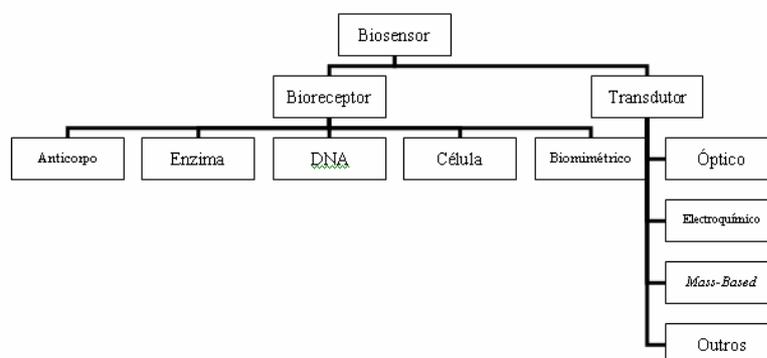
O sinal, num ensaio clínico, pode ser gerado de várias formas, dependendo tanto das características do analito alvo, como do objectivo do teste. Por vezes, o analito tem características intrínsecas que o permite identificar directamente na sua matriz. Na maioria dos casos, tem que ser tratado com um reagente químico extrínseco de forma a gerar o contraste necessário à sua identificação. São estes reagentes químicos que se ligam ou reagem com o analito para gerar o contraste que são a base de grande parte dos testes de química clínica, citológicos e histológicos.

As várias modalidades de detecção do sinal gerado, encontram resumidas na Tabela 3.

A detecção de um analito pode também ser efectuada através de reconhecimento biológico, sendo utilizados **biosensores**.

Um biosensor pode ser definido genericamente como um sistema que consiste em duas componentes básicas ligadas em série (figura 4):

- Um sistema de reconhecimento biológico (bioreceptor)
- Um transdutor



*Figura 4 –
Esquema de
classificação de
biosensores
(Adaptado de
[7])*

O princípio básico de um biosensor é detectar o reconhecimento molecular e transformá-lo num outro tipo de sinal usando um transdutor. (figura 5).

Tabela 3 - Aplicações de Algumas Modalidades de Detecção em IVD (adaptado de [5])

Detecção		Tipos de Ensaio	Analitos	Características
Absorvância		Químico, Imunoensaio Enzimático (EIA)	Químicos Clínicos	Parcialmente Auto- Compensador
Reflectância Difusa		Imunoensaio de Fluxo Lateral	Drogas, Pequenas Moléculas	Processamento Simplificado
		Imunoensaio de Fluxo Transversal	Drogas, Pequenas e Grandes Moléculas, Bactérias, Vírus	Processamento Simplificado
Intensidade De Fluorescência		Imunoensaios de Coloração Directa, EIA, Sondas de DNA	Drogas, Pequenas e Grandes Moléculas, Bactérias, Vírus	Bastante sensível
Polarização		Imunoensaios de Coloração Directa	Drogas, Pequenas Moléculas	Não é necessária separação da mistura
Quimioluminescência		Imunoensaios de Coloração Directa	Drogas, Pequenas e Grandes Moléculas, Bactérias, Vírus	Extremamente Sensível.
Sensores <i>Waveguide</i>	Absorvância	Imunoensaio Competitivo	Drogas, Pequenas Moléculas	Processamento Simplificado
	Fluorescência	Imunoensaio Competitivo	Drogas, Pequenas Moléculas	Processamento Simplificado
	Índice de Refracção	Ligação Específica	Drogas, Pequenas e Grandes Moléculas, Bactérias, Vírus	Sem Reagentes Extrínsecos
Sistemas de Imagem Clássicos		Análise de Imagem	Citologia, Histologia, Microbiologia, Coagulação	Combina cromático e morfológico
<i>Multiplexed</i>		Fotométrico	Drogas, Pequenas e Grandes Moléculas, Bactérias, Vírus	<i>Throughput</i> melhorado
Espectrográfico		Hiperespectral	Análise Celular	Caracterização e Morfologia Detalhadas.

O princípio básico de um biosensor é detectar o reconhecimento molecular e transformá-lo num outro tipo de sinal usando um transdutor. (figura 5).

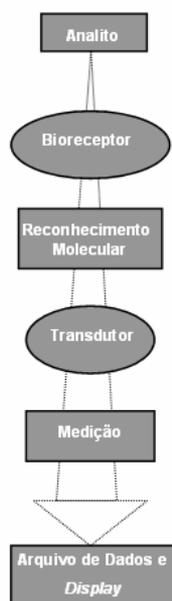


Figura 5 - Diagrama do princípio de funcionamento de um biosensor.(Adaptado de [7])

Os **transdutores** (ver anexo 3) são classificados nas seguintes categorias:

- (a) **Ópticos**
- (b) **Electroquímicos**
- (c) **Mass-Sensitive**

Os bioreceptores são responsáveis por ligar o analito de interesse ao sensor de medição. Os **bioreceptores** (ver anexo 4) podem ser classificados nas seguintes categorias:

- (A) **Anticorpo/Antigénio**
- (B) **Enzimas**
- (C) **Ácidos Nucleicos/DNA**
- (D) **Estruturas Celulares**
- (E) **Biomimétricos**

2.1.2. Áreas de Intervenção

Após a breve abordagem às tecnologias de detecção segue-se uma descrição das áreas do diagnóstico *in vitro*, assim como as tecnologias a elas associadas.

2.1.2.1. Hematologia

Esta área do diagnóstico *in vitro* engloba ensaios de coagulação, teste para hemoglobinopatias e avaliação da morfologia de células da medula óssea. Os testes mais rotineiros desta área são as contagens de células sanguíneas e testes de coagulação.

Os sistemas de hematologia são baseados na fluorescência e usam como princípios de detecção a absorvância e a citometria de fluxo para gerar uma rápida contagem de células sanguíneas.

Para analisar glóbulos vermelhos (volume e concentração de hemoglobina), por exemplo, usa-se um laser. A quantidade de luz dispersa com um ângulo pequeno (2°-3°), é dependente do volume da célula. A quantidade de luz dispersa em ângulos maiores (5°-15°) está relacionada como índice de refração da célula. Esta medida mede a concentração de hemoglobina nos glóbulos vermelhos.

A contagem dos glóbulos brancos faz-se segundo o método de peroxidase. É utilizada uma reação citoquímica em duas fases utilizando uma enzima intracelular, a mieloperoxidase, para diferenciar as células.

As células são analisadas, pela adição peroxidase ao substrato, havendo alteração de cor, ou seja, trata-se de um método colorimétrico. É posteriormente medida a absorvância da luz branca pela fonte de luz de tungsténio.^[10]

Na tabela 4 estão resumidas funções de algumas análises assim como os valores normais dos parâmetros medidos.

Tabela 4 - Medições de alguns parâmetros sanguíneos (Adaptado de [11])

Análise	O que mede	Valores normais
Hemoglobina	Quantidade desta proteína que transporta oxigénio dentro dos glóbulos vermelhos.	Homens: de 14 g a 16 g por decilitro Mulheres: de 12,5 g a 15 g por decilitro.
Hematócrito	Proporção de glóbulos vermelhos no volume total de sangue.	Homens: 42 % a 50 % Mulheres: 38 % a 47 %
Volume globular médio	Valor estimado do volume dos glóbulos vermelhos.	86 a 98 micrómetros cúbicos.
Contagem de glóbulos brancos	Quantidade de células brancas num volume específico de sangue.	4500 a 10 500 por microlitro.
Contagem diferencial de glóbulos brancos	Percentagens dos diferentes tipos de glóbulos brancos.	Neutrófilos segmentados: 34 % a 75 % Neutrófilos em faixa: 0 % a 8 % Linfócitos: 12 % a 50 % Monócitos: 15 % Eosinófilos: 0 % a 5 % Basófilos: 0 % a 3 %
Contagem de plaquetas	Quantidade de plaquetas num volume específico de sangue	140 000 a 450 000 por microlitro.

A figura 6 ilustra os equipamentos da Siemens Medical Diagnostics para esta área.



Figura 6 – (a) ADVIA® 2120, (b) ADVIA® Autoslide Slide Maker Stainer, (c) ADVIA® 120 (Adaptado de [12])

2.1.2.2. Química Clínica

A química clínica é uma especialidade da química analítica aplicada a ensaios de substâncias fisiologicamente importantes, encontradas no sangue, urina, tecidos e outros fluídos biológicos, que ajudam o médico a fazer um diagnóstico ou a acompanhar uma terapia de fármacos.

A química clínica tradicional está dividida em dois diferentes tipos de análise, qualitativa e quantitativa. A análise qualitativa é usada para encontrar a presença de um dado elemento, ou composto inorgânico em uma amostra.

Podem ser efectuadas análises químicas em geral (ácido fosfatase; albumina; colesterol; triglicerídios entre outros); proteínas específicas (A₁; B; C₃; C₄; factor reumatóide entre outras); monitorização da terapêutica de fármacos - TDM (lítio; tobramicina; vancomicina; digoxina); e toxicologia (etanol; ópio; metadona; cannabis).^[10]

A fenitoína, por exemplo, é um anticonvulsivo que requer monitorização de terapia, sendo monitorizada através de imunoensaio turbidimétrico. Este tipo de imunoensaio é também utilizado para quantificar proteínas do plasma.

Um parâmetro muito analisado em química clínica é o colesterol. O colesterol é analisado através de um ensaio homogéneo, colorimétrico em que é utilizado um detergente (devido à insolubilidade do colesterol em água) que solubiliza apenas as lipoproteínas não-LDL (*low-density lipoproteins*) libertando colesterol para reagir com colesterol-esterase e colesterol-oxidase para produzir um produto incolor. Um segundo detergente solubiliza as partículas LDL restantes e um reagente corante permite a formação de cor. O sistema monitoriza a alteração na absorvância a 560 nm. Esta alteração é directamente proporcional à concentração de colesterol LDL na amostra.

Também a quantificação do ácido láctico é efectuada utilizando a mesma tecnologia. O ácido láctico, presente no sangue como lactato é um produto intermediário do metabolismo de carboidratos e deriva principalmente do cérebro, células musculares e eritrócitos. Os níveis de lactato são medidos especialmente em casos de suspeita de hipóxia de tecidos e diabetes não-controlados. A concentração pode ser medida através do plasma ou fluído cerebrospinal.

No ensaio, a lactato-oxidase converte o lactato em piruvato e peróxido de hidrogénio. Este, reage com ácido diclorobenzenosulfídrico e 4-aminoantipirina na presença de peroxidase para formar um composto com cor. A geração de cor é monitorizada a 520 nm.

Alguns equipamentos que utilizam as tecnologias acima referidas, estão ilustrados na figura 7.



Figura 7 – (a) ADVIA® 1800, (b) ADVIA® 2400, (c) ADVIA® 1200, (d) ADVIA® 1650, (e) T60, (f) T30, (g) T20xt (Adaptado de [12])

2.1.2.3. Imunodiagnóstico

Os imunoensaios são a base dos testes de imunodiagnóstico, ou seja dos testes que se baseiam na especificidade da resposta imunitária para detectar anticorpos, antígenos ou linfócitos tendo como objectivo o diagnóstico de infecções, de reacção imunitária, de processos alérgicos ou neoplásicos, e também para a detecção/quantificação de hormonas ou drogas.

Embora o método mais seguro para se diagnosticar uma infecção seja o isolamento e a caracterização do agente infeccioso, isto nem sempre é possível ou prático. São várias as razões, nomeadamente porque o agente está localizado em sítios de difícil acesso (ex.: encéfalo), por não se dispor de métodos simples, práticos ou seguros para o seu isolamento ou cultivo (ex.: infecções por vírus) ou porque o utente está a tomar drogas anti-infecciosas que impedem o crescimento do agente infeccioso *in vitro*.

Nestas circunstâncias, as técnicas de imunodiagnóstico são muito importantes já que permitem confirmar a infecção através da presença de antígenos dos agentes infecciosos ou, mais frequentemente, das "pegadas" por eles deixadas ao entrar em

contato com o sistema imunitário: os anticorpos e os linfócitos. Como tanto os anticorpos como os linfócitos sensibilizados apresentam especificidade para o agente infeccioso que os induziu, a presença destes componentes do sistema imunitário indica infecção.

Os testes de imunodiagnóstico são utilizados para o diagnóstico de doenças infecciosas, para a detecção de anticorpos contra componentes do organismo nos casos suspeitos de doenças autoimunes (ex: anti-DNA no lupus eritematoso e anti-tireoglobulina nas tireoidites autoimunes), para a detecção de anticorpos contra alergenios nas doenças alérgicas, para o diagnóstico de gravidez e para detectar antígenos de células tumorais ou os anticorpos por eles induzidos.

A endocrinologia laboratorial é inserida muitas vezes na área imunodiagnóstico. Para diagnosticar o distúrbio em utentes com suspeita de doença endócrina, o médico realiza um cuidadoso historial clínico, exame físico e provas laboratoriais. Dentre as doenças endócrinas, metabólicas mais frequentes pode-se citar: diabetes Mellitus, distúrbios da glândula tireóide (hipotireoidismo, hipertireoidismo) obesidade, dislipidemias e distúrbios do crescimento.

Os equipamentos do portfólio da Siemens Medical Diagnostics utilizam quimioluminescência como tecnologia principal. Por exemplo, para medir a concentração de eritropietina (EPO) (ver figura 8):

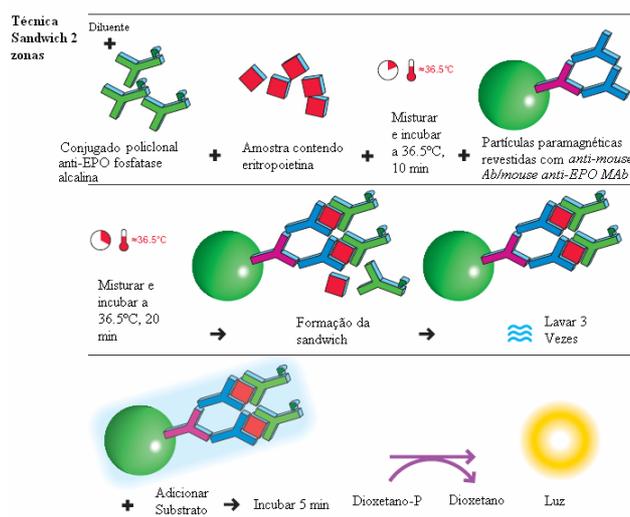


Figura 8 - Imunoensaio para determinação da concentração de EPO (Adaptado de [13])

O sinal produzido é directamente proporcional à concentração de EPO.

No caso de parâmetros do grupo de testes para doenças infecciosas como é o caso de Rubella IgM ou Rubella IgG, é utilizado ELISA (ver figura 9).

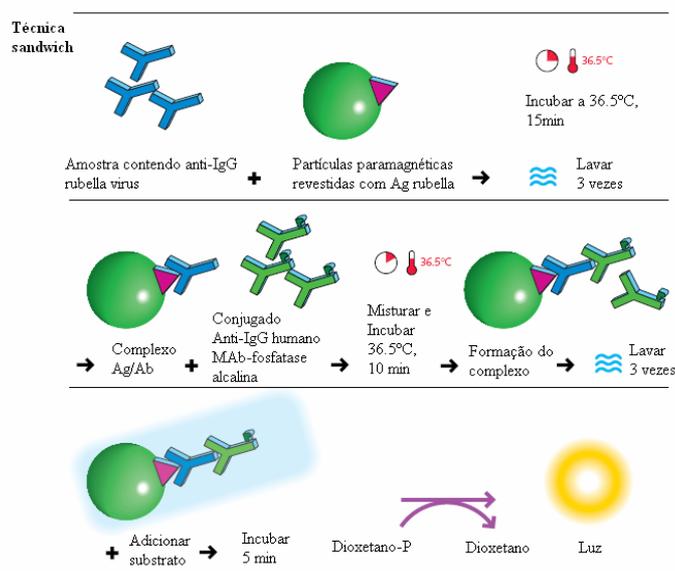


Figura 9 – Imunoensaio para determinação da concentração de anti-IgG rubella virus (Adaptado de [13])

Neste caso o sinal produzido é directamente proporcional à concentração de anti-IgG rubella virus.

Na figura 10 são apresentados alguns exemplos de equipamentos.



Figura 10 – (a) Immulite 2500, (b) Immulite 2500SMS, (c) Immulite 2000, (d) Immulite 1000, (e) Immulite, (f) Advia Centaur XP, (g) Advia Centaur, (h) Advia Centaur CP, (i) ACS:180® SE Automated Chemiluminescence System (Adaptado de [12])

2.1.2.4. Gasimetria

A gasimetria consiste na leitura do pH e das pressões parciais de O₂ e CO₂ numa amostra de sangue. A leitura é obtida pela comparação destes parâmetros na amostra com os padrões internos do aparelho. A amostra pode ser de sangue arterial ou venoso, no entanto é importante saber qual a natureza da amostra para uma interpretação correcta dos resultados. Quando se está interessado numa avaliação da performance pulmonar, deve ser sempre obtido sangue arterial, pois esta amostra dará informação a respeito da hematose e permitirá o cálculo do conteúdo de oxigénio que está a ser fornecido aos tecidos. No entanto, se o objectivo for avaliar apenas a parte metabólica, poderá ser efectuada gasimetria venosa.

O pH e as pressões parciais são medidos por potenciometria directa.

Ao calcular os resultados para o pH, a concentração está relacionada com o potencial através da equação de Nernst. Este teste mede a concentração da quantidade de substância de iões de hidrogénio na fracção plasmática de sangue total arterial, venoso ou capilar (expresso como o logaritmo negativo da actividade molar relativa dos iões de hidrogénio).

Também os iões sódio, potássio e cloreto podem ser medidos através de potenciometria, utilizado electrodos ião-selectivos e sendo o eléctrodo de referência o de cloreto de potássio.

A instrumentação, nesta area, é normalmente utilizada em casos de urgência, estando acoplado um sistema de co-oximetria, permitindo também a medição de glucose, hemoglobina e lactato havendo, portanto, tecnologia fotométrica para estes parâmetros.

Os equipamentos da figura 11 podem efectuar medições de gases sanguíneos.



Figura 11 – (a) RapidLab 1200, (b) RapidPoint 400 series, (c) RapidLab 248/348
(Adaptado de [12])

2.1.2.5. Diagnóstico Molecular

Diagnóstico Molecular é um campo emergente na área de análises clínicas laboratoriais. Basicamente, utiliza técnicas de Biologia Molecular para o estudo do DNA/RNA de agentes infecciosos ou de alterações genéticas do próprio organismo, auxiliando no diagnóstico e prognóstico de doenças infecciosas, genéticas e cancro.

O desenvolvimento do Diagnóstico Molecular possibilitou uma grande evolução nas análises de rotina de laboratórios clínicos e industriais. Organismos de cultivo difícil ou impossível tornaram-se passíveis de serem analisados. Exames citogenéticos convencionais estão a ser substituídos por ferramentas moleculares. A determinação de predisposição para certos tipos de cancro e doenças cardiovasculares tem-se tornado realidade. Em poucos anos, o diagnóstico molecular evoluiu de uma mera curiosidade tecnológica para um campo vasto e complexo, com potencial para revolucionar a ciência e a prática da medicina. Actualmente, considera-se irreversível a tendência mundial desta área para obter um lugar de destaque nos laboratórios de análises clínicas e patológicas humanas uma vez que torna possível analisar doenças infecciosas e genéticas humanas e animais utilizando tecnologias de ponta como técnicas de hibridização molecular e PCR, por exemplo.^[14]

Os testes mais recentes para diagnóstico molecular utilizam principalmente a tecnologia de bDNA. São produtos de diagnóstico molecular os kits representados na figura 12.



Figura 12 – (a) *VERSANT HIV RNA 3.0*, (b) *VERSANT HBV DNA 3.0 Assay*, (c) *VERSANT HCV RNA 3.0 Assay* (Adaptado de [12])

Outras tecnologias, são as de amplificação e sequênciação de DNA. A mais utilizada é a amplificação mediada por transcrição, mais rápida que PCR (Figura 13).



Figura 13 - *VERSANT HCV RNA Qualitative Assay (TMA)*
(Adaptado de [12])

2.1.2.6. Urianálise

Aplicando um conjunto de exames à urina de um doente, incluindo a avaliação de características físicas da urina (cor, concentração, turvação), microscopia na busca de eventuais anormalidades morfológicas e análise química pormenorizada pode verificar-se se a função renal se encontra normal ou se existem alterações no aparelho urinário ou noutros sistemas, nomeadamente no sistema cardiovascular, podendo ser diagnosticada hipertensão.

Se uma gota de urina de uma colheita recente for espalhada em camada fina sobre a superfície de uma meio nutritivo e incubada na estufa, qualquer bactéria se multiplicará e formará colónias. A aparência dessas colónias no exame microscópico irá permitir a identificação do organismo causador da infecção no trato urinário. Existe uma grande variedade de tiras de teste para se medirem de uma forma rápida e simples determinadas substâncias, como a glucose na urina (um nível alto indicia que o doente sofre de *diabetes mellitus*). Procuram-se ainda outras substâncias, tais como sangue, proteínas, bilirrubina, entre outras. Devem ainda determinar-se a acidez e a concentração urinária. Estes exames baseiam-se numa simples mudança de cor na tira de papel (com reagentes), que, quando mergulhada na urina, sofre reacções que lhe vão alterar a cor.^[15]

Também em urianálise é utilizada a citometria de fluxo e métodos fotométricos, incluindo colorimétricos. Os equipamentos utilizados em laboratório podem ser visualizados na figura 14.

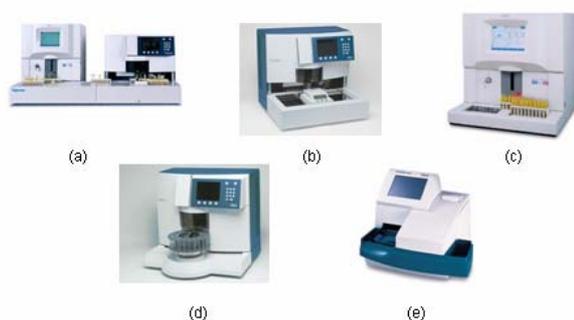


Figura 14 – (a) ADVIA® Urinalysis WorkCell, (b) Clinitek Atlas Automated Urine Chemistry Analyzer, (c) UF-100 Urine Cell Analyzer, (d) Clinitek Atlas Automated Urine Chemistry Analyzer (Carousel), (e) Clinitek 500 Urine Chemistry Analyzer (Adaptado de [12])

Estes são, no entanto, testes relativamente morosos. Enquanto o utente aguarda os resultados, ou mesmo em consultório médico ou urgências podem ser aplicados métodos mais rápidos, nos quais se utilizam instrumentos portáteis e reagentes de

rápida acção (métodos colorimétricos). Na figura 15, podem ser visualizados alguns equipamentos e reagentes que se podem utilizar.

Figura 15 – (a) *Clinitek Status Analyzer*, (b) *Clinitek 500 Urine Chemistry Analyzer*, (c) *Clinitek Microalbumin Reagent Strips (resultados de albumina, creatinina e rácio albumina/creatinina num minuto)*, (d) *Multistix PRO Reagent Strips (rácio proteína/creatinina para detecção de doença renal)* (e) *Multistix 10 SG Reagent Stripes (para infecções no tracto urinário)* (Adaptado de [12])



2.2. Fluxos de Trabalho num Laboratório IVD

Nesta secção é apresentada uma descrição do fluxo de trabalho para a realização de diagnóstico *in vitro*, as responsabilidades e funções dos recursos humanos envolvidos e a caracterização das várias tarefas. Para além destes tópicos apresenta-se a importância da automação no trabalho laboratorial.

2.2.1. Introdução

Durante um fluxo de trabalho, documentos, informação ou tarefas são transferidos de um recurso (humano ou máquina) para outro. Um fluxo de trabalho otimizado permite melhoria na utilização dos recursos, uma diminuição dos tempos de espera, aumentando a eficiência da prestação de cuidados, permitindo também melhorar o controlo do processo e o serviço prestado ao cliente.

Assim, num laboratório IVD, é importante ter em conta não só os recursos humanos e as salas existentes mas também os equipamentos utilizados no serviço.

2.2.2. Competências e Responsabilidades do Pessoal do Laboratório

De forma a delinear as competências e responsabilidades dos recursos humanos, procedeu-se a uma pesquisa e análise de legislação e de manuais de boas práticas para o trabalho num laboratório de diagnóstico *in vitro*.

De realçar que cada laboratório tem as suas regras e organigrama internos e compete a cada um definir as qualificações para o desempenho de uma função sendo os recursos humanos envolvidos a referir o administrativo, o técnico superior, técnico de análises clínicas, o auxiliar e o médico especialista.

A escrita de todos os procedimentos e todas as etapas dos exames laboratoriais é obrigatória, desde a colheita até à entrega dos resultados. Esses procedimentos operativos associados ao controlo da qualidade são um elemento do sistema de garantia da qualidade dos laboratórios que realizam exames laboratoriais.^[16]

2.2.2.1. Médicos Especialistas

Os especialistas em patologia clínica ou análises clínicas, têm a sua responsabilidade a garantia de qualidade do laboratório assim como a validação biopatológica dos resultados.

Entende-se por validação biopatológica o controlo da verosimilhança e da coerência do conjunto dos resultados das análises efectuadas para uma pessoa, tendo em conta o seu estado clínico, os tratamentos de que foi alvo e os resultados anteriores.^[16]

O director técnico deve ser um médico especialista em Patologia Clínica ou um farmacêutico especialista em Análises Clínicas que, sendo o responsável máximo por todos os aspectos científicos e de organização do laboratório, compete-lhe a escolha de métodos optimizados, recomendados pelas sociedades científicas nacionais ou internacionais deste âmbito ou validados por ele próprio segundo um procedimento que permita a transferibilidade dos resultados, ou seja que permita compará-los com os obtidos noutros laboratórios.^[16]

2.2.2.2. Enfermeiro

O enfermeiro apresenta um fluxo de trabalho transversal, sempre que utentes necessitem de algum cuidado de saúde ou sempre que seja necessário efectuar colheitas em internamentos.

A responsabilidade do enfermeiro passa também por detectar quaisquer possíveis indisposições do utente após a colheita.

Os enfermeiros devem também assegurar uma documentação apropriada do estado do utente e do tipo de colheita a efectuar. Podem participar ainda na manutenção do inventário de materiais utilizados no serviço.

2.2.2.3. Técnico Superior

Os técnicos superiores têm fundamentalmente funções de supervisão e de responsabilidade sobre os técnicos de análises clínicas. Podem também efectuar a validação biopatológica dos resultados.

2.2.2.4. Técnico de Análises Clínicas

As competências do técnico consistem na realização de todo o processo laboratorial, desde a colheita até à preparação e armazenamento da amostra sendo ainda da sua competência o processamento nos equipamentos e a validação técnica dos resultados.

Entende-se por validação técnica dos resultados a verificação da conformidade das condições de execução com os procedimentos e tem em conta nomeadamente os resultados obtidos no controlo interno da qualidade que é indispensável para a detecção de anomalias, avaliação de erros e sua imediata correcção.^[16]

2.2.2.5. Auxiliar de Análises Clínicas

O auxiliar tem como função principal o transporte das amostras do local de colheita para o laboratório central. Por vezes dão apoio às colheitas e verificam se é necessário repor os stocks.

2.2.3. Mapeamento dos Fluxos de Trabalho

A sistematização de informação relativamente ao fluxo de trabalho num laboratório de IVD de acordo com a realidade nacional é importante para melhorias e optimização do mesmo.

A caracterização dos processos envolvidos no fluxo de trabalho é feita em termos de espaços, recursos, meios e tempos de duração envolvidos.

Em geral, associadas a um laboratório de IVD estão as sala de espera, recepção, sala de colheitas, sala de recepção de amostras, zona de processamento pré-analítico,

armazéns, laboratório central (ou sectores) e gabinete técnico. Os equipamentos utilizados neste tipo de exames pode variar muito, dependendo do sector e das competências do equipamento.

Paralelamente ao fluxo do utente e independente deste, existe um fluxo de informação ou de outros recursos. Em conjunto, estes fluxos constituem o fluxo de trabalho desde que o utente entrega a requisição para o exame, até ao momento em que recebe o relatório final.

Seguidamente, descrevem-se e caracterizam-se em termos de recursos as várias tarefas que constituem o fluxo de trabalho num laboratório de IVD, considerando as possibilidades de fluido biológico a analisar a urina ou o sangue. (ver figura 16)

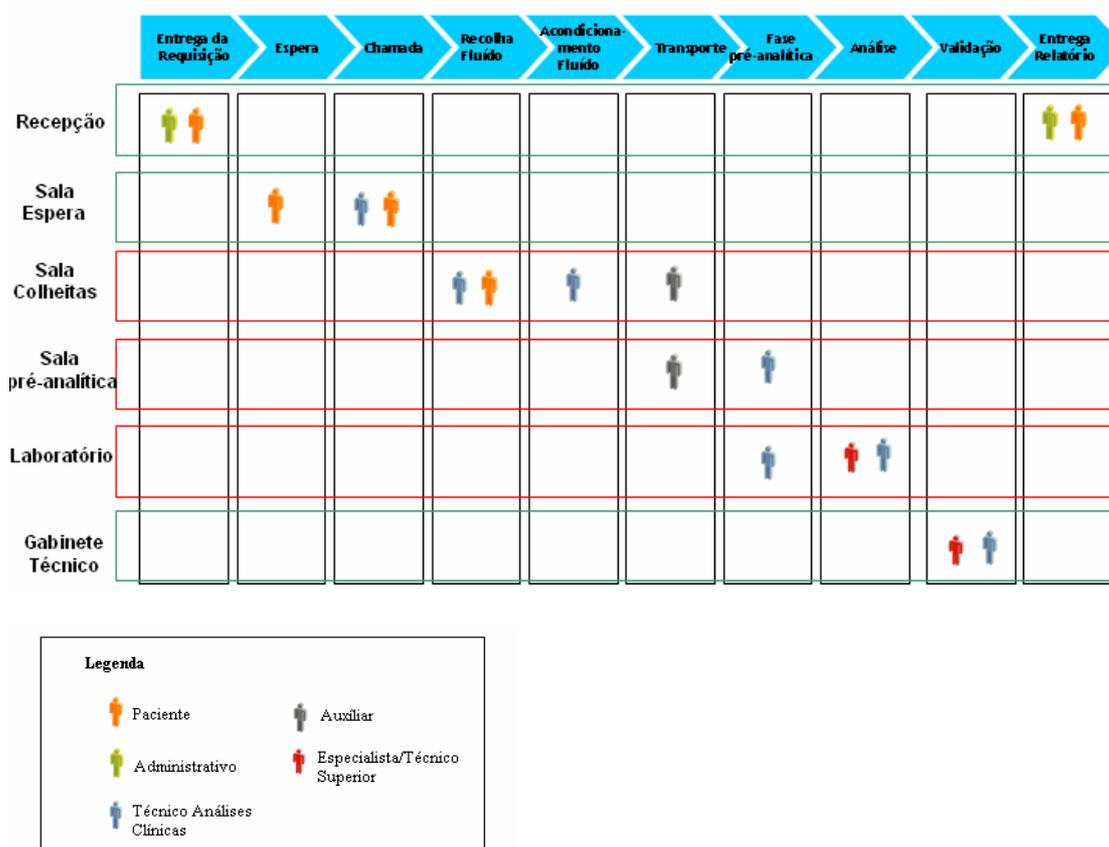


Figura 16 - Fluxo de Trabalho num Laboratório

- 1) O utente dá entrada no serviço de análises clínicas e espera até entregar a requisição para o exame, na recepção, ao administrativo.
- 2) O administrativo regista o utente e fornece a informação sobre quando estarão prontas as análises. São impressas as vinhetas para identificação dos

recipientes. Caso o fluido biológico a analisar seja a urina, o administrativo fornece um recipiente próprio. É efectuado o pagamento.

- 3) a) Caso o fluido a recolher seja urina: O utente dirige-se à casa de banho e efectua a recolha.
b) Caso o fluido seja sangue: O utente desloca-se para a sala de espera, onde aguarda ser chamado pelo técnico ou através de um sistema de senhas numeradas.
- 4) a) O utente dá o recipiente ao técnico responsável e dirige-se para casa, onde aguarda os resultados.
b) O utente é chamado, deslocando-se, em seguida, à sala de colheitas.
- 5) Na sala de colheitas, o técnico responsável pela colheita, recolhe informação acerca de medicação que o utente poderá estar a tomar e que poderá influenciar os resultados e efectua a etiquetagem dos tubos.
- 6) Após a recolha da informação o técnico efectua a colheita do fluido biológico, sendo este colocado nos recipientes etiquetados na tarefa anterior e acondicionados dependendo da substância a analisar (colocados em gelo, anticoagulante, entre outros)
- 7) Após a colheita de sangue, o utente dirige-se para casa onde aguarda o resultado das análises, dependendo o tempo de espera do tipo de substância a analisar. O técnico aguarda novo utente.
- 8) O auxiliar transporta as amostras recolhidas para o laboratório tendo em atenção a adequada termoestabilização das amostras, de acordo com as suas características e da análise a realizar, atendendo ao tempo e à distância, para posterior análise.
- 9) No laboratório, as amostras são recebidas em sala própria, onde se efectua a fase pré-analítica do processo. Esta fase pode demorar mais ou menos tempo, envolver mais ou menos técnicos dependendo do nível de automatização do laboratório. No entanto, este assunto será abordado mais à frente neste trabalho.

- 10) O técnico faz a triagem e centrifugação das amostras. Caso o laboratório trabalhe também com alíquotas procede-se à alíquotagem e, posteriormente à distribuição em paralelo pelos vários sectores.
- 11) Em cada sector, procede-se à análise dos parâmetros requeridos ou ao armazenamento das amostras uma vez que existem parâmetros que, devido ao seu custo elevado, exigem um determinado número de amostras de modo a ser gasto apenas um kit. O tempo de análise e o número de recursos humanos envolvidos dependem do nível de automatização e do tipo de equipamento utilizado, assunto que é focado mais à frente, no aspecto da optimização.
- 12) Após a análise, o técnico faz uma validação técnica do resultado (se o aparelho está calibrado, se os reagentes estão bem acondicionados, entre outros) ou seja, se garante que o processo decorreu dentro dos parâmetros de qualidade. Caso seja necessário, procede-se a repetições.
- 13) Os resultados são então enviados para o gabinete técnico onde se encontra o especialista que faz a validação biopatológica, ou seja, controla a verosimilhança e a coerência do conjunto dos resultados das análises efectuadas para um utente, tendo em conta o seu estado clínico, os tratamentos de que foi alvo e os resultados anteriores.
- 14) O relatório final é enviado para a recepção
- 15) O utente dirige-se à recepção e o administrativo entrega-lhe o relatório. Há também a possibilidade de ser entregue uma *password* ao utente que lhe permite aceder aos resultados *online*.

Uma vez que, segundo o manual de boas práticas laboratoriais, cada director técnico é responsável pelo funcionamento do laboratório que está sob a sua direcção, será feito na parte IV o estudo do fluxo de trabalho em dois serviços.

2.2.4. Automatização de Laboratório

O processo de obtenção de resultados clínicos através de análise *in vitro* é um processo delicado, uma vez que envolve o manuseamento de fluidos biológicos, podendo envolver contaminação quer da amostra quer do técnico.

Com vista à redução de erros humanos, os sistemas de integração/automatização são frequentemente utilizados nos laboratórios de modo a tornar os resultados mais fiáveis. [17]

Na figura 17 observam-se as diferenças entre o fluxo de trabalho em laboratórios não automatizados e automatizados, respectivamente.

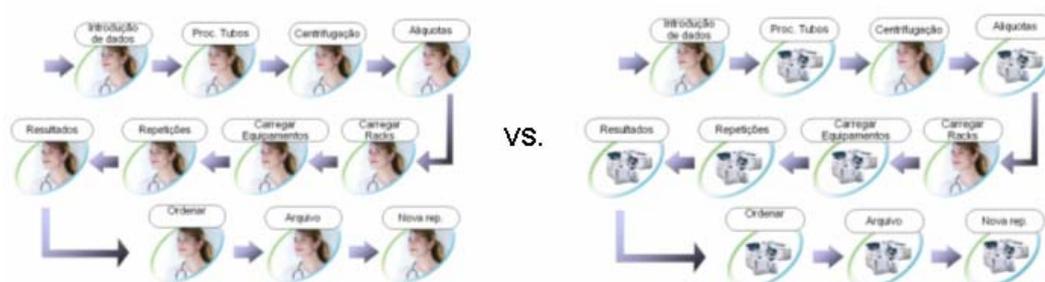


Figura 17 - Fluxo de trabalho num laboratório não automatizado vs. Fluxo de trabalho num laboratório automatizado (Fonte: Siemens Medical Solution Diagnostics)

A tecnologia de automação de laboratórios consiste numa integração de *hardware* e *software* desenhados para efectuar o processamento e análise das amostras. Pode ser definida como qualquer equipamento, software ou processo que permita o aumento da eficiência do laboratório. [18]

Estes sistemas apresentam várias vantagens, nomeadamente o facto de permitirem efectuar múltiplas análises no mesmo tubo o que dispensa, na fase pré-analítica, a divisão das amostras em alíquotas. Outras vantagens são:

- Melhoria ou manutenção da qualidade dos testes
- Redução da redundância nos testes
- Avanços nas tecnologias laboratoriais
- Redução na instalação e custos dos serviços
- Disponibilidade de sistemas *plug-and-play*
- Redução de custos de manutenção

A automação e integração num laboratório permite lidar simultaneamente com um grande volume de testes, proporcionando disponibilidade aos recursos humanos para

efectuarem outras tarefas, como a validação técnica dos resultados e a análise do controlo de qualidade permitindo, na globalidade, a diminuição dos custos.^[17]

A tecnologia de automação laboratorial clínica deve a sua grande utilidade à funcionalidade, sendo esta definida como o conjunto de funções efectuadas ou suportadas por essa tecnologia. Existem diversas características fundamentais para sistemas de automação, nomeadamente a filosofia de design do sistema

O hardware de automação pode ser instalado na forma de um sistema de automação completo (automação total do laboratório) ou como hardware que efectua apenas tarefas específicas (automação modular). Esta consiste em analisadores consolidados, analisadores integrados, *workcells* modulares e automação pré e pós-analítica, permitindo efectuar tarefas como descapsulação de amostras, centrifugação, alíquotagem e controlo de qualidade numa única plataforma.

Convém nesta altura, fornecer algumas definições que permitem uma melhor compreensão deste assunto.

Entende-se por **consolidação analítica**, o acto de combinar várias técnicas analíticas em apenas um equipamento denominando-se por equipamento consolidado, um instrumento que combina várias técnicas analíticas, podendo combinar, nomeadamente, reagentes de química e de imunoenaios.

Por **integração de tarefas** entende-se a integração de várias tarefas automatizadas num processo contínuo. Por exemplo, uma centrífuga pode ser integrada com um analisador.

Existem também equipamentos mecânicos que permitem o movimento de amostras entre equipamentos de armazenamento e gestão de amostras (figura 18). Depois da análise as amostras são automaticamente movidas para um *buffer* de *output*.

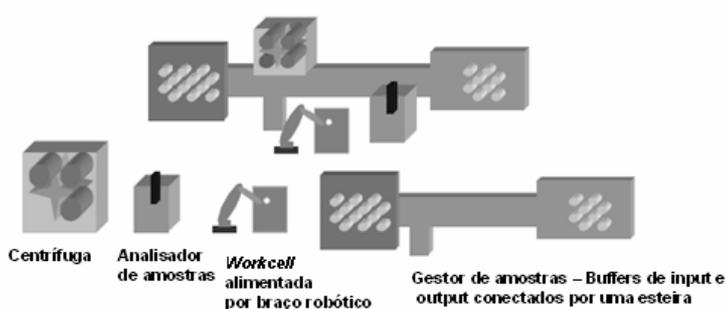


Figura 18 – Um sistema de automação laboratorial total (TLA) é uma combinação de instrumentos que efectuam a maior parte

das tarefas analíticas e pré-analíticas no laboratório. As amostras podem ser alíquotadas directamente no analisador de amostras ou removidas por um braço robótico para serem colocadas no analisador. (Adaptado de [18])

A uma combinação de gestor de amostras com instrumentos ou instrumentos consolidados, dá-se o nome de **workcell** (figura 19). Por exemplo, uma *workcell* inclui um *buffer* de amostras, o transporte para o instrumento analítico e, finalmente, o armazenamento no *buffer* de *output*. Existem vários tipos de *workcell*, nomeadamente *workcell* modular, pré-analítica e *workcells* integradas.

Figura 19 – Uma *workcell* automatizada consiste num gestor de amostras, numa centrífuga (como opção), um manipulador mecânico (normalmente um braço robótico) e um analisador (Adaptado de [18]).



Caso a instrumentação utilizada na *workcell* esteja configurada como interface directa do gestor de amostras, a *workcell* é denominada por modular (figura 20). Portanto, uma **workcell modular** é definida como sendo composta por componentes modulares que são desenhados para serem facilmente conectados de forma a criar um sistema de trabalho analítico.

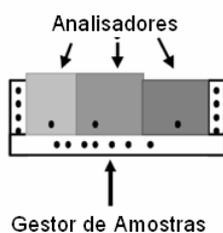


Figura 20 – Uma *workcell* modular. O gestor de amostras envolve a frente (ou parte de trás) dos módulos analíticos que são desenhados para operar optimamente como instrumentos automatizados. (Adaptado de [18])

Uma **workcell pré-analítica** (figura 21) automatiza as tarefas de acesso e processamento de amostras. Pode incluir, por exemplo, verificação de erros nas amostras, códigos de barras, centrifugação e alíquotagem.

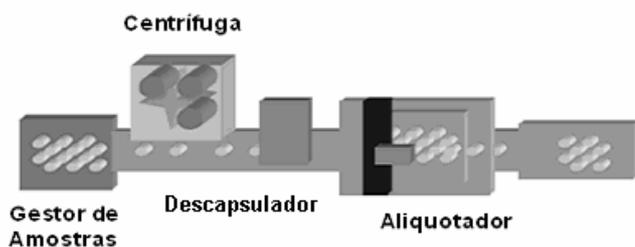


Figura 21 – *Workcell* pré-analítica é configurada com equipamentos mecânicos que efectuam a maioria das tarefas

requeridas antes da análise.(Adaptado de [18])

Um sistema que permite a automação/integração do trabalho laboratorial é o ADVIA WorkCell (figura 22).

Figura 22 - ADVIA WorkCell (Adaptado de [12])



A automação é uma questão de extrema importância em otimização.

As três fases do processo de obtenção de resultados em análises clínicas podem ser automatizadas:

- Fase pré-analítica: recepção e separação de amostras, centrifugação e descapsulação, aliquotagem e etiquetagem.
- Fase analítica: gestão do processamento das amostras
- Fase pós-analítica: auto-verificação/validação, localização e recolha de amostras, arquivo

A fase pré-analítica é a que mais hospitais e laboratórios pretendem automatizar, uma vez que é a fase que consome mais recursos, é uma zona propícia a erros e onde se procede a muitas tarefas repetitivas podendo provocar stress e doenças profissionais nos técnicos.

Como se pode ver na figura 23, cerca de 65% do tempo de trabalho em hospitais e laboratórios é dedicado à fase pré-analítica.

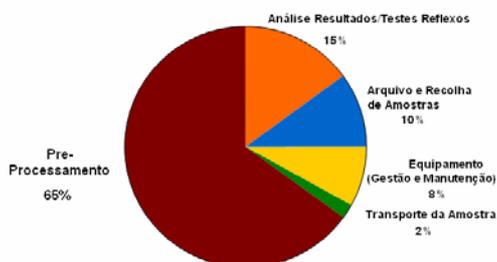


Figura 23 - Distribuição do tempo de trabalho. Fonte: Argent Consulting, worldwide survey 2004

Também os custos, por amostra, em termos de reagentes e investimentos em recursos são superiores na fase pré-analítica (figura 24)

Figura 24 - Custos, por amostra. Fonte: Enterprise Analysis Corp., laboratories surveyed from US, England, Australia and Netherlands – 2004



Assumindo todas as tarefas como manuais, o tempo de trabalho pré-analítico é distribuído da forma representada na figura 25.

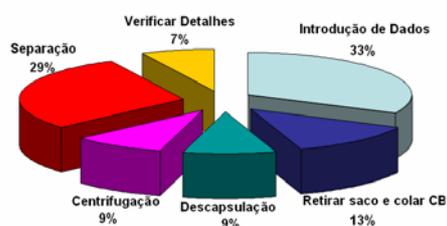


Figura 25 - Distribuição do tempo de trabalho pré-analítico, Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics

Os sistemas automatizados pré-analíticos têm impacto em 50% do trabalho, podendo efectuar as tarefas de centrifugação, aliquotagem (ou separação) e descapsulação, diminuindo o tempo da fase pré-analítica.

Na fase analítica a maior parte do tempo é dispendida a carregar equipamento (figura 26).

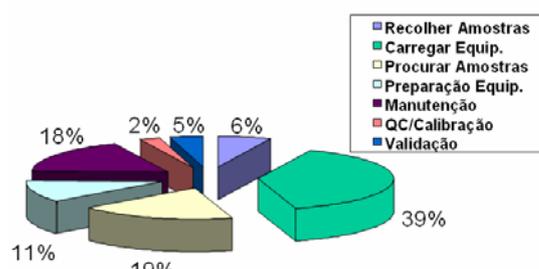


Figura 26 - Distribuição do tempo de trabalho na fase analítica. Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics

Existindo uma estrutura física de transporte das amostras entre a área de carregamento dos tubos, os equipamentos, e a área de descarregamento é possível diminuir o tempo de resposta do laboratório assim como o trabalho dos técnicos.

Os resultados laboratoriais devem ser validados pelos profissionais com competência para tal. O conjunto de dados e o plano de distribuição da informação deve ser o alicerce de um laboratório automatizado (figura 27).

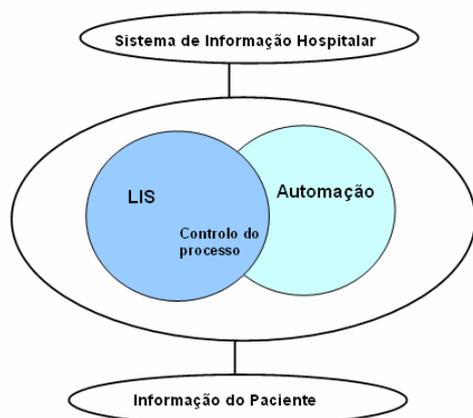


Figura 27 - A complexidade dos sistemas de informação laboratorial está a adaptar-se à crescentes necessidades de input e output existentes num laboratório automatizado. A informação sobre o utente é inserida manualmente na base de dados do sistema de informação laboratorial (LIS) e no sistema de informação do hospital. O software de controlo de processo regula a

função dos sistemas automatizados, armazenando e manipulando conhecimento sobre a performance e estado do sistema. Este controlo de processo é fundamental para o sucesso de um sistema automatizado (Adaptado de [18])

O fluxo bidireccional de dados num laboratório é efectuado de e para o sitio onde é gerado, sendo posteriormente fornecida informação clínica importante para o hospital, clínica ou até mesmo directamente para casa.

Os laboratórios automatizados requerem maior capacidade de decisão do que o LIS pode fornecer. Usando técnicas semelhantes às industriais, construiu-se software de apoio à decisão também considerado software de controlo de processo. Este tipo de software pode, por exemplo, direccionar as amostras para as áreas de processamento e de trabalho, fazer *download* de requerimentos de testes, repetir testes, fazer testes reflexos e fazer o *tracking* da progressão das amostras e dos resultados no sistema, podendo ainda dar suporte ao armazenamento das amostras.

2.3. Layout

Os laboratórios clínicos estão a sofrer rápidas mudanças respeitantes tanto às actividades realizadas como aos processos tecnológicos utilizados em testes de diagnóstico. Como resultado, o *layout* e as infraestruturas têm também atravessado uma evolução paralela.^[19]

O design de um laboratório é a resposta a quatro grandes desafios:

- Flexibilidade
- Segurança

- Qualidade ambiental
- Custos

As estratégias para uma boa flexibilidade na construção de um novo laboratório consistem em:

- Organização em zonas flexíveis
- Implementação de sistemas *plug-and-play*
- Utilização de mobiliário e equipamento modular/flexível/móvel
- Implementação de um plano aberto.

O equipamento é um factor central na função de um laboratório clínico e um factor em constante mudança e inovação. Portanto, crê-se que o espaço deve ser organizado em três zonas de diferente flexibilidade (altamente flexível, semi-flexível, pouco flexível), que correspondem a requisitos tecnológicos, uma vez que cada vez mais se verifica ser essencial organizar o espaço por tecnologias (automatizadas vs. processamento manual) em vez dos departamentos tradicionais.^[19]

As áreas clínicas que utilizam primariamente sistemas automatizados (nomeadamente química e hematologia) em conjunto com as áreas de recepção e processamento de amostras devem constituir a zona mais flexível. Esta área processa a maioria dos testes rotineiros, englobando aproximadamente 75% do volume total. É também a parte do laboratório mais susceptível a alterações.

Os sistemas de automatização mais frequentemente utilizados em cada área devem estar localizados junto às áreas centrais de recepção e processamento. A localização desta área central deve estar directamente conectada a um caminho público que permite o armazenamento de grande número de amostras vindas de várias localizações, nomeadamente de fora do edifício/laboratório. Esta área deve também estar ou próximo da zona semi-flexível. Esta, alberga áreas de testes especiais que envolvem uma combinação de processamento semi-automatizado e processamento manual. O plano aberto para a zona mais flexível deve estender-se até à zona semi-flexível em algumas áreas que possam acomodar equipamento necessário a várias zonas do laboratório. Algumas zonas de testes na área semi-flexível requerem a existência de espaços fechados para se manter a qualidade do ar, a segurança e a confidencialidade.^[19]

Os escritórios e áreas de suporte devem ser localizadas na periferia do laboratório, na zona menos flexível, de modo a não quebrar o *workflow*. (figura 28)

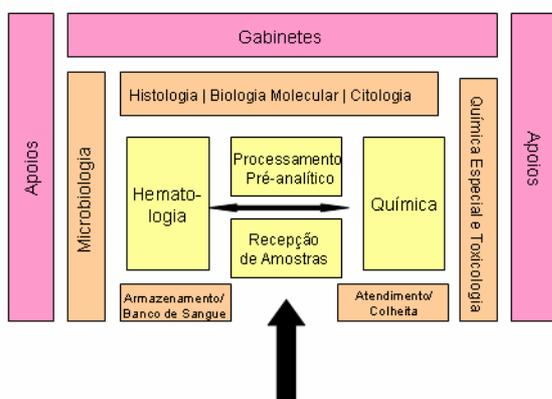


Figura 28 - Plano aberto (Adaptado de [19])

O plano aberto é uma boa opção, permitindo uma reavaliação, reconfiguração e otimização das equipas e do fluxo de amostras. Esta táctica permite que o laboratório

permaneça funcionalmente viável e capaz de aceitar novas tecnologias.

Factos que podem ter impacto na eficiência do laboratório são o ponto de colheita, a forma de transporte da amostra, a afiliação do utente com o hospital, os tipos de teste requisitados e o método usado para o teste.

A zona mais flexível deve ser a mais aberta e as barreiras físicas (paredes e mobiliário fixo) devem ser evitadas de modo a permitir um bom *workflow* entre *workstations*. Idealmente, a zona mais flexível deve ser adjacente a um espaço com possibilidade de expansão.^[19]

Uma preocupação latente na maioria dos laboratórios consiste na disponibilidade de pessoal qualificado. Existe também preocupação relativamente a lesões devido às exigências físicas devidas ao caminhar excessivo. O *layout* do laboratório deve adaptar-se a alterações no *workflow* durante o dia – desde os picos de trabalho até aos turnos da noite, onde um pequeno número de pessoas dá cobertura a múltiplas áreas. Outra opção para aumentar a eficiência e qualidade é a utilização de sistemas automatizados. No futuro, o *software* sofrerá mais alterações do que o hardware num laboratório automatizado onde os sistemas de informação são independentemente integrados no equipamentos e é feita a interface com os sistemas de informação dos hospitais, tornando-se o acesso a estes sistemas obrigatório para suportar o fluxo de transferência de informação através de meios técnicos e também através de contacto directo.

Os sistemas *plug-and-play* devem estar presentes, particularmente nas áreas altamente automatizadas. Fontes de corrente, por exemplo, devem estar livres de modo a

permitir alterações e recolocação dos equipamentos. A maioria dos laboratórios clínicos devem ter uma infraestrutura que não restrinja a localização física dos equipamentos ou mobiliário. Deve também ser planeada de modo a receber capacidade adicional. O pessoal do laboratório está sujeito a condições perigosas na medida em que existe um elevado potencial de exposição a doenças infecciosas.

O aumento de equipamento de alta tecnologia na zona mais flexível provoca mais emissões de calor havendo uma necessidade de estabilizar a temperatura ambiente. Para assegurar o bem-estar do pessoal, os sistemas de ventilação e ar condicionado (HVAC) devem ser localizados em zonas separadas e devem ser planeadas de modo a possibilitar modificações quando necessário, deste modo a qualidade do ar mantém-se.^[20]

Outro aspecto importante para que os laboratórios se possam adaptar facilmente a mudanças é a adopção de mobiliário e *workstations* modulares de modo a responder rapidamente a alterações em processos tecnológicos.

Devido às rápidas inovações na tecnologia, ciências médicas e cuidados de saúde, as forças motrizes do mercado estão a levar os PCS a rever o papel e natureza dos serviços de um laboratório clínico que estão a encarar grandes alterações, em particular na cada vez maior dependência de sistemas de automação.

Uma das soluções muito utilizadas, hoje em dia, é a utilização de cadeias que consolidem parâmetros, como se pode observar na figura 29.

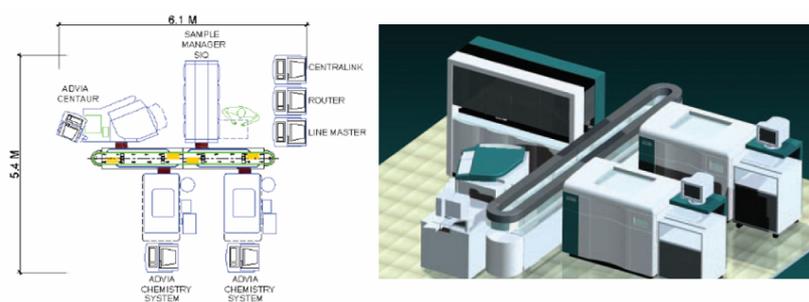


Figura 29 - Uma das versões de uma cadeia automatizada para imunquímica.
Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics

Trata-se de uma cadeia de 4 m de um sistema de imunquímica combinado. É composto por um sistema de imunodiagnóstico (ADVIA Centaur), dois de química (ADVIA 1650s ou ADVIA 2400s) e um *sample manager*, utilizando o *CentralLink*

que permite a ligação bidireccional com o LIS suportando também as ligações individuais com o sistema de automação (ADVIA *Workcell* ou ADVIA *LabCell*).

2.4. Optimização

O aumento da automatização no equipamento laboratorial tem provocado impactos não só no espaço requerido para o funcionamento do laboratório como também na sua estrutura organizacional.

Para uma boa optimização do processo laboratorial há que ter em atenção aspectos como:

a. Características do laboratório

Se está dividido em sectores ou não, que tipo de análises efectua, tipo de fluxo (se trabalha apenas com tubo primário ou se também trabalha com alíquotas).

b. Recursos Humanos

Número de especialistas, técnicos superiores, técnicos de análises clínicas, auxiliares, administrativos; Saber quais as competências de cada tipo de recursos humanos.

c. Recursos Físicos

Que salas existem no laboratório e qual a sua lotação, que tipo de equipamentos e sistemas informáticos existem.

d. Modelo Organizacional

Saber quantos pontos de colheita existem, horários das colheitas e do processamento de amostras, se recebe urgências ou amostras de outros laboratórios, calibrações, política de controlo de qualidade, número de amostras recepcionadas, número de amostras processadas.

Todos estes aspectos têm que ser conhecidos para se fazer a melhor optimização possível.

Relativamente às características do laboratório o facto do laboratório trabalhar com alíquotas ou apenas com tubo primário influencia a optimização na medida em que se trabalhar apenas com tubo primário convém consolidar parâmetros no mínimo de equipamentos possível. Caso trabalhe com alíquotas convém automatizar a fase pré-

analítica (especialmente na alíquotagem) para que estas possam ser direccionadas em paralelo para cada sector do laboratório. Daí que também seja conveniente saber quantos sectores existem e que áreas abrange cada um. Pode também existir um sistema que permita a execução das análises de maior urgência e de maior volume em primeiro lugar e só depois efectue as alíquotas e as envie para outros sectores. Nestes sistemas, cerca de 90 % do trabalho pode ser efectuado de forma automatizada poupando tempo na alíquotagem.

Este facto, levanta a questão da importância de saber se o laboratório recebe urgências ou não e se sim, que protocolo segue com as urgências. É conveniente ter duas máquinas, para que exista um *backup* em caso de avaria.

O equipamento é um aspecto fundamental na optimização. Como é óbvio, um equipamento que realize 1000 testes/hora é diferente de um equipamento que realize 500 testes/hora. Quanto mais rápido, mais amostras se podem processar. Daí ser importante ter o conhecimento do volume de amostras recepcionado por dia e também do horário de recepção de amostras e das colheitas.

Um equipamento com 25 posições refrigeradas para reagentes a bordo é diferente de um equipamento com 50. O último permite fazer um menu mais amplo de testes, sem que se tenham que substituir os reagentes a meio do trabalho, para realizar as outras amostras. O facto de os compartimentos serem não refrigerados também implica mais trabalho técnico uma vez que no final do dia há que retirar todos os reagentes e guardar no frigorífico e no dia seguinte há que voltar a colocá-los no equipamento, começando o processamento da análise mais tarde do que poderia começar caso os compartimentos fossem refrigerados. Todas estas características são importantes para otimizar custos com recursos humanos.

Um projecto de optimização focado na automatização, tem como objectivo alterar a forma como o trabalho do laboratório é efectuado. Isto envolve alterações não apenas a nível de ferramentas e processos como também a nível de tarefas e estrutura.^[20]

A automatização é importante na medida em que diminui os custos, reduz o número de recursos humanos necessários para elaborar o mesmo trabalho assim como o tempo de resposta do laboratório.

O sistema informático é a base de um laboratório e pode diminuir até 50% do trabalho de um técnico num dado equipamento. É também importante na identificação do tubo através de código de barras (o tubo entra nos equipamentos que comunicam com o sistema informático e sabem exactamente os testes que têm que fazer para aquela amostra), sendo fundamental para evitar erros de identificação de amostra, programação de testes em equipamento e transcrição de resultados (feita automaticamente dos aparelhos para o sistema informático). Pode também permitir que depois os resultados sejam visualizados on-line e normalmente possui ferramentas como módulos de estatística, de controlo de qualidade ou de facturação para que os laboratórios possam facturar aos subsistemas de saúde.

Os horários de colheita e de processamento de amostras são importantes na medida que permitem uma melhor gestão dos recursos humanos assim como uma escolha mais acertada dos equipamentos. Se o laboratório receber todas as amostras de manhã, pode ter dois técnicos só a tratar da parte pré-analítica (identificação, triagem, centrifugação, alíquotas) e da parte da tarde processar todas as amostras com outro turno com um determinado número de técnicos, em função do número de equipamentos. Se for recebendo amostras ao longo do dia, é melhor ter um técnico a efectuar a fase pré-analítica e ir processando amostras nos equipamentos. Neste caso convém ter equipamentos que permitam carga contínua de reagentes e consumíveis para não ter que parar o trabalho a meio para os preparar. A velocidade dos mesmos não necessita ser tão grande como no primeiro caso. Relativamente às colheitas, caso se processem apenas de manhã e haja trabalho laboratorial à tarde, os técnicos que terminam as colheitas podem também realizar outras tarefas.

É de extrema importância garantir a boa qualidade dos resultados. Nessa medida é importante conhecer o programa de controlo de qualidade definido no laboratório assim como a execução da calibração dos equipamentos, sendo esta dependente do tipo de testes.

Os recursos humanos e as suas competências são fundamentais para saber quem faz o quê e, fundamentalmente, para o mapeamento do fluxo de trabalho. As salas existentes são relevantes na medida em que muitas vezes, o espaço físico é a maior limitação para a optimização de um laboratório.

PARTE III - O Laboratório Modelo

Capítulo 1 - Concepção de um Laboratório Modelo

Considerando os princípios descritos no capítulo anterior, o Manual de Boas Práticas Laboratoriais (MBPL) e um volume de trabalho de, no mínimo, 600 amostras/dia, é estabelecido, neste capítulo, um plano para um laboratório de diagnóstico *in vitro* em termos de equipamentos, *layout* e recursos humanos/fluxo de trabalho.

1.1. Introdução

Os factores mais importantes num laboratório são o tempo de resposta do laboratório e a garantia de qualidade dos resultados.

A qualidade deve ser uma preocupação essencial e constante pelo que o desenvolvimento de um sistema da qualidade dinâmico e contínuo se torna imprescindível para o correcto exercício profissional nos laboratórios.

O registo escrito de todos os procedimentos é obrigatório, abrangendo todas as etapas dos exames laboratoriais, desde a colheita até à entrega dos resultados. Estes procedimentos operativos associados ao controlo da qualidade são um elemento do sistema de garantia da qualidade dos laboratórios que realizam exames laboratoriais.

O director especialista técnico tem total autonomia e independência profissional devendo assegurar que as recomendações contidas no MBPL sejam seguidas no laboratório, assim como nos laboratórios com que estabeleça contratos de colaboração, pelo que é imprescindível a sua intervenção nos actos de gestão com influência na realização dos exames laboratoriais.

O bom serviço prestado pelo laboratório depende da boa articulação entre os vários recursos, devendo estabelecer-se relações de interdependência e de complementaridade entre eles.

1.2. *Layout* e Equipamentos

Em diagnóstico *in vitro*, como já tem vindo a ser referido, o *layout* é importante na medida em que deve garantir um fluxo de trabalho fluído além de ter que ter em conta todos os aspectos de protecção num laboratório. (ver figura 30)

As dimensões, a construção e a localização do laboratório devem estar conformes à actividade nele desenvolvida e, devendo a disposição do espaço do laboratório favorecer a boa execução das utilizações previstas.

Assim, considerando um laboratório com um volume de trabalho de, no mínimo, 600 amostras/dia, existirá uma área para recepção, uma área para secretariado e arquivo, uma sala para validação biopatológica de resultados, duas salas para colheitas, duas áreas afectas a actividades técnicas do laboratório, uma área para lavagem do material e dois lavabos (doentes e funcionários).

As áreas laboratoriais formarão um conjunto contínuo, estando separadas umas das outras. Existirão áreas de armazenamento, à temperatura adequada, para as matérias-primas, reagentes e consumíveis. Estas, serão diferentes das áreas de conservação de amostras biológicas. A sala de armazenamento de matérias-primas e/ou reagentes tóxicos ou potencialmente perigosos ou contaminantes estará separada.^[16]

As duas áreas afectas a actividades técnicas são a sala para biologia molecular e a sala analítica (para as restantes áreas de IVD).

Na sala analítica é efectuada a triagem das amostras, sendo estas posteriormente colocadas numa *workcell* pré-analítica que envia a informação sobre a recepção da amostra para o LIS. O espaço analítico deverá ter um plano aberto, semelhante ao referido em 2.3, parte II, onde na zona central deverá estar um sistema automatizado integrado com três gestores (um para pré-analítica) de amostras, dois sistemas de química clínica, dois de imunodiagnóstico, um de hematologia, dois sistemas para urianálise e dois analisadores para coagulação, bem como equipamentos para velocidades de sedimentação.

Na área semiflexível encontrar-se-á a área de diagnóstico molecular, uma vez que é a menos automatizada. Nesta área proceder-se-á a testes de quantificação (carga viral) do VIH-1, VHC, VHB, testes para a determinação do genótipo do VHC e testes para a detecção do RNA do VHC.

Segundo o MBPL, um laboratório não deverá ter uma área inferior a 120 m².

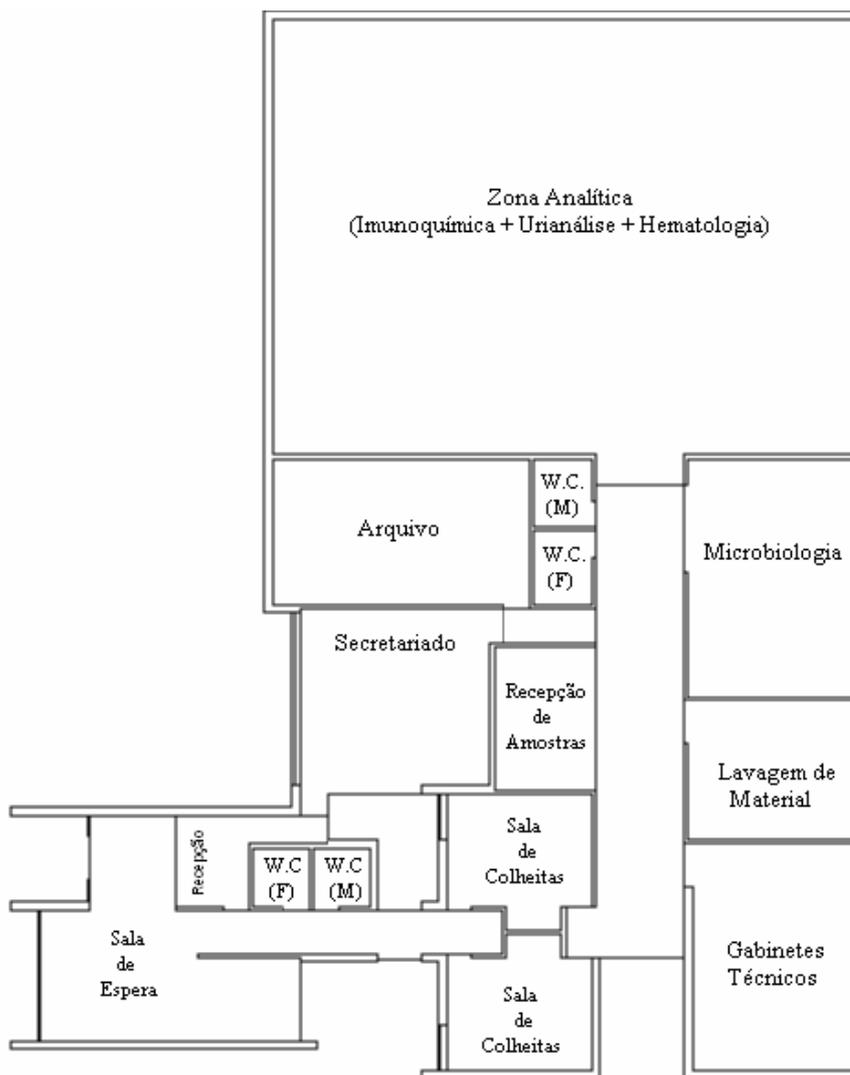


Figura 30 – Esquema do layout do laboratório modelo

O sistema informático implementado neste laboratório permitirá uma gestão de dados do paciente e dos controlos de qualidade em todos os equipamentos no laboratório, quer estejam na cadeia ou não.

Desde o momento da colheita, o sistema informático permite a garantia de que todas as amostras chegam ao laboratório. Todos os resultados são automaticamente validados tecnicamente e associados à ficha do utente. Estes resultados são enviados por via informática para o médico que os valida biopatologicamente, sendo posteriormente colocados no sistema hospitalar. Tanto o utente como o médico prescritor podem aceder a estes resultados através de uma password cedida quando é aberta a ficha do utente aquando da colheita (caso o utente opte por esta modalidade), salvaguardando-se, evidentemente, a devida protecção de dados.

1.3. Modelo Organizacional

O laboratório estará dividido da forma representada na figura 31.

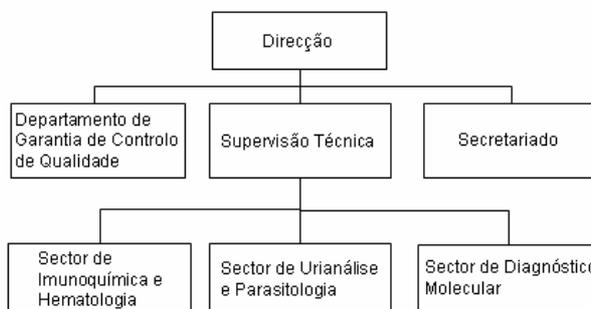


Figura 31- Organograma do laboratório modelo

Este laboratório efectuará colheitas apenas da parte da manhã (das 8h às 12h). O protocolo de colheitas será o seguinte: 1 tubo para hemograma + 1 tubo para coagulação + 1 recipiente urina + 1 tubo único para imunoquímica.

As colheitas necessitarão de uma pré-marcação, sendo marcados 10 utentes cada meia hora, evitando assim as esperas desnecessárias.

Existirão outros pontos de colheita e será possível a recepção e análise de amostras não só de outros laboratórios mas também de urgências. O sector de Diagnóstico Molecular funcionará apenas uma vez por semana, devido ao pouco volume de amostras para esta área.

Deve ser verificado regularmente se os procedimentos em vigor, aprovados e datados, são postos em prática pelo pessoal. Deverá existir um ficheiro cronológico de todos os procedimentos e conservar em separado um ficheiro morto dos procedimentos em desuso, havendo uma certificação da gestão regulamentar dos arquivos.

O laboratório deve manter actualizada uma lista de todas as análises efectuadas com o equipamento existente bem como daquelas que envia para laboratórios com os quais estabeleça contratos de colaboração.

As normas de utilização e manutenção dos aparelhos estarão permanentemente à disposição do pessoal e deverão ser respeitadas por este. Devem estar previstos procedimentos alternativos em caso de mau funcionamento de um aparelho (utilização de outras técnicas ou envio das amostras para outro laboratório).

A eliminação de resíduos deverá estar conforme a legislação em vigor, deve ser conduzida de forma a não pôr em risco a saúde do pessoal do laboratório ou do pessoal encarregue da sua recolha e não deve ser fonte de poluição do ambiente.

Em cada zona de actividade do laboratório, estarão disponíveis os procedimentos operativos relativos às operações que aí são realizadas. Estes procedimentos não são fixos, mas sim adaptados à evolução dos conhecimentos e dos dados técnicos. Qualquer alteração de um procedimento deve ser escrita, datada, aprovada pelo responsável autorizado para esse efeito e divulgada junto do pessoal. Cada amostra biológica deve ser tratada separadamente para que seja possível relacioná-la inequivocamente com o resultado.

Os procedimentos operativos incidirão especialmente sobre os seguintes pontos:

- A preparação do doente para a colheita a efectuar (jejum, dieta e outras restrições aplicáveis);
- O tipo de amostra;
- A escolha do recipiente destinado a receber o produto/amostra e eventuais aditivos (anticoagulantes ou outros reagentes);
- A identificação do doente (incluindo nome, idade, sexo e informação clínica relevante) e da amostra;
- A colheita (anexar a lista dos parâmetros solicitados);
- As interferências conhecidas e relevantes (medicamentos, alimentos e dados);
- As condições de transporte da amostra;
- A introdução dos parâmetros solicitados no sistema informático do laboratório;
- Os critérios de rejeição da amostra;
- O processamento pré-analítico da amostra;
- Os reagentes (preparação, utilização, segurança e conservação);
- Os aparelhos utilizados (utilização, manutenção, calibração);
- O processamento analítico com referência ao método utilizado;
- As regras de validação e a própria validação;

- A transmissão dos resultados;
- A conservação da amostra antes e depois da análise;
- A gestão dos sistemas informáticos existentes;
- A manutenção dos locais e dos materiais de trabalho (limpeza, organização, condições especiais: temperatura, corrente eléctrica e humidade, quando aplicável);
- A garantia da qualidade.

1.4. Recursos Humanos

Existe e está definida a relação dos cargos e responsabilidade do pessoal que trabalha neste laboratório.

Considerando que estamos a falar de um laboratório totalmente automatizado, e tendo em conta que o número mínimo de amostras diárias que o laboratório pode ter, de acordo com o *layout*, é de 600 e considerando que o número de pessoas a fazer o trabalho técnico e auxiliar no laboratório depende do número de amostras/dia, para este laboratório será de integrar 6 médicos, 9 técnicos e 2 auxiliares, distribuídos da seguinte forma (tabela 5):

Tabela 5 - Alocação dos Recursos Humanos num Laboratório IVD Modelo

	Pré-Analítica	Imuno-química	Hematologia	Urianálise	Microbiologia	Biologia Molecular	Total
Especialistas		2	1	1	1	1	6
Técnicos	1 ou 2	2	1	1	2	1	8 ou 9
Auxiliares							2
Administrativos							3

Dois dos técnicos asseguram as colheitas de manhã;

1.5. O Fluxo de Trabalho

Segue-se a descrição do fluxo de trabalho nas áreas de imunoquímica e hematologia no laboratório modelo.

- 1) O utente dá entrada no serviço de análises clínicas e espera até entregar a requisição para o exame, na recepção, ao administrativo.
- 2) O administrativo abre a ficha do utente no sistema informático contendo todas as informações pessoais e dos parâmetros a analisar. Fornece informação sobre quando estarão prontas as análises e são impressos os códigos de barras para identificação dos recipientes. São estes códigos de barras que serão lidos, posteriormente, pelo sistema analítico. Caso o fluido biológico a analisar seja a urina, o administrativo fornece um recipiente próprio. É efectuado o pagamento e é dada a opção de ser fornecida uma password ao utente para posterior consulta dos resultados.
- 3) a) Caso o fluido a recolher seja urina: O utente dirige-se à casa de banho e efectua a recolha.
b) Caso o fluido seja sangue: O utente desloca-se para a sala de espera, onde aguarda ser chamado pelo técnico ou através de um sistema de senhas numeradas.
- 4) a) O utente dá o recipiente ao técnico responsável e dirige-se para casa, onde aguarda os resultados.
b) O utente é chamado, deslocando-se, em seguida, à sala de colheitas.
- 5) Na sala de colheitas, o técnico responsável pela colheita, recolhe informação acerca de medicação que o utente poderá estar a tomar e que poderá influenciar os resultados e efectua a etiquetagem dos tubos.
- 6) Após a recolha da informação o técnico efectua a colheita do fluido biológico, sendo este colocado nos recipientes etiquetados na tarefa anterior e acondicionados dependendo da substância a analisar (colocados em gelo, anticoagulante, entre outros)

- 7) Após a colheita de sangue, o utente dirige-se para casa onde aguarda o resultado das análises, dependendo o tempo de espera do tipo de substância a analisar. O técnico aguarda novo utente.
- 8) O auxiliar transporta as amostras recolhidas para o laboratório tendo em atenção a adequada termoestabilização das amostras, de acordo com as suas características e da análise a realizar, atendendo ao tempo e à distância, para posterior análise.
- 9) No laboratório, as amostras são recebidas pelo técnico e colocadas no sistema pré-analítico (automático), onde as amostras que não requerem centrifugação são enviadas para o suporte apropriado, sendo as restantes centrifugadas e descapsuladas. As amostras que não requerem alíquotagem são direccionadas directamente para a suporte apropriado. Nas que é necessário efectuar alíquotagem, é avaliado o volume de soro ou plasma disponível, os tubos para alíquotas são preparados e etiquetados e é colocado o volume apropriado em cada tubo, sendo as alíquotas direccionadas directamente para os suportes dos próprios gestores de amostras.
- 10) O sistema de gestão de amostras proporciona uma leitura do código de barras, encaminhando cada tubo para o equipamento devido, sendo aí efectuada a análise dos parâmetros.
- 11) Após a análise, o equipamento efectua a validação técnica, ou seja, se garante que o processo decorreu dentro dos parâmetros de qualidade e ordena as amostras para se encontrarem facilmente, sendo o técnico responsável pela validação. Caso seja necessário, procede-se a repetições.
- 12) Os resultados são então enviados pelo sistema informático para o médico especialista que faz a validação biopatológica, ou seja, controla a verosimilhança e a coerência do conjunto dos resultados das análises efectuadas para um utente, tendo em conta o seu estado clínico, os tratamentos de que foi alvo e os resultados anteriores.
- 13) O relatório final é enviado para a recepção também através do sistema informático, é colocado no sistema do hospital.
- 14) O utente e o médico prescriptor têm acesso aos resultados.

Ou seja,

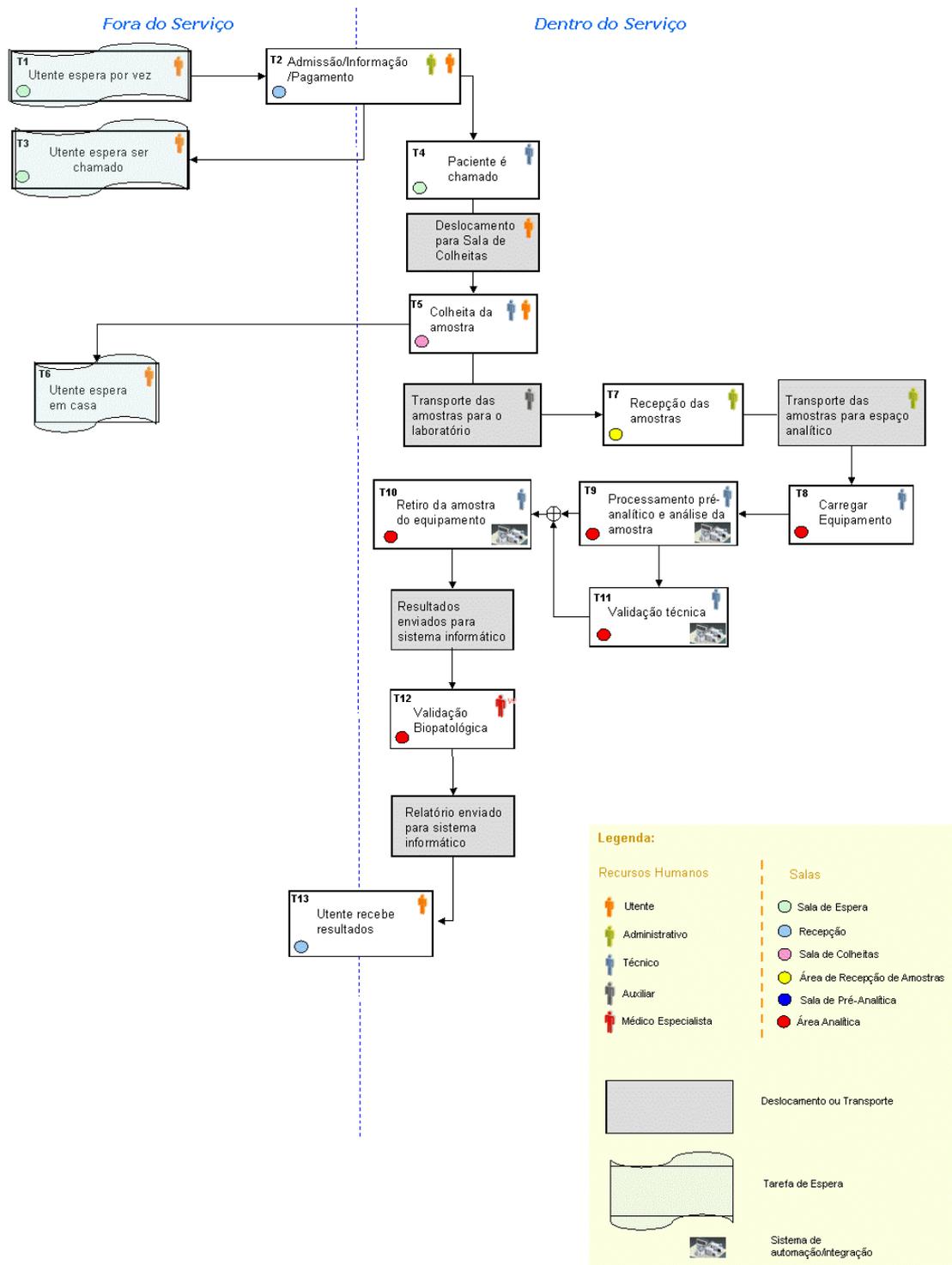


Figura 32- Fluxo de trabalho num laboratório modelo

PARTE IV – ESTUDO DE CASO

Capítulo 1 - Estudo de caso prático

De modo a dar resposta à carga de trabalho, pode dotar-se um laboratório com sistemas de automação de tecnologia avançada, proporcionando um modelo organizativo que permite otimizar os recursos materiais e humanos actuais.

Como já se referiu, a simplificação do processo desde o momento em que o clínico solicita análises até ao momento em que recebe um relatório fiável, assim como a segurança do pessoal no laboratório, a redução de erros, a consolidação de parâmetros, o tempo de resposta do laboratório, as normas de qualidade e controlo dos custos são aspectos importantes a ter em conta na optimização.

Para estudo de caso prático, foram escolhidos um serviço de patologia clínica de um hospital público e uma clínica privada.

Para o efeito, e com base em visitas efectuadas a outros laboratórios assim como na pesquisa efectuada, foi elaborada antecipadamente a *Checklist* constante do anexo 5 ao presente relatório. Assim, será possível um estudo de todo o processo, assim como uma comparação entre os dados recolhidos em ambos os laboratórios e uma definição da optimização para o funcionamento dos mesmos.

1.1. Clínica Privada

No dia 12 de Junho de 2007 desloquei-me à clínica com o objectivo de estudar o funcionamento do laboratório, procedendo a uma análise da estrutura organizacional da mesma assim como à medição de alguns tempos considerados mais relevantes. Este estudo permitir-me-á concluir acerca do tempo de resposta e da produtividade do laboratório.

1.1.1. Processo Actual

O serviço de análises clínicas da clínica privada engloba os sectores de Química Clínica, Imunologia, Hematologia e Microbiologia, estando divididos em duas áreas distintas: microbiologia com área exclusiva e os restantes sectores partilham o mesmo espaço.

Focando apenas Química Clínica, Imunologia e Hematologia, e para termos desde já uma ideia da dimensão do serviço, podemos dizer que dão entrada por dia, cerca de 1000 amostras.

Para dar resposta às necessidades, em termos de recursos humanos, existem 4 médicos especialistas, 5 técnicos superiores, 9 técnicos, 1 auxiliar e 8 administrativos, distribuídos da seguinte forma (tabela 6):

Tabela 6- Distribuição dos Recursos Humanos pelos diferentes sectores da clínica privada

	Imunologia	Hematologia	Química	Microbiologia	Separação	Total
Especialistas	1	1	1	1		4
Técnicos Superiores	1			3	1	5
Técnicos	1	1	1	3	2	9*
Auxiliares						1
Administrativos						8

*Ao fim do dia, por vezes, vem mais um técnico para fazer citometria de fluxo.

Neste PCS, efectua-se colheita das 7h30 – 17h30, não havendo necessidade de pré marcação.

Ao chegar à clínica o utente retira uma senha com um número dependendo do tipo de exames que vai efectuar:

- A000: Levantar resultados
- F000: Utentes prioritários (grávidas, utentes em cadeira de rodas)
- B000: Exames (TAC, Ecografia, Holter, MAPA)
- C000: Análises Clínicas

Aguarda depois ser atendido num dos 8 balcões (figura 33), onde são registados no sistema os seus dados e as análises a efectuar, ficando as amostras como estando em falta até darem entrada na sala de separação (pré-analítica). O utente pode optar entre ir buscar os resultados ou obtê-los via e-mail.



Figura 33 –À esquerda: Recepção e Registo dos utentes. À direita: sala de espera.

As salas de colheitas (figura 34) são seis, estando em cada sala um técnico que tem a seu cargo chamar o utente, confirmar os dados, etiquetar os tubos e colocá-los, separados, nos suportes:

- Tampa amarela: Soro
- Tampa roxa: Hemograma
- Tampa azul clara: Coagulação
- Tampa cinzenta: Glicose

O tempo que um técnico demora a fazer a colheita é influenciado por variáveis como a experiência do técnico, o tipo de utente (se é uma criança, um idoso) e as inesperadas indisposições. São efectuadas, em média 170 colheitas por dia neste posto.

Figura 34 - Sala de colheitas

Ainda na zona das colheitas, um auxiliar ou um técnico procede às centrifugações necessárias.

No laboratório, diariamente, são recepcionadas cerca de 1000 amostras provenientes dos vários pontos de colheita da clínica (cerca de 7) e de outros laboratórios. Estas amostras chegam ao início da tarde. Esquemáticamente, o laboratório está dividido nas seguintes áreas (figuras 35 e 36):



- Zona de colheitas:

Figura 35 - Zona de colheitas. A sala de espera tem capacidade para cerca de 100 pessoas.

Separado por um corredor de cerca de 50 m de comprimento encontram-se as áreas pré-analítica e analítica.

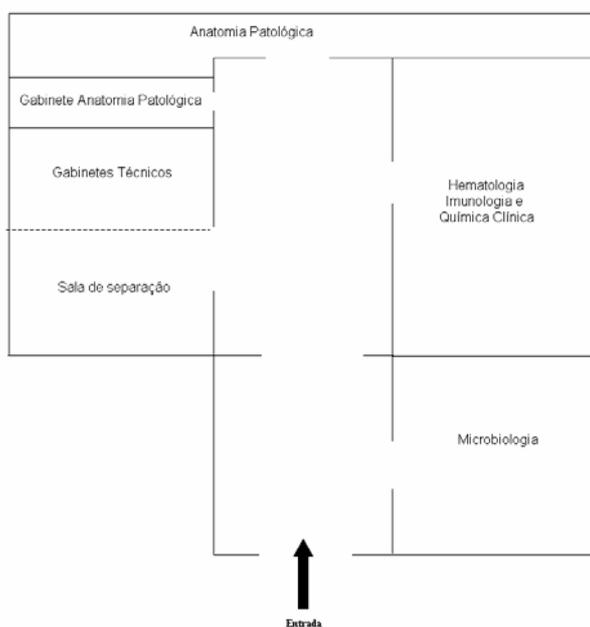


Figura 36 - Área analítica e pré-analítica

Na sala de separação, o trabalho começa a meio da manhã (por volta das 11h). As amostras provenientes deste ponto de colheita (figura 37) vêm já separadas por tipo de análise, identificadas pelas tampas de diferentes cores, referidas anteriormente.



Figura 37 - Amostras provenientes da sala de colheitas, antes de darem entrada

Nesta sala (figura 38), apenas se dá entrada das amostras no sistema fazendo passar os códigos de barras no sistema. Caso existam tubos mal centrifugados procede-se a nova centrifugação.



Figura 38 – À esquerda: sala de separação. À direita: centrífugas

Depois de dar entrada, as amostras são descapsuladas e ficam no suporte até que um técnico as vá buscar (figura 39).

Figura 39 - Amostras descapsuladas e prontas para serem transportadas para zona analítica



Para as urgências existem requisições cor-de-rosa, sendo as amostras colocadas directamente nos equipamentos, para que o tratamento seja mais rápido que as restantes amostras.

Caso haja amostras em falta, ou seja, caso tenha havido resultados muito diferentes do normal, ou o soro tenha sido insuficiente, proceder-se-á a nova colheita, sendo estes casos, além de guardados no sistema, reportados em requisições de cor verde.

No laboratório, a partir das 8h30, procede-se aos controlos de qualidade e à preparação dos equipamentos começando o trabalho por volta das 11h.

Os suportes são transportados da sala de separação para a zona analítica.

A zona analítica está dotada com um sistema *Workcell* (figura 40) com dois *sample manager*, um ADVIA120 (Hematologia), três ADVIA Centaur (Imunologia) e dois ADVIA1650 (Química Clínica).

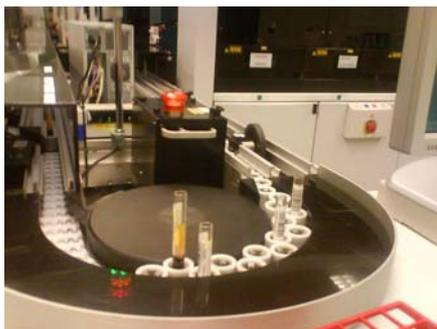


Figura 40 - Workcell

Existem ainda outros equipamentos como o Immulite 2000 (figura 41). Depois de as amostras percorrerem toda a cadeia, o *sample manager* organiza todos os tubos, caso tenham que ir para outro equipamento ou não. Há portanto um técnico responsável por cada sector (hematologia, imunologia e química clínica) que verifica se está tudo a correr como previsto, retira os suportes quando estão cheios e os coloca nos equipamentos respectivos.

Figura 41 - Immulite 2000

No final, os tubos são organizados (pelo *sample manager*) de forma a serem encontrados caso seja necessário repetir algum teste ou realizar testes reflexos. Os tubos são guardados 24h.

A validação é feita pelo médico especialista do sector.



Existem testes que não se realizam diariamente, nomeadamente os testes para Vírus Herpes Simplex tipos I e II, Clamydia, parvovírus, micoplasma, 17OH-Progesterona, Testosterona livre, Cardiolipinas, Reninas e testes de autoimunidade.

Segundo os técnicos, entre 98-100% das amostras recepcionadas diariamente estão prontas ao fim do dia de trabalho.

Para a análise dos tempos, visando a capacidade de resposta do laboratório (com base na figura 42) nos sectores de hematologia, imunologia e química clínica, considerou-se de grande utilidade seguir um utente e a amostra correspondente, desde a colheita até que o utente vá buscar o relatório (considerando que o utente escolheu essa opção). Porém, esta metodologia revelou-se impraticável, pelo que, em alternativa, optei pela seguinte metodologia:

- 1- Medir o tempo que o utente demora na zona das colheitas:
 - a) Tempo de espera antes de ser admitido (T1 – Utente espera por vez)

- b) Tempo de espera antes de ser chamado para entrar na sala de colheitas (T3 – Utente espera ser chamado)
 - c) Tempo que decorre entre a entrada na sala de colheitas e a saída.(T5 – Colheita da amostra)
 - d) Tempo que decorre desde que o utente entra no serviço até que sai do serviço.
- 2- Medir os tempos de algumas tarefas desde o momento em que as amostras chegam ao laboratório até os parâmetros requeridos serem analisados:
- a) Tempo que leva a dar entrada das amostras aquando a sua recepção (T7 – Recepção das amostras)
 - b) Tempo que demora a descapsulação. (T8 – Descapsulação)

Revelou-se impraticável recolher o *turnaround time* (tempo que uma amostra fica na cadeia), uma vez que depende do número e do tipo de testes a efectuar.

Foi impossível recolher tempos relativos à emissão e validação do relatório.

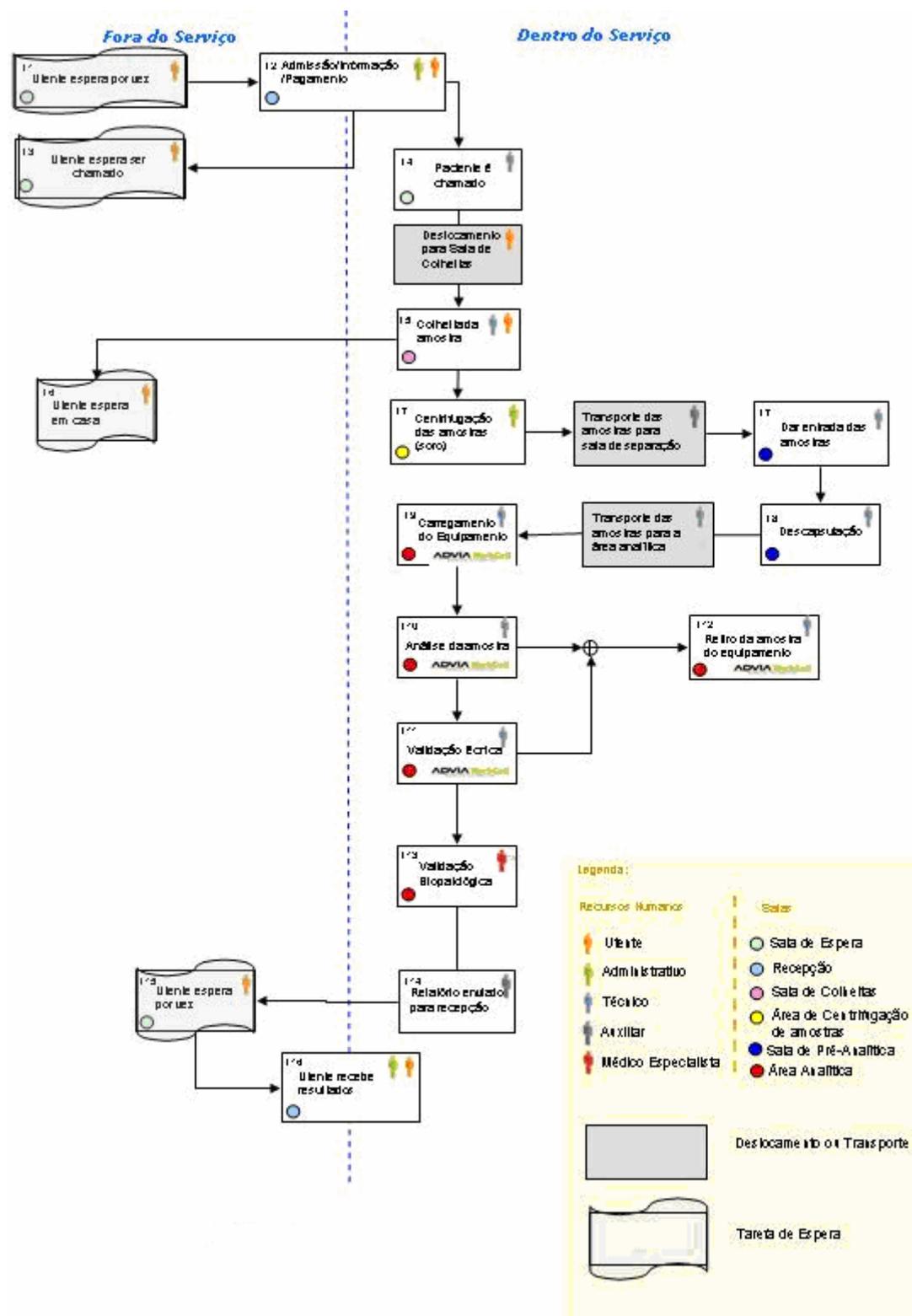


Figura 42 - Fluxo de trabalho nos sectores de hematologia, imunologia e química clínica

Apresento os resultados relativos aos tempos recolhidos *in loco* no anexo 7, vindo a seguinte análise estatística relativamente às colheitas na tabela 7 (efectuada em *Excel*).

Tabela 7 - Análise estatística dos dados recolhidos na zona de colheitas da clínica

unidades: minutos

	Tempo de Admissão	Tempo de Espera antes da Colheita	Tempo da Colheita	Tempo Total
Média	4,94	9,74	3,19	16,88
Erro-padrão	0,25	0,23	0,19	0,37
Mediana	5,34	10,01	3,06	16,62
Desvio-padrão	1,02	0,92	0,75	1,49
Variância	1,04	0,84	0,57	2,22
Mínimo	2,75	6,78	2,15	14,47
Máximo	6,33	10,72	5,42	19,00
Coefficiente de Variação	0,21	0,09	0,24	0,09

O tempo de admissão tem uma média de 4 minutos e 56 segundos, o tempo de espera antes da colheita tem uma média de 9 minutos e 44; O tempo médio de colheita é de 3 minutos e 11 segundos e a média do tempo total (desde que o utente entra até que sai do serviço) é de 16 minutos e 53 segundos. Das variáveis aqui consideradas, é o tempo total que apresenta uma maior dispersão (tem valor mais elevado de desvio-padrão), devido ao tempo que o utente espera para ser chamado. Este factor não se pode controlar, uma vez que há a possibilidade da sala de colheita ficar mais tempo ocupada devido a possíveis indisposições ou um acesso IV mais difícil (máximo é de 6 minutos e 20 segundos). O tempo de colheita tem menor dispersão (há menor divergência de dados). O coeficiente de variação é útil para a comparação em termos relativos do grau de concentração em torno da média. Se menor ou igual a 0,15 - Baixa dispersão - homogénea, estável; Entre 0,15 e 0,30 - Média dispersão e se maior que 0,30 - Alta dispersão – heterogénea.

Será também útil efectuar um estudo de *outliers*, ou seja determinar as observações numericamente distantes dos restantes dados. Este estudo foi feito utilizando o *software* R, estando representados na figura 43 os gráficos referentes aos dados recolhidos na clínica, na zona de colheitas.

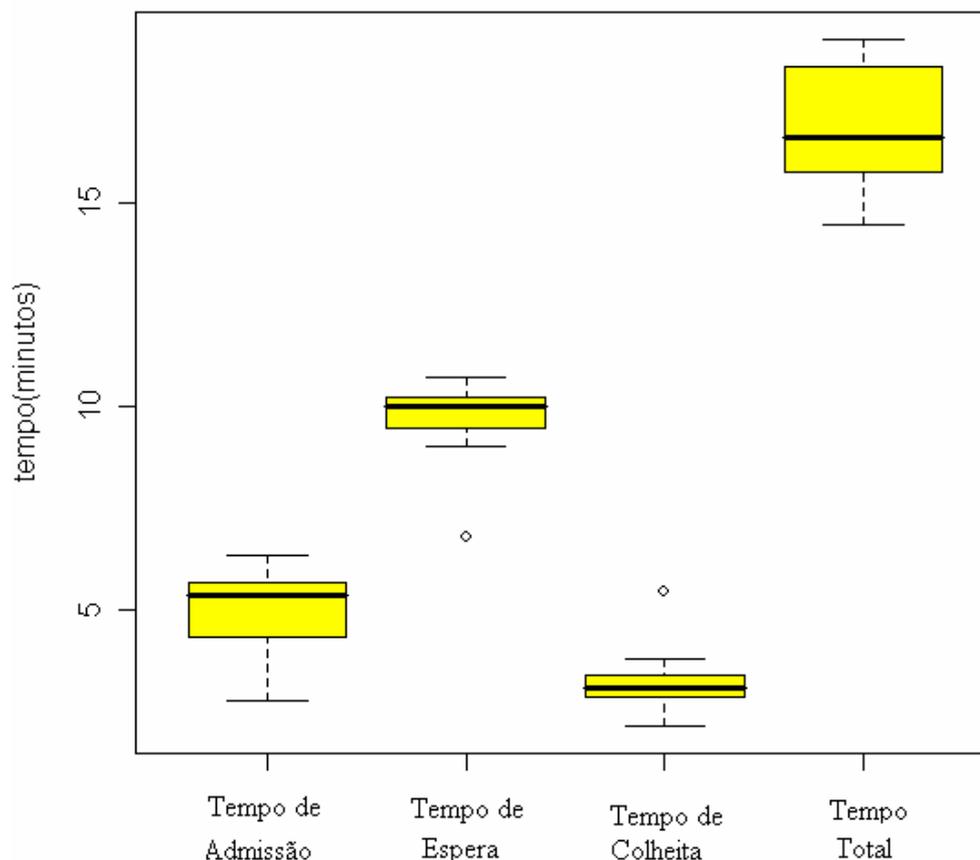


Figura 43 - Estudo de outliers na amostra recolhida na zona de colheitas da clínica

Verifica-se um *outlier* no tempo de espera (6 min 47 s), provavelmente devido ao utente ter chegado numa altura em que as colheitas estariam a ser feitas mais rapidamente, ou em que houvesse menos utentes em espera. O *outlier* relativo à colheita (5 min 25 s) pode dever-se a uma indisposição do utente.

Relativamente às tarefas T8 e T9, o procedimento foi contar o número de tubos em cada suporte e verificar quanto tempo demorava a dar entrada e descapsular, respectivamente, cada suporte tendo sido obtida a análise estatística representada na tabela 8.

Tabela 8 - Análise estatística dos dados recolhidos na sala de separação dos sectores de hematologia, imunologia e química clínica da clínica.

unidades: minutos

	Tempo dar entrada	Tempo descapsulação
Média	6,82	2,73
Erro-padrão	0,52	0,40
Mediana	6,67	3,05
Desvio-padrão	1,16	0,90
Variância da amostra	1,35	0,80
Mínimo	5,45	1,48
Máximo	8,37	3,52
Coefficiente de Variação	0,17	0,33

O tempo para dar entrada tem uma média de 6 minutos e 49 segundos e o tempo de descapsulação tem uma média de 2 minutos e 44 segundos. Das duas variáveis aqui consideradas, é o tempo que demora a dar entrada das amostras que apresenta uma maior dispersão (tem valor mais elevado de desvio-padrão).

Relativamente ao estudo de outliers podem observar-se os seguintes gráficos.

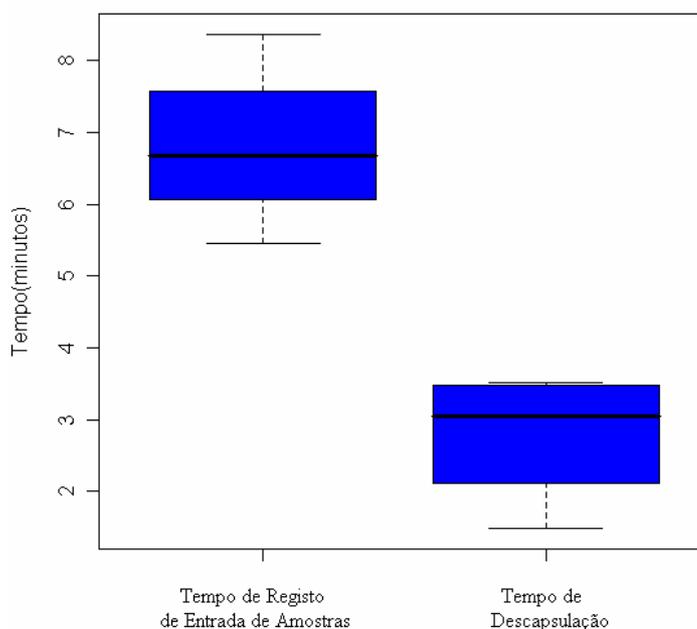


Figura 44 - Estudo de outliers na amostra recolhida na sala de separação da clínica.

Não se verificam *outliers*.

Após análise da organização e da análise temporal das tarefas anteriormente indicadas, pode concluir-se que o laboratório tem um bom sistema de registo que permite controlar e assegurar que todos os tubos chegaram ao destino e que se realizaram as análises solicitadas.

A fase pré-analítica é quase inexistente, resumindo-se apenas ao registo da entrada das amostras, verificação da centrifugação (se está bem efectuada e caso não esteja, faz-la) e descapsular as amostras.

No espaço pré-analítico existe uma boa organização, uma vez que a maior parte dos testes são efectuados na cadeia.

Do ponto de vista do bem-estar do utente, o protocolo de colheita é correcto. No entanto, o facto das colheitas não exigirem uma pré-marcação faz com que, em alturas de grande afluência, o utente tenha esperas desnecessárias.

Trata-se de um laboratório com um fluxo de trabalho muito bom, permitindo uma optimização na zona das colheitas e no que concerne às actuais tarefas na sala de separação.

1.1.2. Optimização

Nesta secção é apresentada, com base no estudo anterior, uma proposta para melhorar os fluxos de trabalho controlando os custos. Os objectivos desta proposta são:

- Diminuir o tempo de espera do utente quando vai fazer a colheita
- Automatizar o registo da entrada das amostras e a descapsulação.

Desta forma, na figura 45 está representado graficamente o padrão de chegada dos utentes à clínica, tendo havido 116 utentes durante o dia em questão.

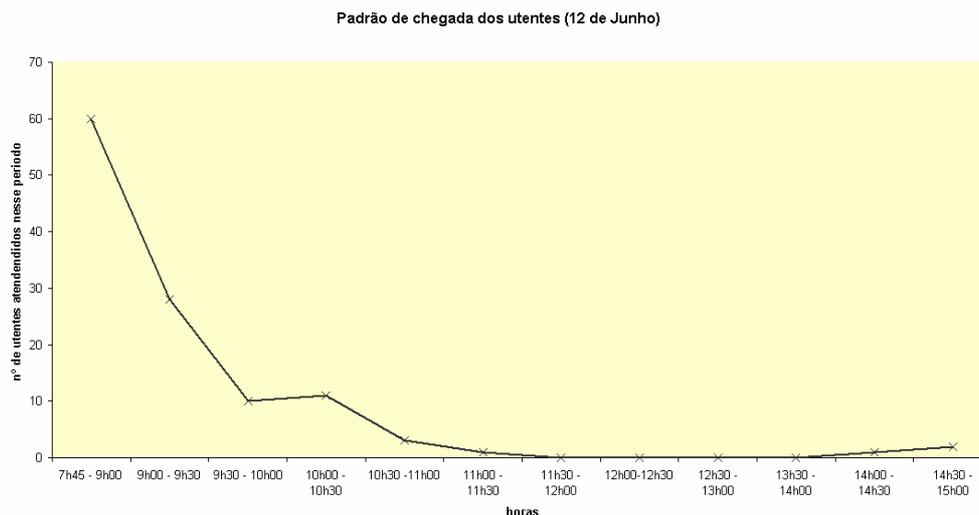


Figura 45 - Padrão de chegada dos utentes dia 12 de Junho de 2007

De tarde, as colheitas que se efectuam são para rastreios ou para a microbiologia, ou seja, colheitas que não exigem jejum.

Para evitar o pico da manhã evitando por sua vez os tempos de espera por parte do utente e a lotação das salas de espera, seria viável um processo de pré-marcação, via electrónica, 42 pessoas de 30 em 30 minutos (7 pessoas por sala), podendo assim efectuar-se colheitas das 8h30 até às 10h30 e ficar a funcionar apenas uma sala na parte da tarde, para as colheitas que não necessitam de jejum.

Relativamente à descapsulação, poderia inserir-se o modulo centrífuga-descapsulador, permitindo assim haver menos um técnico na zona de separação.

1.2. Hospital Público

Um dos serviços integrados nos hospitais públicos é o Serviço de Patologia Clínica.

No dia 21 de Maio de 2007 desloquei-me ao referido serviço com o objectivo de recolher dados que permitam compreender o funcionamento do serviço, procedendo ainda a uma análise da estrutura organizacional do laboratório assim como à medição de alguns tempos considerados mais relevantes. Este estudo permitir-me-á concluir acerca do tempo de resposta e da produtividade do laboratório.

1.2.1. Processo Actual

O serviço de Patologia Clínica engloba os sectores de Química Clínica, Imunologia, Hematologia, Microbiologia havendo ainda um sector exclusivamente dedicado à análise de urgências.

Para termos desde já uma ideia da dimensão do serviço, podemos dizer que dão entrada por dia, cerca de 1000 amostras, situação que será adiante melhor explicitada.

Para dar resposta às necessidades, em termos de recursos humanos, existem 6 médicos especialistas, 4 técnicos superiores, 22 técnicos, 4 auxiliares e 7 administrativos, distribuídos da seguinte forma (tabela 9):

Tabela 9- Distribuição dos Recursos Humanos pelos diferentes sectores do Serviço de Patologia Clínica do Hospital

	Imunologia	Hematologia	Química	Microbiologia	Total
Especialistas	2 (partilhados com o sector de Química)	2	2	2	6
Técnicos Superiores	1	1	0	2	4
Técnicos	6 (2 partilhados com Química)	6	5	7	22
Auxiliares					4
Administrativos					7

Neste hospital, efectua-se colheita das 8h – 10h30 sendo exigida uma pré-marcação, com excepção de casos em que nas consultas externas seja requerido um exame imediato (tratadas como urgências) e nos internamentos. As salas de colheitas são quatro, e situam-se um pouco afastadas do laboratório (figura 46), existindo neste último uma sala para colheitas extraordinárias (após as 10h30)



Figura 46 - Entrada principal e sinalização da área de colheitas do Hospital

Na área de colheitas, existem quatro salas de colheita, sendo três para o serviço de patologia clínica e uma para o serviço de sangue. Em cada sala está um técnico que tem a seu cargo chamar o utente, confirmar os dados e etiquetar os tubos. O tempo que um técnico demora a fazer a colheita é influenciado por variáveis como a experiência do técnico, o tipo de veias do utente e caso o utente seja uma criança, caso em que uma colheita pode chegar a demorar 30 minutos. A quantidade de tubos a utilizar, na colheita, depende do tipo de parâmetros requeridos, uma vez que é política do laboratório trabalhar com tubo primário.

No laboratório, diariamente, são recepcionadas cerca de 1000 amostras provenientes de:

- Consultas Externas,
- Internamentos,
- Urgências
- Outras Clínicas/Hospitais (raramente).

Para o pedido destas requisições existem seis tipos de documento:

- Microbiologia – Cor cinzenta
- Urgência – Cor branca
- Química – Cor verde
- Imunologia – Cor azul
- Hematologia – Cor de rosa
- Cuidados Intensivos – Cor-de-laranja

A identificação das amostras realiza-se através de etiquetas com uma numeração fixa.

Esquemáticamente, o laboratório está organizado nas seguintes áreas (figura 47):

Figura 47 - Layout do Laboratório do Hospital

Todas as requisições realizadas pelo hospital (provenientes das consultas) são registadas anteriormente, uma vez que é necessária uma marcação prévia para ir efectuar a colheita, sendo no próprio dia, necessário apenas o registo das urgências e dos internamentos, pelo que cerca de 50% das amostras recepcionadas já está registada antes que os tubos cheguem à área de recepção (figura 48)

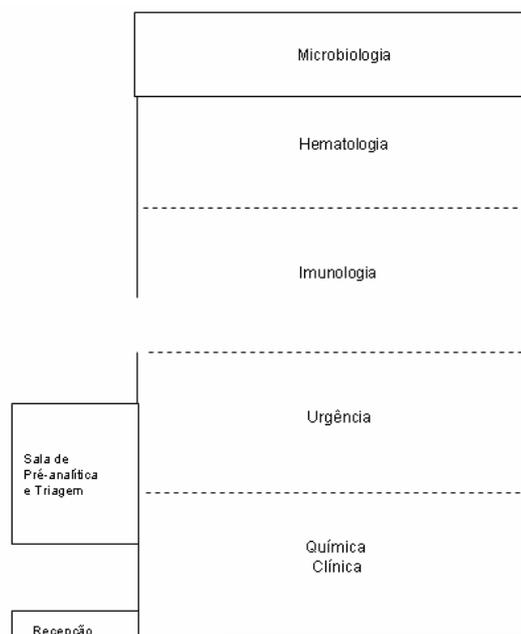


Figura 48 - Área de recepção de amostras, Serviço de Patologia Clínica do Hospital

Uma vez que as amostras provenientes de consultas já estão registadas, existem duas administrativas que fazem a recepção e registo das amostras dos internamentos que começam a chegar por volta das 8 h 45 min. O registo pode demorar entre 2 e 5 minutos, sendo a gasimetria de registo mais rápido e hematologia o mais moroso, uma vez que há muitos parâmetros a inserir. Em termos gerais, o horário de recepção de amostras pode dividir-se da forma demonstrada na tabela 10.

Tabela 10 - Horário e Proveniência das amostras recepcionadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital

Proveniência	Hora de Chegada	Nº de amostras
Urgência	Durante o dia (sem hora)	> 400
Internamentos	8h45 – 9h30	> 300
Consultas	11h - 12h	200 - 300
Outras Clínicas	Raramente (1 vez por semana)	Poucas

Depois do registo, as requisições e as amostras passam para a área de separação e centrifugação (figura 49).



Figura 49 - Sala de fase pré-analítica e triagem

Na área de separação estão dois técnicos que verificam a relação entre as requisições e as amostras e fazem a separação dependendo do equipamento onde os tubos devem ser colocados. Verificam também se os tubos que devem ser centrifugados o estão devidamente e caso tenha havido uma colheita insuficiente procedem à alíquotagem. Esta área funciona por picos, uma vez que este trabalho vai sendo realizado à medida que as amostras chegam. O maior pico de trabalho é entre as 9h30 e as 11h30, uma vez que se tem que separar grande parte das amostras provenientes dos internamentos.

Depois da fase pré-analítica, os tubos são transportados para o sector respectivo, tendo sido a primeira hora da manhã (das 8 h às 9 h) reservada para preparar os equipamentos para o trabalho e efectuar o controlo de qualidade que se efectua uma vez por dia. Relativamente às calibrações podem considerar-se dois tipos: a calibração do equipamento em si, efectuadas pela empresa (anualmente) e a calibração de testes cuja frequência depende do teste.

Focando o sector de imunologia, existem 4 técnicos distribuídos da forma representada na tabela 11.

Tabela 11 - Alocação dos Técnicos no Sector de Imunologia

Separação	ADVIA Centaur + Architect	Vidas + Image	Autoimunidade	Citometria	Qualidade
2 técnicos (1 partilha com ADVIA+Architect e outro com Vidas+Image)	1 técnico	1 técnico	1 técnico (partilha com citometria)	1 técnico	1 técnico (externo ao sector)

Os primeiros equipamentos a serem carregados são o ADVIA Centaur (Siemens Medical Diagnostics) e o Architect 2000SR (Abbott), dado que podem ser constantemente receber novas amostras. O VIDAS (Biomerieux) é o último, pois tenta-se preencher a totalidade do suporte com os tubos a ser analisados neste sistema, uma vez que é um sistema fechado, que após começar a funcionar não se pode parar, contrariamente ao ADVIA e ao Architect (ver figura 50).



Figura 50 - Architect 2000SR e ADVIA centaur

Quando o trabalho termina, os tubos são organizados de forma a serem encontrados caso seja necessário repetir algum teste ou realizar testes reflexos. Os tubos são guardados 24 h caso seja necessária a repetição.

A validação é feita pelo médico especialista do sector.

Existem testes que não se realizam diariamente, nomeadamente os testes para Vírus Herpes Simplex tipos I e II, Legionella e Chlamydia.

Relativamente às urinas, se forem analisadas na imunologia são tratadas como soro, sendo também necessário centrifugação. Se forem analisadas na área da química (figura 51), é necessário um médico especialista para observar sedimentos, cor entre outras características.



Segundo os técnicos, entre 98-100% das amostras recepcionadas diariamente estão prontas ao fim do dia de trabalho.

Figura 51 -Área de Química Clínica

Neste hospital a área de biologia molecular resume-se a PCR para confirmações, sem resultados oficiais, funcionando na área da microbiologia.

Paralelamente funciona o laboratório de urgência (figura 52), 24 h por dia, onde está um técnico e um médico.

Figura 52 -Técnico a trabalhar na área da urgência



Com o objectivo de caracterizar a capacidade de resposta no laboratório foram recolhidos alguns tempos. Na zona de colheitas:

- Tempo de espera do utente antes da colheita
- Tempo desde que o utente é chamado até entrar na sala de colheita (deslocamento)
- Tempo de colheita
- Tempo total (desde que o utente entra no serviço até que sai)

Os dados recolhidos podem ser encontrados no anexo 6, vindo a seguinte análise estatística (em minutos):

Tabela 12 - Análise estatística dos dados obtidos na zona de colheitas do Hospital

unidades: minutos

	Tempo de Espera antes da Colheita	Tempo da Colheita	Tempo Total
<i>Média</i>	17,94	4,54	34,34
<i>Erro-Padrão</i>	0,89	0,60	1,62
<i>Mediana</i>	17,92	4,39	33,21
<i>Desvio-Padrão</i>	2,53	1,70	4,57
<i>Variância</i>	6,39	2,90	20,91
<i>Mínimo</i>	14,95	2,75	29,53
<i>Máximo</i>	22,12	7,95	43,15
<i>Coefficiente de Variância</i>	0,14	0,38	0,13

O tempo de espera antes da colheita tem uma média de 17 minutos e 56 segundos. O tempo médio de colheita é de 4 minutos e 32 segundos e a média do tempo total (desde que o utente entra até que sai do serviço) é de 34 minutos e 20 segundos. Das variáveis aqui consideradas, é o tempo total que apresenta uma maior dispersão (tem valor mais elevado de desvio-padrão), devido ao tempo que o utente espera para ser chamado. Este factor não se pode controlar, uma vez que há a possibilidade da sala de colheita ficar mais tempo ocupada devido a possíveis indisposições ou um acesso IV mais difícil (máximo é de 7 minutos e 67 segundos). O tempo de colheita tem menor dispersão (há menor divergência de dados). Convém lembrar que o coeficiente de variação é útil para a comparação em termos relativos do grau de concentração em torno da média. Se menor ou igual a 0,15 - Baixa dispersão - homogénea, estável; Entre 0,15 e 0,30 - Média dispersão e se maior que 0,30 - Alta dispersão - heterogénea.

Relativamente ao estudo de outliers vêm os gráficos da figura 53.

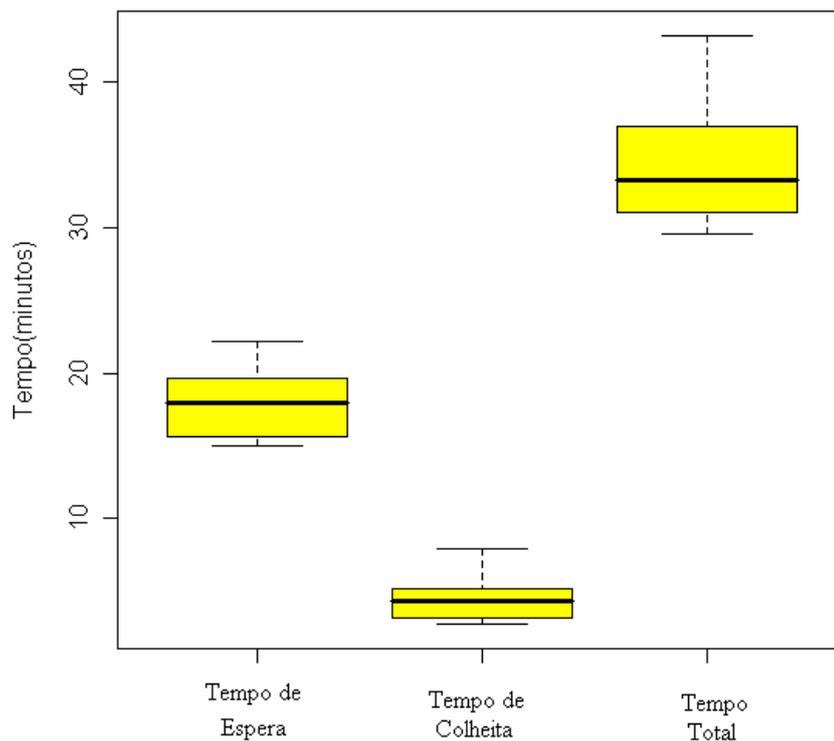


Figura 53 - Estudo de outliers na amostra recolhida na zona de colheitas do Hospital

Não se verificam *outliers*.

No sector de imunologia foram recolhidos os seguintes tempos:

- Tempo que leva a introduzir os dados aquando da recepção da amostra
- Tempo que a amostra leva desde o seu registo (recepção) até a sala de pré-analítica
- Tempo de análise
- Tempo total

Os dados recolhidos podem ser encontrados no anexo 6, vindo a seguinte análise estatística (em minutos):

Tabela 13 - Análise estatística dos dados obtidos no espaço pré-analítico e analítico do Hospital

unidades: minutos

	Tempo de introdução dados	Tempo de Espera	Tempo de pré-analítica	Tempo de análise	Tempo total
<i>Média</i>	13,22	6,61	60,83	31,28	115,76
<i>Erro Padrão</i>	1,93	3,01	29,23	3,19	27,80
<i>Mediana</i>	12,33	5,18	32,55	29,55	100,20
<i>Desvio-Padrão</i>	3,34	5,21	50,63	5,52	48,15
<i>Variância</i>	11,16	27,19	2563,69	30,52	2318,36
<i>Mínimo</i>	10,42	2,25	30,65	26,83	77,32
<i>Máximo</i>	16,92	12,38	119,28	37,47	169,77
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,25	0,78	0,83	0,18	0,42

O tempo de introdução de dados tem uma média de 13 minutos e 13 segundos; O tempo médio de espera entre a passagem da zona de recepção para a sala de pré-analítica é de 6 minutos e 36 segundos, sendo o tempo médio do processamento pré-analítico de 1 hora e 50 segundos; o tempo médio que o equipamento leva a analisar as amostras é 31 minutos e 17 segundos, sendo a média do tempo total (desde que a amostra é recepcionada até ao final da análise) é de 1 hora, 55 minutos e 46 segundos.

Das variáveis aqui consideradas, é o tempo da fase pré-analítica que apresenta uma maior dispersão (tem valor mais elevado de desvio-padrão), devido aos picos de trabalho. Pode verificar-se que o primeiro tempo obtido na fase pré-analítica é de 1 hora, 59 minutos e 17 segundos (máximo) devido ao elevado número de amostras que chegaram de manhã. Todo o processo de separação, centrifugação e alíquotagem (se necessário) é tão mais moroso quantas mais amostras são recepcionadas.

Como se verifica na figura 54, não existem *outliers*.

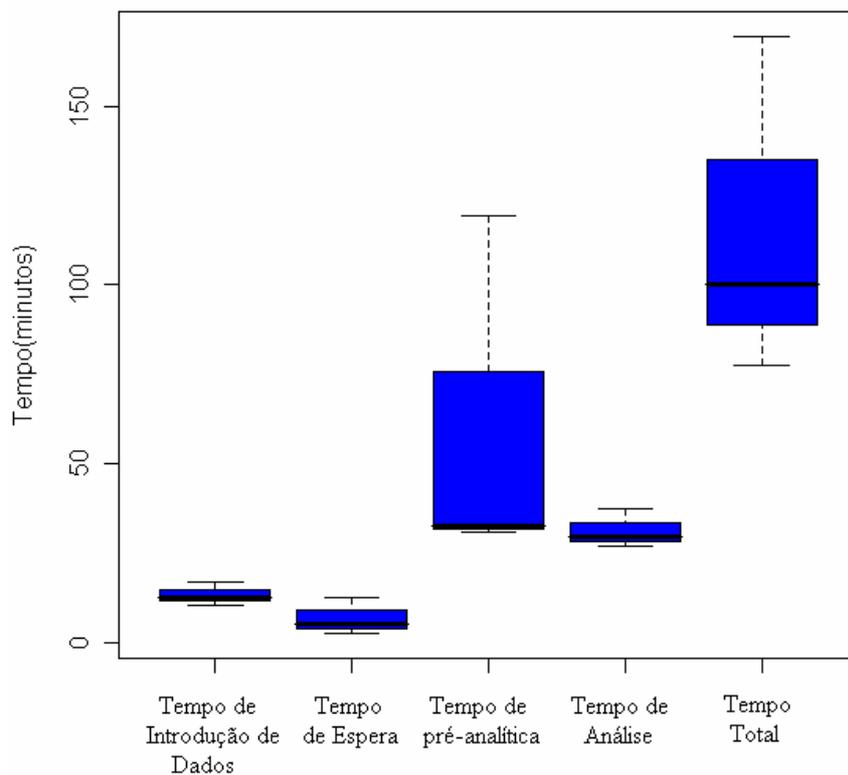


Figura 54 - Estudo de outliers na amostra recolhida nas áreas pré-analítica e analítica do Hospital

Tendo em atenção os dados recolhidos e a análise dos mesmos, o fluxo de trabalho pode ser esquematizado da seguinte forma (figura 55):

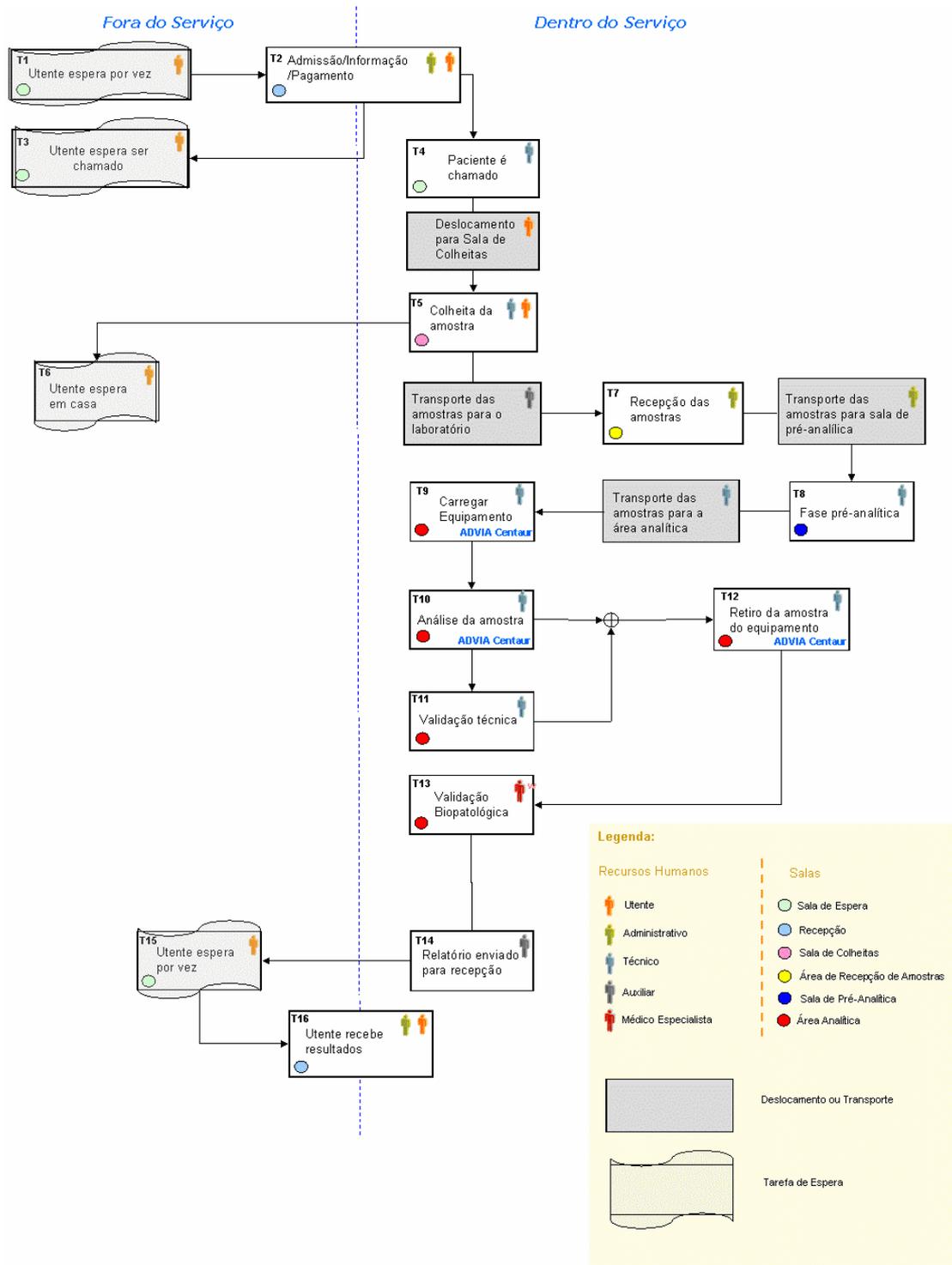


Figura 55 –Fluxo de trabalho no sector de imunologia do Hospital público

Após análise da organização e dos dados recolhidos neste laboratório, pode concluir-se que tem um bom sistema de registo manual que permite controlar e assegurar que todos os tubos chegaram ao laboratório e que se realizaram as análises solicitadas.

Observa-se uma grande manipulação de amostras devido à separação manual e aliquotagem, implicando um grande esforço de recursos humanos e um risco biológico acrescido.

Do ponto de vista do bem-estar do utente, o protocolo de colheita não é o mais adequado, uma vez que são necessários vários tubos.

Há uma grande manipulação de amostras na fase pós-analítica, uma vez que são ordenados manualmente.

Trata-se de um laboratório com um plano aberto, que permite uma optimização baseada na automatização.

1.2.2. Optimização

Nesta secção é apresentada, com base no estudo anterior, uma proposta para *standardizar* e automatizar as fases pré-analítica, analítica e pós analítica. Será de minimizar o manuseamento das amostras, aumentando a segurança do pessoal, do laboratório e melhorar os fluxos de trabalho controlando os custos, permitindo incrementar, no futuro, a carga de trabalho, sem aumentar os recursos humanos. Os objectivos desta proposta são:

- Consolidar o máximo de parâmetros num só tubo, de modo a melhorar o bem-estar do utente.
- Automatizar as tarefas manuais: registo, separação, centrifugação, descapsulação, aliquotagem, carga e descarga dos tubos nos sistemas.
- Aumentar a segurança biológica, através da eliminação dos processos manuais.
- Aumentar a eficiência e produtividade.
- Simplificar a gestão de stocks de reagentes e consumíveis
- Controlar os custos.

- Preparar o laboratório para as necessidades presentes e futuras, com novos equipamentos.

Sendo o objectivo principal consolidar o máximo de parâmetros num único tubo, diminuindo os custos em tubos de colheita assim como a necessidade de alíquotas, pode dotar-se o laboratório com um sistema *Workcell*, permitindo consolidar as áreas de Imunologia, Química e Hematologia, eliminando a necessidade de uma área exclusiva para urgência.

Visto a já existência de dois ADVIA Centaur (um para imunologia de rotina e um para urgência), podem ambos ligar-se à cadeia assim como, 2 ADVIA 2400 (Química), 2 Sample Manager (para separação e gestão de amostras) e 1 dual ADVIA 120 (Hematologia). Para a área pré-analítica a existência de um módulo centrífuga-descapsulador (figura 56), em conjunto com os Sample Manager, iria diminuir o tempo da fase pré-analítica assim como permite a diminuição de manuseamento na pós-analítica, uma vez que faz a ordenação dos tubos, aumentando a facilidade de procura e arquivo de tubos permitindo uma gestão automática de repetições e testes reflexos. Deixa de haver necessidade de um laboratório de urgência uma vez que, quando aparece uma amostra urgente, esta pode ser inserida imediatamente nos analisadores.



Figura 56 - Módulo centrífuga-descapsulador (Fonte: Siemens Medical Solutions Diagnostics)

O sistema *Workcell* é composto por quatro partes principais:

- sistema analítico;
- sistema de transporte (duas linhas de transporte de amostras diminuem “engarrafamentos”. *O Software* permite a localização da amostra durante todos os passos da execução dos testes);
- classificador de amostras (carrega os tubos que foram descapsulados, descarrega e organiza amostras processadas para armazenamento; seguimento individual dos tubos para fácil procura e arquivo, gestão automática de repetições e testes reflexos);
- sistema de gestão de dados (o sistema de gestão de dados - DMS gere os resultados e CQ para cada instrumento, assim como permite uma ligação directa ao sistema informático do laboratório - LIS)

As urgências podem ser analisadas imediatamente após colocação directa no analisador ou por colocação no tapete de transporte

Uma vez que já existe uma zona para microbiologia onde se faz PCR, pode-se dotar o laboratório com tecnologias de Biologia Molecular, nomeadamente Testes Versant™ (testes de quantificação do VIH-1, VHC, VHB, testes para a determinação do genótipo do VHC, testes para a detecção do RNA do VHC) e Testes TRUGENE™ (Sequenciação) para a determinação dos genótipos e resistências aos fármacos anti-retrovirais do VIH-1, VHB, VHC.

1.3. Análise Comparativa

A tabela 14 resume as principais diferenças entre os serviços anteriores.

Tabela 14 - Diferença entre os dois serviços em estudo

	CLÍNICA PRIVADA	HOSPITAL PÚBLICO
Colheita	<p>- Por ordem de chegada</p> <p>-Salas de Colheitas: 6</p> <p>- Média de utentes/dia: 170</p> <p>-Tempo médio de espera antes da colheita: 9 min 44 s</p> <p>- Horário: 8h – 17h30</p>	<p>- Pré-marcação</p> <p>- Salas de Colheitas: 3</p> <p>- Média de utentes/dia: 90</p> <p>- Tempo médio de espera antes da colheita: 17 min 56 s</p> <p>- Horário: 8h – 10h30</p>
Pré-analítica	<p>Resume-se ao registo de entrada das amostras, se necessário, centrifugação e descapsulação.</p> <p>Média de amostras recepcionadas/dia : 1000</p>	<p>Separação manual das amostras para os respectivos analisadores (muito morosa), centrifugação e alíquotagem, se necessário.</p> <p>Média de amostras recepcionadas/dia : 1000</p>
Análítica	<p>Integração de equipamentos. Separação automática das amostras para os equipamentos respectivos através de leitura de códigos de barras.</p>	<p>Não há integração de equipamentos. Os técnicos têm que colocar os suportes com as amostras nos analisadores respectivos.</p>
Pós Analítica	<p>O equipamento faz automaticamente a organização das amostras.</p>	<p>Técnicos têm que organizar manualmente as amostras de forma a serem encontradas facilmente</p>
Recursos Humanos	<p>Especialistas – 4</p> <p>Técnicos Superiores – 5</p> <p>Técnicos – 9</p> <p>Auxiliares – 1</p> <p>Administrativos -8</p>	<p>Especialistas – 6</p> <p>Técnicos Superiores – 4</p> <p>Técnicos – 22</p> <p>Auxiliares – 4</p> <p>Administrativos -7</p>
Obtenção dos Resultados	<p>Os utentes podem optar entre deslocar-se ao serviço para levantar os resultados ou recebê-los via correio electrónico</p>	<p>Os utentes têm que deslocar-se ao serviço, ou recebem via correio, em suporte de papel.</p>

Convém realçar que o a clínica privada tem um fluxo de trabalho muito próximo do ideal, uma vez que é praticamente paperless.

O Teorema do Limite Central legitima, de certa maneira, a grande utilização do modelo Normal como modelo de variáveis que se admitem serem o resultado de um grande número de contribuições cumulativas, desde que as amostras tenham dimensão suficientemente grande, e o processo utilizado para as recolher tenha sido aleatório. Desta forma considero as amostras pouco significativas. Para obter o rigor desejável teria que ser feita uma recolha de elementos «no terreno» muito mais exaustiva e morosa não havendo condições efectivas para permanecer presencialmente no laboratório por muito mais tempo. Assim, a presente amostra é a amostra possível e não a desejável.

Conclusão

Através da compreensão de mecanismos moleculares específicos das patologias, a medicina molecular permite revelar causas e fornecer pistas para a prevenção e cura de várias patologias sendo os conceitos *theranostic* e *pharmacogenomics* forças directrizes que influenciam o progresso desta área, podendo induzir a mudança na filosofia dos sistemas de saúde de uma medicina reactiva baseada no *sickness repair* para uma medicina preventiva, preditiva e personalizada.

Em Portugal, existem unidades de investigação e desenvolvimento que investigam nesta área, focando-se essencialmente em patologias como o cancro, infecções por HIV e doenças neurodegenerativas. Estas são cada vez mais frequentes, dado o envelhecimento da população que se revela como uma tendência positiva ligada a maior eficácia das medidas preventivas em saúde e avanço da ciência no combate à doença

Os testes de diagnóstico *in vitro* são essenciais na prestação de cuidados de saúde, tanto na prevenção como no diagnóstico, sendo que é com base nestes testes que são tomadas a maior parte das decisões médicas.

Estes testes baseiam-se na detecção de sinal que pode ser feita por várias modalidades, nomeadamente por absorvância, relectância, fluorescência e quimioluminescência, podendo também ser efectuada através de reconhecimento biológico, utilizando biosensores.

As áreas de aplicação de diagnóstico *in vitro* são hematologia, química clínica, imunodiagnóstico, gasimetria, diagnóstico molecular e urianálise.

Entre as múltiplas valências de um PCS encontra-se o laboratório de análises clínicas, que propicia aos utentes, através dos exames laboratoriais, auxílio à prevenção, diagnóstico, prognóstico e tratamento de várias patologias. Uma vez que este serviço é integrante da rotina clínica, é importante que haja uma gestão adequada dos recursos envolvidos e um fluxo de trabalho optimizado.

No trabalho desenvolvido, foram feitos dois estudos de caso, num hospital público e numa clínica privada. Apesar do modelo organizacional e do equipamento existente no hospital determinar um fluxo de trabalho que implica um número mais elevado de

recursos humanos, assim como um maior custo associado ao elevado número de tubos necessários para a colheita, relativamente à clínica privada e esta ter um fluxo de trabalho mais eficiente, envolvendo menor manuseamento das amostras, foi possível, em ambos os casos, estabelecer novos fluxos de trabalho que permitem a obtenção de melhores resultados.

No caso do hospital, com a introdução de equipamentos de integração, altera-se o modelo de funcionamento podendo diminuir o número de técnicos assim como diminuir os custos ao nível dos tubos de colheita. Uma vez que o processo de obtenção de resultados clínicos através de análise *in vitro* é um processo delicado, com vista à redução de erros humanos, estes sistemas são utilizados muitas vezes como solução, uma vez que também permitem uma redução, ou mesmo eliminação, da fase pré-analítica que, no hospital chegou a demorar mais de duas horas.

Também o serviço ao cliente pode ser melhorado aquando da colheita de amostras, estabelecendo um sistema de pré-marcações, como é o caso da clínica privada. Apesar de já usar equipamentos de integração e ter um modelo de funcionamento mais próximo do considerado modelo, a zona de colheitas revela uma grande afluência nas primeiras horas da manhã (entre as 7h30 e as 8h30) sendo possível adoptar um sistema de pré-marcação, diminuindo o horário de funcionamento ao público, sem que haja prejuízo no número de colheitas.

Assim, os resultados obtidos permitem mostrar que o funcionamento dum laboratório pode sempre ser melhorado se for aplicada a metodologia usada nos estudos de caso aqui referidos. Isto significa que o uso de tecnologia inovadora aliada a um modelo organizacional eficiente permite obter um laboratório que garanta a qualidade desejável aumentando a capacidade de resposta com um número reduzido de recursos humanos, isto é, com uma despesa menor em recursos, um laboratório passa a produzir mais, com melhor qualidade. Este é um processo dinâmico, dependente de novos equipamentos que vão desempenhando novas tarefas e que determinarão, por conseguinte, novos fluxos de trabalho.

Relativamente à análise estatística efectuada, com o objectivo de caracterizar temporalmente algumas tarefas, seria necessária uma amostra de maior dimensão, desafio que será lançado num trabalho futuro.

Este trabalho permitiu-me ter um conhecimento mais aprofundado do funcionamento e organização de um laboratório de IVD, assim como conhecimento sobre equipamentos e sistemas de automação e integração.

Em termos pessoais, proporcionou-me, uma aquisição de competências que considero relevante, quer ao nível da autonomia quer dos conhecimentos técnicos e do trabalho em equipa, quer ao nível do trabalho em meio empresarial, tendo-me ajudado a crescer.

Inclusivamente, momentos em que tive que reconstruir texto elaborado durante semanas e outros momentos que na altura se revelaram negativos, hoje à distância, considero que trouxeram a vantagem de me fazer reflectir mais profundamente sobre os temas e permitiram-me aprofundar melhor as questões. Assim, fazendo um balanço global, parece-me que o saldo é muito positivo e mesmo alguns momentos menos agradáveis também contribuíram para o meu crescimento, pelo que acabam por se tornar também positivos.

Estou certa que a elaboração deste projecto e o seu desenvolvimento na Siemens Medical Solutions me proporcionaram uma capacidade para o desempenho profissional futuro muito mais elevada que de outra forma não teria.

.

Referências Bibliográficas

1. Saha, G.B., *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. 5th ed. 2004.
2. Blasberg, R.G., *Molecular Imaging and Cancer*, in *Molecular Cancer Therapeutics*. 2003. p. 335-343
3. Penalva, Helena; Rebelo, José, *Evolução da população idosa em portugal nos proximos 20 anos e seu impacto na sociedade*
4. *Cuidados de saúde e cuidados de longa duração* – Ministerio da Saúde, 2005
5. <http://www.portaldasaude.pt>, Fevereiro 2007
6. <http://www.freedoniagroup.com/In-Vitro-Diagnostics.html>, Outubro 2006
7. Vo-Dinh, Tuan - *Biomedical Photonic Handbook*. CRC Press, ISBN: 0849311160, 2003
8. <http://www.scq.ubc.ca> , Novembro 2006
9. http://www.tox.nasu.edu/graduate/phd_m&c.htm, Fevereiro 2007
10. <http://www.diagnosticosdaamerica.com.br/>, Fevereiro 2007
11. <http://www.manualmerck.net>, Janeiro 2007
12. Intranet Siemens AG
13. <http://www.simbios.com.br/diagnostico/index.asp>, Fevereiro 2007
14. Player, Audrey N. - *Single Copy Gene detection using Branched DNA (bDNA) In situ Hybridization*, *Journal of Histochemistry and cytochemistry*. 2001 p. 603-612
15. http://pt.wikipedia.org/br/wiki/urina_humana, Janeiro 2007
16. Manual de Boas Práticas Laboratoriais, Despacho n.º 8835/2001, 28 de Fevereiro de 2001
17. Markin, Rodney S. - Whalen Scott A., *Laboratory Automation: Trajectory, Technology and Tactics*, *Clinical Chemistry Forum*. 2000, p.764-771
18. Felder, Robin A. - *Automation: Survival Tools for the Hospital Lab*, New York, Julho 1998
19. Battisto, Dina - *Planning a Clinical Lab to Accommodate Change*

20. Middleton, Stephen R., *Developing an Automation Concept that is right for your lab* - Clinical Chemistry Forum. 2000, p.757-763

ANEXOS

Anexo 1 Laboratórios Associados

1.1. Laboratórios Associados

O estatuto de Laboratório Associado foi previsto pela primeira vez em legislação de 1999 (Decreto-Lei 125/99) para ser atribuído, na sequência de requerimento apresentado pela instituição (o período de solicitação encontra-se aberto em permanência) e com base "na avaliação da sua capacidade para cooperar, de forma estável, competente e eficaz, na prossecução de objectivos específicos da política científica e tecnológica nacional".

Em 2000, Portugal assumiu com a Comissão Europeia (CE), no âmbito do Quadro Comunitário de Apoio III (2000-2006), o objectivo programático de criar 30 a 40 laboratórios Associados até 2006, ficando explicitamente previsto nos programas operacionais formalizados com a CE o apoio ao funcionamento destes Laboratórios, bem como das outras Unidades de Investigação do Programa de Financiamento Plurianual de Unidades de I&D.

O apoio financeiro contratualizado entre o Estado e os Laboratórios Associados, além da componente comum a todas as unidades de investigação avaliadas (ou seja, o financiamento de base função do resultado da avaliação e do número de doutorados e o financiamento programático função das recomendações dos avaliadores), é explicitamente destinado a despesas com a contratação de novos doutorados e técnicos de apoio à investigação (de acordo com a calendarização aprovada) que só é activado se essas contratações se efectivarem.

O estatuto de Laboratório Associado também assegura uma maior estabilidade de funcionamento uma vez que é atribuído pelo período (máximo) de 10 anos, renováveis mediante avaliação positiva, ficando também condicionado por uma avaliação intercalar a meio do período do contrato, mas vincula a instituição à prossecução de actividades e objectivos específicos, à forma de os alcançar e a prazos a observar.

A legislação estabelece que "os Laboratórios Associados são formalmente consultados pelo Governo sobre a definição dos programas e instrumentos da política científica e tecnológica nacional e integram as estruturas de coordenação da política científica e tecnológica previstas na lei, designadamente o Gabinete Coordenador da Política Científica e Tecnológica".

1.2. Instituto de Biologia Molecular e Celular - IBMC

1.2.1. O Laboratório Associado

Director: Alexandre Tiedtke Quintanilha

Número de Doutorados (31.12.2005): 168

Área Científica Principal: Ciências da Saúde

Linhas Temáticas de Acção:

- Doenças Genéticas, Biologia Estrutural e Imagem
- Doenças Infecciosas, Imunologia Comparada e Vacinas
- Neurociências, Sinais e Stress Biológico
- Envelhecimento, Reparação e Regeneração Biológica

Parcerias:

Instituto de Biologia Molecular e Celular (IBMC)

Director: Alexandre Tiedtke Quintanilha

Instituto de Engenharia Biomédica (INEB) – Porto

Director: Mário Adolfo Monteiro Rocha Barbosa

Data de Constituição do Laboratório Associado: 23/11/2000

Tecnologias Utilizadas:

- Microarrays de DNA
- Ensaio *one-hybrid screen* usando uma biblioteca de cDNA
- Hibridização
- PCR
- Análises Bioquímicas
 - Espectrofotometria
 - Electroforese
 - Cromatografia
 - Blotting

- Citometria de Fluxo
- Microscopia
- Ressonância Magnética Nuclear
- LC/MS/MS (Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry)

1.2.2. Projectos

Tabela 15 - Projectos a decorrer no Instituto de Biologia Molecular e Celular

Referência	Título	Investigador Responsável	Instituição Proponente	Financiamento Atribuído
POCI/BIA-BCM/56043/2004	Regulação da transcrição: identificação da rede de reguladores transcripcionais que modulam a expressão de um enhancer do gene wingless de <i>Drosophila</i> , que é compacto, conservado, e específico para um tecido.	Luis Fernando Casares Fernandez	Instituto de Biologia Molecular e Celular	87.724,00 Euros
POCI/BIA-BCM/56594/2004	Análise funcional das proteínas do checkpoint mitótico durante o desenvolvimento embrionário	Claudio Enrique Sunkel Cariola	Instituto de Biologia Molecular e Celular	90.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/57169/2004	Micobactérias e metabolismo do azoto	Rui Appelberg Gaio Lima	Instituto de Biologia Molecular e Celular	65.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/57683/2004	Investigação da disfunção mitocondrial por análise de microarrays	Maria Margarida de Sá Duarte	Instituto de Biologia Molecular e Celular	50.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/58462/2004	Função do 3' UTR do polo de <i>Drosophila melanogaster</i> no processamento alternativo de mRNA e na expressão genética	Maria Alexandra Marques Moreira Mourão	Instituto de Biologia Molecular e Celular	69.994,00 Euros

		Carmo		
POCI/BIA- PRO/56775/2004	Análise da expressão do antígeno CD5 na superfície de linfócitos T: associações moleculares e localização membranar	Alexandre Valentim Xavier Mourão do Carmo	Instituto de Biologia Molecular e Celular	52.365,00 Euros
POCI/BIA- PRO/59538/2004	Biologia molecular e função de imunofilinas, receptores intracelulares de drogas imunossupressoras	Arnaldo António Moura Silvestre Vieira	Instituto de Biologia Molecular e Celular	29.272,00 Euros
POCI/BIA- BDE/59887/2004	Auto-incompatibilidade gametofítica como sistema modelo para o estudo da co-evolução molecular	Cristina Alexandra Gonçalves Paula Vieira	Instituto de Biologia Molecular e Celular	59.500,00 Euros
POCI/SAU- MMO/56387/2004	Genética Molecular de Doenças Neurodegenerativas Autossómicas Dominantes Caracterizadas por Ataxia	Isabel Alexandra Azevedo Silveira	Instituto de Biologia Molecular e Celular	94.997,00 Euros
POCI/SAU- MMO/56774/2004	As múltiplas isoformas do antígeno CD6 resultando de splicing alternativo: a sua função na regulação da activação de linfócitos T e na sinapse imunológica	Alexandre Valentim Xavier Mourão do Carmo	Instituto de Biologia Molecular e Celular	91.079,00 Euros
POCI/SAU- MMO/57321/2004	Pesquisa de ligandos de TTR moduladores da amiloidogénese	Maria do Rosário Rodrigues de Almeida Martins	Instituto de Biologia Molecular e Celular	81.831,00 Euros
POCI/SAU- MMO/58353/2004	Dissecção Molecular In Vivo das Vias Morfogenéticas do Fuso Mitótico - Implicações para a Aneuploidia e o Cancro	Helder José Martins Maiato	Instituto de Biologia Molecular e Celular	94.984,00 Euros
POCI/SAU- MMO/60443/2004	Listeria, um modelo para análise dos factores de	Didier Cabanes	Instituto de Biologia	94.833,00 Euros

	patogénios e dos hospedeiros determinantes na progressão de infeções		Molecular e Celular	
POCI/SAU-NEU/55811/2004	Síndromes dolorosas centrais: O papel das oscilações talamocorticais espontâneas na hiperalgesia	Vasco Miguel Clara Lopes Galhardo	Instituto de Biologia Molecular e Celular	76.151,00 Euros
POCI/SAU-NEU/56388/2004	Mecanismos de processamento sensorial espinhal: um estudo das conexões sinápticas e modulação do disparo intrínseco em neurónios da substantia gelatinosa	Boris Safronov	Instituto de Biologia Molecular e Celular	89.868,00 Euros
POCI/SAU-NEU/57761/2004	Papel da Transtirretina na toxicidade de A-Beta	Isabel dos Santos Cardoso	Instituto de Biologia Molecular e Celular	86.430,00 Euros
POCI/SAU-NEU/58735/2004	Polineuropatia Amiloidótica Familiar - contribuição para uma estratégia terapêutica	Ana Margarida Moreira Leitão de Barros Martins Damas	Instituto de Biologia Molecular e Celular	94.409,00 Euros
POCI/SAU-NEU/63034/2004	Deficiências cognitivas em modelos animais de dor crónica	Deolinda Maria Valente Alves Lima Teixeira	Instituto de Biologia Molecular e Celular	94.317,00 Euros
POCI/SAU-IMI/56578/2004	Papel da oxigenase do heme 1 na infecção por patogénios intracelulares do macrófago	Maria Salomé Custódio Gomes	Instituto de Biologia Molecular e Celular	99.862,00 Euros
POCI/SAU-IMI/59560/2004	Mecanismos efectores de macrófagos contra <i>Leishmania infantum</i> - papel das espécies reactivas de	Ana Maria Luís Ramos Tomás	Instituto de Biologia Molecular e Celular	98.373,00 Euros

	oxigénio e nitrogénio e de N-hydroxy-L-arginine <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>			
POCI/SAU-ESP/59885/2004	Prognóstico a longo prazo dos Acidentes Neurológicos	Maria Carolina S. Tavares Costa e Silva	Instituto de Biologia Molecular e Celular	98.575,00 Euros
POCI/SAU-ESP/60514/2004	Factores de risco cardiovascular em mulheres com história de pré-eclampsia	Maria Irene De Oliveira Monteiro Jesus Rebelo	Instituto de Biologia Molecular e Celular	60.979,00 Euros
POCI/SAU-OBS/57111/2004	Rastreios de genómica funcional num modelo em <i>Drosophila</i> para o estudo dos mecanismos moleculares da tumorigénese induzidos por mutações da Cadherina-E	Luis Fernando Casares Fernandez	Instituto de Biologia Molecular e Celular	43.975,00 Euros
POCI/SAU-FCF/59837/2004	Drogas anti-leishmania: estudo do papel de novas drogas derivados poliaminicos com fim terapêutico e procura de alvos específicos para inibidores da SIR2	Anabela Cordeiro Silva	Instituto de Biologia Molecular e Celular	80.000,00 Euros

1.3. IPATIMUP

1.3.1. O Laboratório Associado

Director: Manuel Alberto Coimbra Sobrinho Simões

Número de Doutorados (31.12.2005): 52

Área Científica Principal: Ciências da Saúde

Linhas Temáticas de Acção:

- Prevenção e Diagnóstico Precoce do Cancro do Estômago e Lesões Precursoras

- Melhoria da Qualidade de Diagnóstico das Neoplasias Malignas e das Lesões Premalignas

Parcerias:

Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto (IPATIMUP)

Director: Manuel Alberto Coimbra Sobrinho Simões

Data de Constituição do Laboratório Associado: 23-11-2000

Tecnologias Utilizadas:

- RT-PCR
- Blotting
- Microarrays
- Glico-gene Chip array

1.3.2. Projectos

Tabela 16 - Projectos a decorrer no Instituto Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto

Referência	Título	Investigador Responsável	Instituição Proponente	Financiamento Atribuído
POCI/BIA-BCM/59252/2004	P-caderina no Cancro da Mama: o que regula a sua expressão e qual o seu papel na invasão de células neoplásicas?	Fernando Carlos de Lander Schmitt	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	90.000,00 Euros
POCI/SAU-MMO/59607/2004	Caracterização molecular genómica e pós-genómica das vias de sinalização RAS/RAF/ERK e PI3K/AKT em tumores agressivos da Tireóide	Ginesa García Rostán	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	93.100,00 Euros
POCI/SAU-IMI/56681/2004	Efeitos da infecção por <i>Helicobacter pylori</i> em células epiteliais gástricas	Maria do Céu Fontes Herdeiro Figueiredo	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	100.000,00 Euros

POCI/SAU-IMI/56895/2004	Clarificação da importância do polimorfismo da mucina MUC1 na infeção por <i>helicobacter pylori</i>	LUIS FILIPE DOS SANTOS SILVA	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	100.000,00 Euros
POCI/SAU-OBS/55549/2004	Genes associados à metaplasia intestinal da mucosa gástrica (mucina MUC2 e fucosiltransferase FUT3): regulação da transcrição e relevância para a adesão do <i>Helicobacter pylori</i> .	Maria Leonor Martins Soares David	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	96.680,00 Euros
POCI/SAU-OBS/55840/2004	Identificação de vias de sinalização envolvidas na regulação do Cdx2 em dois modelos humanos de diferenciação intestinal: metaplasia intestinal e polipose juvenil.	Raquel Maria da Silva Graça Almeida	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	98.500,00 Euros
POCI/SAU-OBS/56175/2004	Papel da activação oncogénica do BRAF na carcinogénese da tireóide.	Ana Paula Soares Dias Ferreira	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	95.250,00 Euros
POCI/SAU-OBS/56686/2004	Identificação de genes associados à glicosilação induzidos em células gástricas pelo <i>Helicobacter pylori</i> : "Glicómica".	Celso Albuquerque Reis	Instituto de Patologia e Imunologia da Universidade do Porto	55.000,00 Euros
POCI/SAU-OBS/56921/2004	No cancro colorectal com instabilidade de microssatélites são os genes BRAF e KRAS novos marcadores de prognóstico e novas ferramentas terapêuticas?	Maria Raquel Campos Seruca	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular	78.690,00 Euros

POCI/SAU-OBS/57275/2004	Análise funcional dos repressores da caderina-E (Slug, ZEB1 e E12/E47) em carcinomas do estômago	Maria de Fátima Machado Henriques Carneiro	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular	96.800,00 Euros
POCI/SAU-OBS/57670/2004	Mutacoes germinativas da Caderina-E do tipo "missense" e carcinoma difuso hereditario do estomago: um modelo para a identificacao das vias de sinalizacao mediadas pela caderina-E fundamentais na invasao	Gianpaolo Suriano	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular	43.590,00 Euros
POCI/SAU-OBS/58111/2004	Identificação de mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento de cancro gástrico em famílias portadoras e não-portadoras de mutações germinativas da caderina-E	Carla Isabel Gonçalves de Oliveira	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular	92.180,00 Euros
POCI/SAU-OBS/61945/2004	Inactivação de genes supressores tumorais do complexo II mitocondrial em paragangliomas e feocromocitomas esporádicos e familiares	Ginesa García Rostán	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular	20.000,00 Euros

1.4. Instituto de Tecnologia Química e Biológica - ITQB

1.4.1. O Laboratório Associado

Director: Peter Lindley

Número de Doutorados (31.12.2005): 126

Área Científica Principal: Engenharia Química e Biotecnologia

Linhas Temáticas de Acção:

- Moléculas Biologicamente Activas

- Medicina e Veterinária Moleculares
- Biologia do Desenvolvimento em Animais e Plantas
- Risco Biológico (análise de organismos geneticamente modificados, bactérias resistentes a antibióticos, segurança alimentar e ambiental)
- Melhoramento de Plantas e Florestas

Parcerias:

Instituto de Tecnologia Química e Biológica (ITQB)

Director: Manuel Luís Magalhães Nunes Ponte

Instituto de Biologia Experimental e Tecnologia (IBET)

Director: Manuel José Teixeira Carrondo

Instituto Gulbenkian da Ciência (IGC) – Genética e Desenvolvimento da Tolerância Natural

Director: António Coutinho

Data de Constituição do Laboratório Associado: 24-11-2000

Tecnologias Utilizadas:

- Hibridização
- PCR
- Análises Bioquímicas
 - Espectrofotometria
 - Electroforese
 - Cromatografia
 - Blotting
 - Citometria de Fluxo
 - Microscopia

1.4.2. Projectos*Tabela 17 - Projectos a decorrer no Instituto de Tecnologia Química e Biológica*

Referência	Título	Investigador Responsável	Instituição Proponente	Financiamento Atribuído
POCI/QUI/55690/2004	Caracterização de um citocromo membranar que participa na respiração anaeróbica de bactérias reductoras de sulfato	Ricardo Saraiva Loureiro de Oliveira Louro	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	54.500,00 Euros
POCI/QUI/59824/2004	Estudos da interacção quinona-proteína em complexos de cadeias respiratórias	Manuela Alexandra de Abreu Serra Marques Pereira	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	73.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/55762/2004	Plantas transgénicas como modelos para estudar regulação de expressão de transgenes e deposição de proteínas recombinantes	Rita Sobral Moutinho Abranches	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	85.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/56493/2004	Organização da maquinaria de síntese da parede bacteriana em <i>Staphylococcus aureus</i>	Mariana Luisa Tomas Gomes de Pinho	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	90.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/60855/2004	Interacções entre proteínas em células irmãs adjacentes que sinalizam a activação da polimerase do RNA em resposta à morfogénese celular	Adriano José Alves de Oliveira Henriques	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	84.000,00 Euros
POCI/BIA-PRO/55621/2004	Caracterização estrutural de proteínas membranares da cadeia respiratória de um organismo termoacidófilico	Margarida Archer Baltazar Pereira da Silva Franco Frazão	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	78.410,00 Euros
POCI/BIA-	Determinantes estruturais	Maria Helena	Instituto de	81.102,00

PRO/57263/2004	de estabilização proteica por solutos compatíveis de hipertermófilos: desenvolvimento de solutos mais eficientes.	Dias dos Santos	Tecnologia Química e Biológica	Euros
POCI/BIA-PRO/58374/2004	Estudo dos complexos I das cadeias respiratórias da bactéria termohalofílica <i>Rhodothermus marinus</i> e da cyanobactéria <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803, sistemas modelo dos complexos I mitocondrial e cloroplastidial	Manuela Alexandra de Abreu Serra Marques Pereira	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	51.600,00 Euros
POCI/BIA-PRO/58608/2004	Oxigénio reductases de hemo-cobre: mecanismos de transferência electrónica/protónica e de redução de oxigénio	Miguel Nuno Sepúlveda de Gouveia Teixeira	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	55.200,00 Euros
POCI/BIA-PRO/58722/2004	Caracterização de CymA: uma proteína chave na respiração anaeróbica de <i>Shewanella</i>	Ricardo Saraiva Loureiro de Oliveira Louro	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	44.400,00 Euros
POCI/BIA-MIC/55106/2004	O papel da RNase R e de proteínas homólogas no controlo da expressão génica: Estudos funcionais e estruturais	Cecilia Maria Pais de Faria de Andrade Arraiano	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	90.000,00 Euros
POCI/BIA-MIC/58416/2004	Regulação de genes envolvidos na síntese da parede celular em <i>Staphylococcus aureus</i> resistente aos antibióticos β -lactâmicos	Herminia Garcez Lencastre	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	80.000,00 Euros
POCI/BIA-MIC/59310/2004	Estratégias de adaptação a temperaturas elevadas:	Maria Helena Dias dos	Instituto de Tecnologia	90.000,00 Euros

	Respostas a stress térmico e osmótico na bactéria termofílica <i>Rhodothermus marinus</i>	Santos	Química e Biológica	
POCI/BIA-MIC/60320/2004	Controlo da transcrição do gene <i>mecA</i> , o determinante da resistência à meticilina em <i>Staphylococci</i>	Duarte Emanuel Soeiro Carvalho Oliveira	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	72.233,00 Euros
POCI/BIA-MIC/61140/2004	Mechanisms of repression by <i>AraR</i> , a key regulator of carbohydrates utilization in <i>Bacillus subtilis</i>	Isabel Maria Godinho de Sá Nogueira	Instituto de Tecnologia Química e Biológica	80.500,00 Euros

1.5. LIP

1.5.1. O Laboratório Associado

Director: Gaspar Pereira Morais Barreira

Número de Doutorados (31.12.2005): 38

Área Científica Principal: Física

Linhas Temáticas de Acção:

- Física de Partículas e Astropartículas
- Física de Detectores
- Física Médica

Parcerias:

Laboratório de Instrumentação e Física Experimental de Partículas – Lisboa

Director: Gaspar Pereira Morais Barreira

Laboratório de Instrumentação e Física Experimental de Partículas – Coimbra

Director: Armando José Ponce Leão Policarpo

Data de Constituição do Laboratório Associado: 22-11-2001

Tecnologias Utilizadas:

- PET
- RPCs
- Tecnologias Ópticas

1.5.2. Projectos

Tabela 18 - Projectos a decorrer no Laboratório de Instrumentação e Física Experimental

Referência	Título	Investigador Responsável	Instituição Proponente	Financiamento Atribuído
POCI/SAU-OBS/61642/2004	Tomógrafo PET humano de alta sensibilidade e baixo custo: testes de viabilidade	João José Pedroso Lima	Laboratório de Instrumentação e Física Experimental de Partículas	99.288,00 Euros
POCTI/FP/FNU/50171/2003	Paulo Jorge Ribeiro da Fonte	Aplicações das Câmaras de Placas Resistivas temporizadoras	Laboratório de Instrumentação e Física Experimental de Partículas	30.000,00 euros
POCTI/FP/FAT/50234/2003	José Basílio Portas Salgado Simões	Sistema de Imagiologia de Alta Resolução para Raios-X e Gama baseado no Acoplamento Óptico de Cintiladores a APDs Sensíveis a Posição	Laboratório de Instrumentação e Física Experimental de Partículas	
POCTI/FP/FNU/50338/2003	Francisco Amaral Fortes de Fraga	Cintiladores Gasosos Activos para Imagiologia	Laboratório de Instrumentação e Física Experimental de Partículas	25.000,00 euros

1.6. CNC – Centro de Neurociências e Biologia Celular de Coimbra

1.6.1. O Laboratório Associado

Director: Catarina Resende de Oliveira

Número de Doutorados (31.12.2005): 74

Área Científica Principal: Ciências da Saúde

Linhas Temáticas de Acção:

- Neurobiologia e Neurotoxicidade
- Biotecnologia e saúde (incluindo Biosensores, Enzimologia, Transportadores de Fármacos)
- Toxicologia Médica e Ambiental
- Ensaio Clínicos Oftalmológicos e Ensaio de Biodisponibilidade

Parcerias:

Parcerias

Universidade de Coimbra

Centro de Neurociências e Biologia Celular

Director: Catarina Resende de Oliveira

Associação de Apoio ao Instituto de Investigação da Luz e Imagem

Director: José Guilherme Fernandes Cunha Vaz

Data de Constituição do Laboratório Associado: 18/11/2000

Tecnologias Utilizadas:

- Microarrays de DNA
- Hibridização
- PCR
- Análises Bioquímicas
 - Espectrofotometria
 - Electroforese

- Cromatografia
- Blotting
- Citometria de Fluxo
- Microscopia

1.6.2. Projectos

Tabela 19 - Projectos a decorrer no Centro de Neurociências

Referência	Título	Investigador Responsável	Instituição Proponente	Financiamento Atribuído
POCI/BIA-BCM/59980/2004	Controlo pela adenosina da neuro-inflamação.	Rodrigo Pinto Santos Antunes Cunha	Centro de Neurociências e Biologia Celular	85.000,00 Euros
POCI/BIA-PRO/58638/2004	Estudos estruturais da biogénese do proteassoma: determinação da estrutura do Ump1 e do seu complexo com precursores do proteassoma.	Sandra de Macedo Ribeiro	Centro de Neurociências e Biologia Celular	26.094,00 Euros
POCI/SAU-FCF/59215/2004	Neuroprotecção por receptores de adenosina: acoplar o aumento da formação de adenosina com o bloqueio de receptores	Catarina Isabel Neno Resende de Oliveira	Centro de Neurociências e Biologia Celular	85.000,00 Euros
POCI/SAU-FCF/59601/2004	Efeito do consumo crónico de cafeína da neuromodulação exercida pela adenosina - possível relevância em processos de aprendizagem e memória.	Rodrigo Pinto Santos Antunes Cunha	Centro de Neurociências e Biologia Celular	85.000,00 Euros

POCI/SAU-FCF/60399/2004	Interação entre catecolaminas e neuropeptídeo Y nas células cromafins humanas.	Cláudia Margarida Gonçalves Cavadas	Centro de Neurociências e Biologia Celular	55.000,00 Euros
POCI/QUI/55603/2004	Metabolismo hepático intermediário da glucose em crianças com e sem actividade da glucose-6 fosfatase hepática	John Griffith Jones	Centro de Neurociências e Biologia Celular	65.500,00 Euros
POCI/SAU-MMO/56055/2004	Vectores lentivirais e silenciamento de genes em doenças de poliglutaminas: Expressão de RNAs de cadeia dupla mediada por vectores lentivirais para silenciamento do gene da ataxina-3	Luis Fernando Morgado Pereira Almeida	Centro de Neurociências e Biologia Celular	30.000,00 Euros
POCI/SAU-MMO/57598/2004	Estudo dos possíveis factores ambientais e moleculares que levam ao desenvolvimento de diabetes tipo 2 e obesidade em Portugal	Eugenia Maria Lourenco de Carvalho	Centro de Neurociências e Biologia Celular	90.250,00 Euros
POCI/SAU-MMO/60156/2004	Determinantes moleculares de neurotoxicidade e agregação da ataxina-3 na doença de Machado-Joseph	Sandra de Macedo Ribeiro	Centro de Neurociências e Biologia Celular	94.996,00 Euros
POCI/SAU-NEU/56098/2004	Relação entre alterações metabólicas no hipocampo e défices de memória induzidos por diabetes	Rui de Albuquerque Carvalho	Centro de Neurociências e Biologia Celular	89.663,00 Euros

POCI/SAU- NEU/59135/2004	Caracterização dos receptores purinérgicos nas fibras musgosas do hipocampo - papel na epilepsia	Rodrigo Pinto Santos Antunes Cunha	Centro de Neurociências e Biologia Celular	86.500,00 Euros
POCI/SAU- OBS/57831/2004	Vectorização de fármacos para os vasos sanguíneos tumorais: uma nova terapia para o cancro da mama humano.	João Nuno Seren de Almeida Moreira	Centro de Neurociências e Biologia Celular	45.000,00 Euros

1.7. Instituto de Medicina Molecular - IMM

1.7.1. O Laboratório Associado

Director

Maria do Carmo Fonseca

Nº de doutorados (31.12.2005): 104

Área Científica Principal: Ciências da Saúde

Linhas temáticas de acção:

- Genómica, RNA e Diversidade do Proteoma Humano
- Novas Estratégias Terapêuticas de Base Celular e Farmacológica para Doenças Vasculares e Neurodegenerativas
- Novos Métodos Preditivos dos Factores de Risco Genéticos e Nutricionais para as Doenças Cardiocerebro-Vasculares
- Novas Estratégias Terapêuticas de Base Genética e Imunológica para Doenças Infecciosas, Hemato-oncológicas e Auto-imunes

Parcerias:

Instituto de Medicina Molecular

Director: Maria do Carmo Fonseca

Centro de Neurociências de Lisboa (CNL)

Director: Jose Manuel Morão Cabral Ferro

Centro de Microcirculação e Biopatologia Vascular (CMBV)

Director: Luis Filipe Sobral Silva Carvalho

Centro de Gastreenterologia de Lisboa (CGL)

Director: Miguel António Paiva Carneiro Moura

Centro de Nutrição e Metabolismo (CNM)

Director: Maria Ermelinda Silva Mendes Assis Camilo

Centro de Investigação de Patobiologia Molecular

Director: Sérgio Dias

Data da Constituição do Laboratório Associado: 20-11-2001

1.7.2. Projectos

Tabela 20 - Projectos a decorrer no Instituto de Medicina Molecular

Referência	Título	Investigador Responsável	Instituição Proponente	Financiamento Atribuído
POCI/SAU-FCF/57973/2004	Interacção entre endocannabinoides e adenosina no hipocampo	Joaquim Alexandre Ribeiro	Instituto de Medicina Molecular	70.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/58929/2004	Mecanismos moleculares e importância da internalização nuclear do VEGF e KDR em células endoteliais	SUSANA CONSTANTINO ROSA SANTOS	Instituto de Medicina Molecular	50.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/60670/2004	Modulação do factor de transcrição NF-kB durante infecção por vírus herpes gamma	João Pedro Monteiro e Louro Machado de Simas	Instituto de Medicina Molecular	95.000,00 Euros
POCI/BIA-BCM/61079/2004	O papel da IL-7 na regulação da homeostase de populações linfocitárias T CD4+ em humanos.	Maria Godinho Alves Vieira Duarte Soares	Instituto de Medicina Molecular	86.000,00 Euros

POCI/BIA- BCM/61799/2004	O papel das moléculas de Plasmodium que migram para o núcleo dos hepatócitos por ele infectados	Maria Manuel Dias da Mota	Instituto de Medicina Molecular	76.000,00 Euros
POCI/BIA- BCM/63368/2004	Topoisomerasas: na fronteira entre a replicação do DNA e a estrutura da cromatina	João António Augusto Ferreira	Instituto de Medicina Molecular	50.000,00 Euros
POCI/SAU- NEU/56332/2004	Neurotrofinas e comunicação neuronal: regulação pela adenosina	Ana Maria Ferreira Sousa Sebastião	Instituto de Medicina Molecular	90.500,00 Euros
POCI/SAU- OBS/58913/2004	Sinais Externos e Intracelulares na Génese Tumoral: Alvos Potenciais para o Desenvolvimento de Novas Terapias contra o Cancro	João Pedro Taborda Barata	Instituto de Medicina Molecular	99.935,00 Euros
POCI/SAU- MMO/55974/2004	Indução de tolerância em doenças autoimunes: reprogramar o sistema imunitário com anticorpos monoclonais.	Luis Ricardo Simões da Silva Graca	Instituto de Medicina Molecular	95.000,00 Euros
POCI/SAU- MMO/57700/2004	Mecanismos de regulação do processamento e transporte de mRNA no núcleo	Maria Carmo Salazar Velez Roque Fonseca	Instituto de Medicina Molecular	90.915,00 Euros
POCI/SAU- MMO/60333/2004	Produção de células T na imunodeficiência associada ao VIH	Ana Cristina Gomes Espada de Sousa	Instituto de Medicina Molecular	94.990,00 Euros
POCI/SAU- MMO/60930/2004	Genómica Funcional em Malária - Determinação de moléculas e suas vias de sinalização na célula hospedeira importantes	Maria Manuel Dias da Mota	Instituto de Medicina Molecular	94.050,00 Euros

	para o desenvolvimento intrahepático do parasita da malária			
POCI/SAU- MMO/61129/2004	Expressao e Funcao de hsUbc6e	John Vincent Fleming	Instituto de Medicina Molecular	30.000,00 Euros

Anexo 2 Dados Relativos à População em Portugal

Tabela 21 - Esperança de vida à nascença em Portugal em 1960, 1970, 1980, 1990 e 2002

	1960	1970	1980	1990	2002
Homens	61,2	64,2	67,5	70,6	73,8
Mulheres	66,8	70,8	74,6	77,6	80,3

Fonte: HFA-DB, OMS 2005

Tabela 22 - Taxas de mortalidade padronizada (método directo) geral e por algumas causas

	1980	1990	2002
TMP geral	1123,8	924,6	728,9
TMP por doenças cérebro-vasculares	277,3	210,2	122,2
TMP por doença isquémica cardíaca	93,1	82,7	63,7
TMP por tumores malignos	161,5	164,0	161,6
TMP por tumores malignos da traqueia, brônquios e pulmão	16,2	20,3	23,0
TMP por tumores malignos do estômago	33,0	26,8	18,0
TMP por tumores malignos do cólon, recto e ânus	15,7	20,0	21,9
TMP por tumores malignos da próstata	24,5	23,9	27,2
TMP por acidentes com veículos a motor	28,0	26,6	19,0
TMP por sinais, sintomas e outras afecções mal definidas	176,0	113,0	65,4

Fonte: HFA-DB, OMS 2005

Anexo 3 Transdutores

3.1. Ópticos

A transdução óptica tem um grande número de sub-categorias pois os biosensores ópticos podem ser utilizados em vários tipos de espectroscopia (ex: absorção, fluorescência, fosforescência, Raman, refração, dispersão) para medir diferentes propriedades espectroquímicas das espécies. Estas propriedades incluem a amplitude, a energia, a polarização, o tempo de decaimento e a fase. A amplitude é o parâmetro normalmente mais utilizado uma vez que pode ser correlacionado com a concentração do analito em estudo.

A medição da energia da radiação electromagnética pode fornecer informação sobre a alteração no ambiente da vizinhança da amostra, a sua vibração molecular ou a formação de novos níveis de energia. Pode medir-se também as interacções de uma molécula livre com uma superfície fixa através de medições por polarização. A polarização da luz emitida é, frequentemente, aleatória quando emitida por uma molécula livre em solução; no entanto, quando a molécula se fixa numa superfície a luz emitida mantém-se polarizada. O tempo de decaimento pode também ser utilizado para conseguir informação sobre interacções moleculares porque os tempos de decaimento são extremamente dependentes do estado excitado das moléculas. Outra propriedade possível de ser medida é a fase da variação emitida. Quando a radiação electromagnética interage com uma superfície, a velocidade ou a fase da radiação é alterada com base no índice de refração do analito.^[7] Seguem-se mais informações sobre tecnologias que utilizam propriedades ópticas das amostras.

3.1.1. Espectrofotometria

Os métodos espectroscópicos baseiam-se na absorção e/ou emissão de radiação electromagnética por muitas moléculas, quando os seus electrões se movimentam entre níveis energéticos. A espectrofotometria baseia-se na absorção da radiação nos comprimentos de onda entre o ultravioleta e o infravermelho (Figura 57).

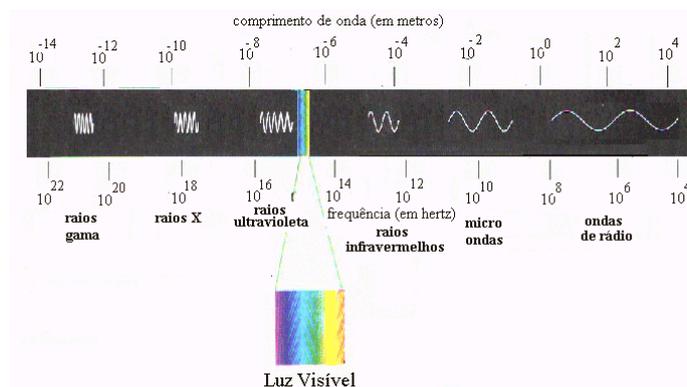


Figura 57 - Espectro electromagnético. A espectrofotometria utiliza a radiação compreendida entre o ultravioleta (ultraviolet) e o infravermelho (infrared). (Adaptado de [7])

A chamada radiação luminosa corresponde a uma gama de comprimentos de onda que vai desde o ultravioleta ao infravermelho no espectro da radiação electromagnética.

Um espectrofotómetro é um aparelho que faz passar um feixe de luz monocromática através de uma solução, e mede a quantidade de luz que foi absorvida por essa solução (Figura 58). Usando um monocromador aparelho separa a luz em feixes com diferentes comprimentos de onda. Pode-se assim fazer passar através da amostra um feixe de luz monocromática. O espectrofotómetro permite-nos saber que quantidade de luz é absorvida a cada comprimento de onda. [7]

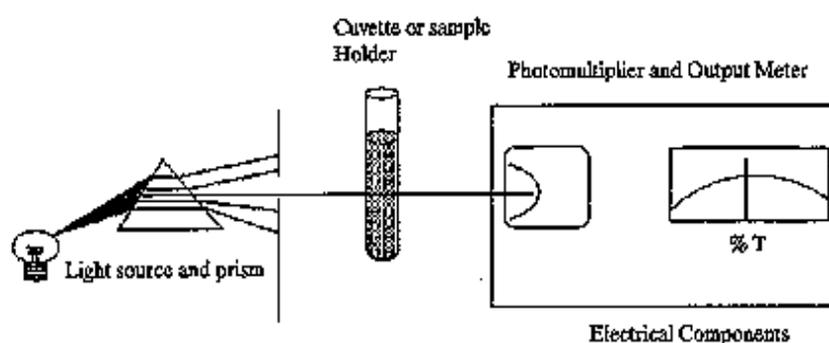


Figura 58 - Espectrofotómetro. A luz é dividida em feixes de diferentes comprimentos de onda por meio de um monocromador e passa através da amostra, contida numa cuvette ou célula de fotómetro. (Adaptado de [7])

Quando um feixe monocromático de radiação, com intensidade I_0 , incide sobre uma *cuvette* contendo uma solução, podem ocorrer vários fenómenos. O efeito mais significativo ocorre quando parte da radiação é absorvida pelo meio que está a ser analisado. Parte da radiação incidente pode ainda ser reflectida, em função da substância a analisar ou das diferenças entre o índice de refração do meio onde a radiação se propaga e do meio que está a ser analisado (inclusive pelas paredes da *cuvette*), enquanto que outra poderá ser simplesmente espalhada, caso o meio não seja transparente e homogéneo. Consequentemente, a intensidade do feixe que é medida após a passagem pela amostra (intensidade transmitida, I_t) será menor que a intensidade do feixe incidente, I_0 . Um aspecto extremamente importante, é que todos estes efeitos associados à intensidade de radiação, estão relacionados entre si por uma expressão linear descrita pela equação:

$$I_0 = I_r + I_e + I_a + I_t$$

Onde:

I_0 = Intensidade do feixe incidente

I_r = Intensidade do feixe reflectido, resultado das diferenças do índice de refração entre a amostra e o meio envolvente

I_e = Intensidade do feixe espalhado, resultado de um meio não homogéneo (suspensão) e/ou de flutuações térmicas

I_a = Intensidade do feixe absorvido pelo meio

I_t = Intensidade do feixe transmitido.

Grande parte dos procedimentos envolvendo absorção de luz, são realizados com soluções homogéneas e transparentes, de modo que a intensidade de radiação espalhada, I_e , pode ser considerada desprezável. Ao trabalhar com soluções homogéneas, a intensidade da radiação incidente pode ser considerada como sendo utilizada em dois processos, descritos pela equação:

$$I_0 = I_a + I_t$$

As intensidades, incidente (I_0) e transmitida (I_t), podem ser medidas directamente. Logo, a radiação absorvida (I_a) pode ser determinada como a diferença entre I_0 e I_t .

Algumas técnicas analíticas, tais como a turbidimetria e a nefelometria, utilizam exactamente a propriedade que determinadas soluções não homogéneas apresentam de dispersarem luz. Para tais procedimentos, a intensidade do feixe espalhado será o factor determinante para aplicações analíticas. [8]

3.1.2. Métodos colorimétricos

Com alguma frequência é necessário quantificar substâncias em misturas complexas, ou que não absorvem significativamente a luz a nenhum comprimento de onda. Nestes casos utilizam-se os chamados métodos colorimétricos - o composto a quantificar é posto em contacto com um reagente específico, de modo a desenvolver uma cor cuja intensidade é directamente proporcional à concentração da substância na mistura original.

Por exemplo, para quantificar proteínas numa solução pura pode medir-se a absorvância a 280 nm, sendo esta proporcional à concentração de proteína. Mas se quisermos saber a concentração de proteína num extracto impuro, este método já não pode ser utilizado, porque outras substâncias, como por exemplo os ácidos nucleicos, também absorvem a este comprimento de onda. Neste caso podemos utilizar, por exemplo, o reagente de Biureto, que reage de modo quantitativo com as proteínas, originando um complexo violeta, que absorve fortemente a radiação a 540 nm.

Para quantificar espectrofotometricamente uma substância é necessário, obviamente, saber o valor de ϵ . Para isso é necessário preparar uma série de soluções do composto a quantificar, de concentração conhecida, fazê-las contactar com o reagente e medir as absorvâncias ao comprimento de onda adequado. Caso haja uma relação linear perfeita entre a concentração da substância (expressa em molaridade, M) e a absorvância ao comprimento de onda λ de medida podemos obter uma recta do tipo

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot c \text{ (ou } A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot c + b, \text{ caso a recta não passe na origem)}$$

em que A_{λ} é a absorvância ao comprimento de onda λ de medida, c a concentração em M e ϵ_{λ} a constante de proporcionalidade. Sabendo esta relação, podemos fazer corresponder uma absorvância medida, a uma concentração de substância na solução a analisar.

Muitas vezes o método só é linear até uma certa concentração da substância. Nesse caso, utiliza-se a zona em que a relação é linear, diluindo a solução a medir, sempre

que necessário, de modo a que a absorvância resultante esteja contida no intervalo da recta de calibração.^[7]

3.1.3. Citometria de Fluxo

A citometria de fluxo permite a análise de partículas de interesse biológico com base na análise da dispersão da radiação electromagnética e da fluorescência. Também permite a análise quantitativa de muitos constituintes celulares através de medição de fluorescência. Devido à versatilidade e riqueza de informação obtida pela citometria de fluxo, esta é usada em pesquisa biológica e biomédica.^[7]

Corantes fluorescentes podem ligar-se a diferentes componentes celulares como o DNA ou o RNA. Os anticorpos conjugados com corantes fluorescentes podem ligar-se a proteínas específicas, membranas celulares ou ao interior das células. Quando células marcadas passam através de uma fonte de luz, as moléculas fluorescentes são excitadas para um nível superior de energia. Ao regressar ao estado fundamental, os fluorocromos emitem luz com um comprimento de onda superior. A utilização de múltiplos fluorocromos, cada um com comprimento de onda de excitação semelhante e diferente comprimento de onda de emissão, permite medir simultaneamente diferentes propriedades celulares.

Na tabela 23 estão sistematizadas as aplicações clínicas da citometria de fluxo.

Tabela 23 - Aplicações Clínicas da Citometria de fluxo(Adaptado de [7])

Área	Aplicação Clínica	Característica Analisada
Imunologia	Histocompatibilidade	IgG, IgM
	Rejeição em Transplantes	CD3, OKT3 circulante
	Detecção HLA-B27	HLA-B27
	Estudos de imunodeficiência	CD4, CD8
Oncologia	Conteúdo DNA e fase S em tumores	DNA
	Medição de marcadores de proliferação	Ki-67, PCNA
	Leucemia e Linfoma	Antigénios da superfície dos leucócitos
	Identificação de subgrupos importantes para prognóstico	TdT, MPO

Hematologia	Enumeração de células hematopoiéticas progenitoras	CD34
	Diagnóstico de mastócitos sistémicos	CD25, CD69
	Enumeração Reticulócitos	RNA
	Desordens Autoimunes	
	Anticorpos Anti-plaquetas	IgG, IgM
	Anticorpos Anti-neutrófilos	IgG
	Complexos Imunitários	Complemento, IgG
	Quantificação Feto-maternal Sanguínea	Hemoglobina F, rhesus D
Banco de Sangue	Imunohematologia	Superfície de antígenos Eritrocitários
	Avaliação da contaminação do sangue por leucócitos	Varrimento, antígenos da superfície dos leucócitos
Doenças Genéticas	PNH	CD55, CD59
	Deficiência de Adesão de Leucócitos	Complexo CD11/CD18

3.2. Electroquímica

Este tipo de transdução é complementar à transdução óptica, como a fluorescência.

A transdução electroquímica, como a potenciometria, é baseada no potencial químico desenvolvido pelo analito em solução, por comparação com um eléctrodo de referência.

Exemplos de sensores electroquímicos são os biosensores enzimáticos de fluxo para a detecção de glucose, biosensores para estimativa de proteínas e aminoácidos e detecção de L-fenilalanina via NADH.^[7]

Seguem-se mais informações sobre a potenciometria.

3.2.1. Potenciometria

A potenciometria tem como base a diferença de potencial na ausência de corrente.

Através deste método, obtém-se as concentrações iónicas directamente a partir do potencial de um eléctrodo de membrana selectivo de iões. Estes eléctrodos são relativamente livres de interferências e fornecem resultados rápidos e convenientes para estimativas quantitativas de vários aniões e catiões.

O equipamento necessário para os métodos potenciométricos é simples e barato, incluindo um eléctrodo de referência, um eléctrodo indicador e um aparelho de medida de potencial. ^[6]

3.2.1.1. Eléctrodos de Referência

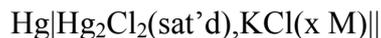
Na maioria das aplicações electroanalíticas, deseja-se que o potencial de um eléctrodo seja conhecido, constante e completamente insensível à composição da solução sob estudo. A este eléctrodo chama-se de eléctrodo de referência. Conjugado com este eléctrodo aplica-se o eléctrodo indicador, cuja resposta depende da concentração do analito.

O eléctrodo de referência:

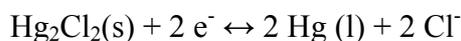
1. É reversível e obedece à equação de Nernst;
2. Exibe um potencial que é constante com o tempo;
3. Regressa ao potencial original após ser sujeito a pequenas correntes;
4. Exibe uma ligeira histerese com o ciclo de temperatura.

Apesar de não haver nenhum eléctrodo ideal, existem vários que são uma boa aproximação.

Os eléctrodos de colomelanos consistem em mercúrio em contacto com uma solução saturada em cloreto de mercúrio(I) (colomelanos), contendo também uma concentração bem conhecida de cloreto de potássio. As semi-células de colomelanos podem ser representadas da seguinte forma:



Em que x representa a concentração molar de cloreto de potássio em solução. O potencial de eléctrodo para esta semi-célula é determinado pela reacção:



E é dependente da concentração de cloreto, x. Esta quantidade deve ser especificada na descrição do eléctrodo.

Na tabela 24 está uma listagem da composição e dos potenciais de três eléctrodos de calomel. A figura 59 representa os eléctrodos de referência de colomelanos comerciais:^[6]

Tabela 24 - Potencial para vários tipos de eléctrodo (Adaptado de [6])

Temperatura °C	Potencial de Eléctrodo (V)				
	0,1 M Colomelanos	3,5 M Colomelanos	Calomel Saturado	3,5 M Ag/AgCl	Ag/AgCl Saturado
10		0,256		0,215	0,214
12	0,3362		0,2528		
15	0,3362	0,254	0,2511	0,212	0,209
20	0,3359	0,252	0,2479	0,208	0,204
25	0,3356	0,250	0,2444	0,205	0,199
30	0,3351	0,248	0,2411	0,201	0,194
35	0,3344	0,246	0,2376	0,197	0,184
38	0,3338		0,2355		
40		0,244		0,193	0,184

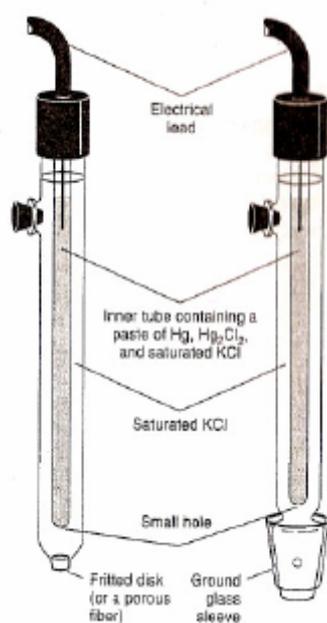
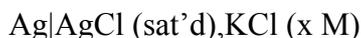
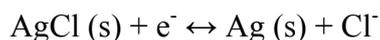


Figura 59 -Eléctrodos de Referência de Colomelanos comerciais (Adaptado de [6])

O sistema de eléctrodo de referência mais utilizado consiste num eléctrodo de prata imerso numa solução de cloreto de potássio saturada com cloreto de prata.



O potencial é determinado por:



Este eléctrodo é preparado com uma solução de cloreto de potássio de 3.5M. Os potenciais para estes eléctrodos são dados na tabela 3. Os modelos comerciais destes eléctrodos são semelhantes aos de colomelanos.

As vantagens destes eléctrodos relativamente aos de colomelanos residem na possibilidade de poderem ser usados a temperaturas superiores a 60°C.

3.2.1.2. Eléctrodos Indicadores

Um eléctrodo indicador ideal responde e detecta rapidamente variações na actividade de um ião. Convém realçar que nenhum eléctrodo indicador é absolutamente específico na sua resposta.

Há dois tipos de eléctrodos indicadores:

- Metálicos – Eléctrodos de primeiro tipo, eléctrodos de segundo tipo, eléctrodos de terceiro tipo e eléctrodos redox
- de Membrana

Os últimos permitem a determinação rápida e selectiva de inúmeros aniões e catiões por potenciometria directa. Muitas vezes são denominados eléctrodos ião-selectivos (ISE) devido à sua elevada sensibilidade. São também referidos como eléctrodos de *p*-iões porque o seu *output* é uma *p-function*, como o pH, pCa ou pNO₃.^[6]

3.2.1.3. Eléctrodos Molecular-Selectivos

Dois tipos de sistemas de eléctrodos membranares foram desenvolvidos de forma a agir selectivamente perante certos tipos de moléculas. Um destes é utilizado para a determinação de gases dissolvidos como dióxido de carbono e amónia, o outro é

baseado em membranas biocatalíticas permitindo a determinação de vários compostos orgânicos como a ureia e a glucose.

A figura 60 é um esquema que mostra alguns detalhes da sonda sensor de gás para dióxido de carbono. A parte fundamental da sonda é uma membrana porosa e fina que separa a solução analito de uma solução interna contendo bicarbonato de sódio e cloreto de sódio. Um eléctrodo de vidro sensível ao pH contendo uma membrana é colocado de forma a que um filme muito fino da solução interna fica entre o eléctrodo e a membrana. Um eléctrodo de referência de Ag/AgCl é também colocado na solução interna. É o pH da película de filme adjacente ao eléctrodo de vidro que permite a medição do conteúdo em dióxido de carbono do analito do outro lado da membrana. [6]

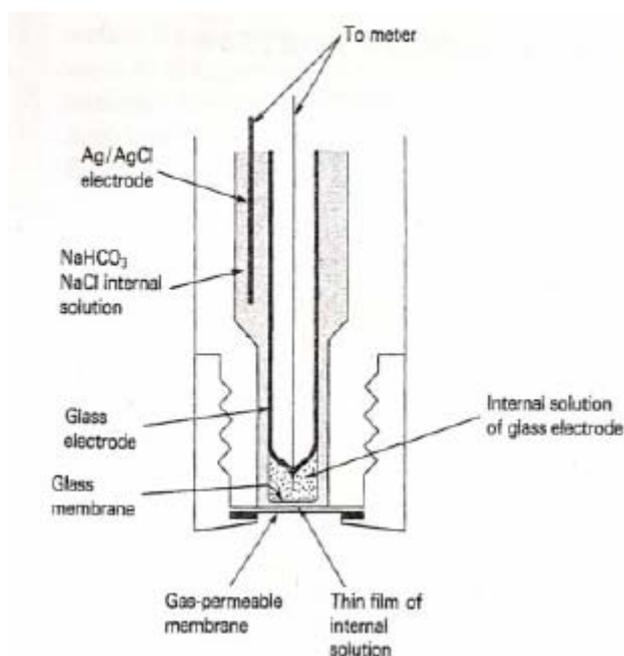


Figura 60 - Esquema de uma sonda para detecção de dióxido de carbono(Adaptado de [6])

3.3. Mass-Sensitive

Outra forma de transdução também utilizada é a medição de pequenas alterações na massa. Esta análise baseia-se na utilização de cristais piezoeléctricos que se podem colocar a vibrar a uma frequência específica. A frequência de oscilação é dependente da frequência eléctrica aplicada ao cristal, bem como da massa do cristal. Assim,

quando a massa aumenta devido à ligação de químicos, a frequência de oscilação do cristal altera-se e esta alteração pode ser medida electricamente e utilizada para medir a massa adicionada ao cristal. A maior parte da massa adicionada consiste em fragmentos de DNA e anticorpos.^[7]

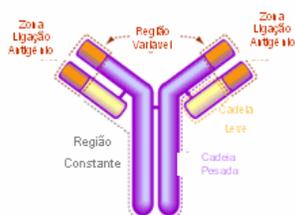
Anexo 4 Bioreceptores

4.1. Anticorpo-Antigénio

A reacção de ligação anticorpo-antigénio (Ag-Ab) é a base para a especificidade dos imunoenaios (ex: ELISA, FRET, quimioluminescentes).

Existe um enorme leque de potenciais aplicações para os imunossensores devido à complexidade dos anticorpos.

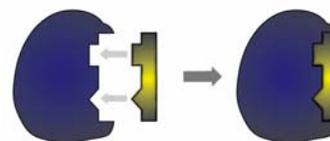
Figura 61 - Esquema do anticorpo IgG. (Adaptado de [8])



Os anticorpos (figura 61) são produzidos por células do sistema imunitário (Linfócitos B) quando estas são expostas a antigénios.

A forma segundo a qual se forma a ligação anticorpo-antigénio segue o modelo da chave-fechadura (figura 62), ou seja, o anticorpo e o antigénio são estruturalmente complementares.

Figura 62 - Modelo Chave-Fechadura (Adaptado de [8])



A capacidade de reconhecimento de estruturas moleculares permite o desenvolvimento de anticorpos que se ligam especificamente a biomoléculas químicas, microorganismos, entre outros. Pode então usar-se anticorpos como detectores específicos para identificar e encontrar um analito de interesse que esteja presente, mesmo em pequenas quantidades, numa matriz com outras substâncias químicas.

Outra propriedade de extrema importância é a força e afinidade das interações Ag-Ab. Estas podem ocorrer muito rapidamente e, uma vez formado o complexo Ag-Ab, existe um determinado tempo de vida.

Para ser produzida uma resposta imunitária a uma determinada molécula, são necessários, uma certa complexidade e tamanho moleculares.^[7]

Exemplos de utilização deste tipo de bioreceptor é o radioimunoensaio (RIA) e os vários tipos de imunoensaio clínico para o sangue.

Os imunoensaios enzimáticos podem aumentar a sensibilidade de detecção Ag-Ab por um processo de amplificação química. Segue-se mais informação sobre imunoensaios.

4.1.1. Imunoensaios

Os imunoensaios utilizam o reconhecimento anticorpo/antigénio que tem boa especificidade e potencial para elevada afinidade. A detecção de proteínas é o principal foco do desenvolvimento dos imunoensaios. Também substâncias de baixo peso molecular (drogas, hormonas, toxinas) podem ser convenientemente detectadas.

Existem três tipos de imunoensaios:

1. Captura do Ac
2. Captura do Ag
3. Ensaio com 2 Ac em sandwich

Os imunoensaios podem ser classificados como heterogéneos ou homogéneos, competitivos ou não-competitivos e directos ou indirectos. ^[12]

Segue-se uma breve descrição sobre alguns imunoensaios de interesse mais relevante.

4.1.1.1. Radioimunoensaio

O Radioimunoensaio (RIA) é um dos tipos de imunoensaio mais utilizados. É aplicado na farmacologia, na química clínica, na ciência forense e epidemiologia molecular.

Nesta imunoensaio prepara-se uma mistura de um antigénio radioactivo (^{125}I ou ^{131}I são os mais utilizados) e anticorpos para o antigénio. A imagem que se segue ilustra a o procedimento.

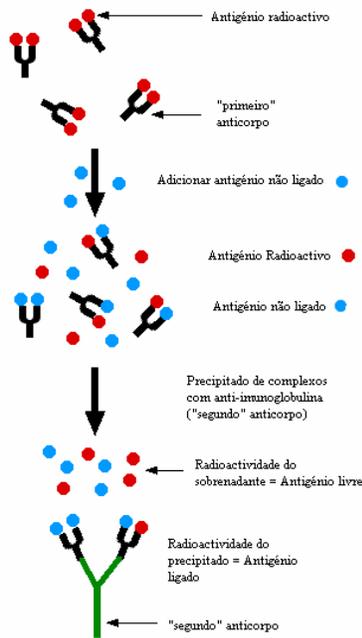


Figura 63 - Radioimunoensaio (RIA)

Depois de separados o sobrenadante e o precipitado, são medidas as radioactividades de cada um, sendo representadas graficamente (Figura 64).

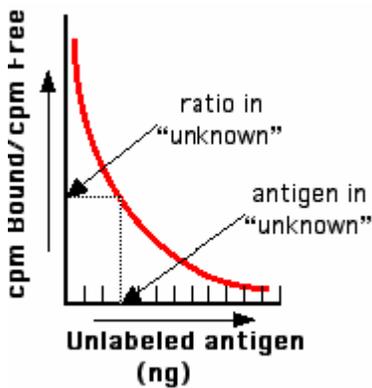


Figura 64 - Curva Obtida

As amostras a ser usadas no ensaio (desconhecidas) correm em paralelo.

Depois de determinar a velocidade de ligação de antígeno livre em cada incógnita, a concentração pode ser lidas directamente da curva standard.

O RIA é muito utilizado devido à sua enorme sensibilidade. Utilizando anticorpos de elevada afinidade ($K_0 = 10^8-10^{11} M^{-1}$), é possível detectar o antígeno com concentração na ordem do picograma. ($10^{-12} g$)

4.1.1.2. Imunoensaios Enzimáticos

Em todos os ensaios enzimáticos (EIA) o sinal detectado final é produzido pela actividade de uma enzima, enquanto que a especificidade é obtida pela interacção Ag-Ab; a adição de um substrato enzimático ao complexo imune final resulta na acumulação de um produto colorido. Existe uma grande amplificação de sinal devido à elevada capacidade das enzimas processarem moléculas.

São exemplos destes imunoensaios o ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), a utilização de Ab e moléculas quiméricas, ELIFA (Enzyme-Linked Immunofilter Assay) e outros ensaios envolvendo enzimas.^[7]

Tabela 25 - Imunoensaios Enzimáticos (Adaptado de [7])

Ensaio	Princípio	Comentários
<i>Heterogéneos de Fase Sólida</i>		
EIA directo (ELISA)	Enzima marcada com Ab reconhece Ag	Se for usado um sistema de captura Ab, a enzima marcada com o Ab deve reconhecer um epítipo Ag diferente e depois capturar o Ab; Pode ser um ensaio competitivo ou não-competitivo.
EIA “sandwich” indirecto (Complexo Imune) (ELISA)	O enzima Ab marcado com anti-IgG liga-se directamente ao local de reconhecimento Ab ou directamente a um anti IgG Ab não marcado que reconhece tanto Ag-específico Ab como o enzima marcado Ab. Ambas as conformações dos complexos imunitários, directa e indirecta, são utilizadas na técnica ELISA ELISA é efectuada com revestimento.	Número de enzimas multiplica-se pelas zonas epítopes no Ab IgG. O ensaio com revestimento é instantâneo, sem tempo de incubação. 5 min de incubação com o substrato.
Moléculas Ab Biospecíficas/Quiméricas	Abs construídos para ter especificidade dupla para Ag e	Ab bioespecífico construído para se ligar tanto a FITC (usado como

	<p>enzimas; ou Ab quimérico construído para reconhecer um hapteno (ligado covalentemente a um imunoreagente) e uma enzima; em ambos os casos a enzima é indirectamente ligada ao imunocomplexo, opondo-se à ligação directa, como o caso de enzimas covalentemente ligadas a Ab.</p> <p>Também:</p> <p>Fusão de proteínas quiméricas construídas apenas com uma região variável na cadeia simples; construção de imunoreagente bifuncional</p> <p>Construção de fusão de proteínas construídas entre proteína A e enzimas; À medida que o imunoreagente sandwich é formado, uma porção de proteína fundida liga-se à região Fc do Ab Ag-específico, formando um imunensaio enzimático.</p>	<p>marcador para Ag ou Ab) como à enzima repórter (HRP); um Ab híbrido actua como ponte entre o FITC marcado e a enzima;</p> <p>Ou:</p> <p>Ab bioespecífico construído de forma a reconhecer os Ag e HRP específicos; vantagem na ligação directa da enzima repórter e Ab específico.</p> <p>A construção de enzima-proteína A evita a natureza aleatória da marcação química do Ab com enzimas; uma vez que o Ab não está marcado há menos efeitos adversos na afinidade do Ab do que se o Ab estivesse directamente ligado.</p>
<p>ELISA-celular</p>	<p>Detectar moléculas na superfície celular, usando Ab Ag-específico e enzimas marcadas antiespécies Ab IgG</p>	<p>Normalmente aplicados a células em microwells; Limitações: Pode ser necessário usar enzimas diferentes se houver interferência da enzima celular endógena; se as células estão fixas, Ag da superfície podem ser destruídos; boa correlação com a</p>

		análise por citometria de fluxo.
ELIFA (Enzyme-Linked Immunofilter Assay)	Ag capturado na membrana detectado por Ab Ag-específico e complexo imune adicional; Antiespécies IgG Ab + Ab marcado com enzimas	Detecção de ~ 50 a 60 células bacteriais, usando ensaios quimioluminescentes ou colorimétricos; muito rápido (17 min.)
EIA	<p>Ag conjugado com uma enzima marcadora; o Ag livre na amostra compete com o Ag marcado para ligação com o Ab imobilizado.</p> <p>Fusão proteica entre proteína A e enzima; ligação a Ab Ag-específico resulta na fusão enzima-Ag imobilizando a proteína no complexo.</p> <p>Ou:</p> <p>Enzimas covalentemente ligadas a diferentes Ags hapteno; a incubação com Abs Ag-específicos e Ag livre em solução resulta em Ag marcados formando um imunocomplexo com Ab; Adição de um segundo Ab resulta na precipitação do complexo; depois da lavagem, a adição de substratos enzimáticos resulta em actividade óptica e sinal óptico proporcional à quantidade de Ag marcado ligado no complexo.</p>	<p>Ensaio heterogéneo, competitivo; não tão sensível como radioensaio.</p> <p>Ensaio competitivo, heterogéneo; Ag em solução compete com a proteína da fusão enzima-Ag para ligação ao Ab; amplificação deve-se à enzima</p> <p>Ensaio heterogéneo; Ag marcado compete com Ag livre para ligação à quantidade limitada de Ab; utilização de duas enzimas diferentes permite utilização de duas enzimas substrato diferentes cujos produtos podem ser distinguidos por propriedades ópticas.</p>
<i>Homogéneos em Solução</i>		
EMIT (Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique)	Ag livre compete com o Ag marcado para ligação ao Ab; A ligação do Ag marcado ao Ab resulta na inibição da actividade enzimática; quanto mais Ag na amostra, menos inibição	Ensaio competitivo; proporcionalidade directa entre a concentração de analito livre e actividade enzimática.

	enzimática existe e maior é o sinal resultante	
Enzyme Inhibitory Immunoassay	Ab liga-se a enzima (dextranase); a ligação do Ag ao Ab ligado a enzima resulta na inibição da capacidade da enzima se ligar ao substrato insolúvel; o substrato enzimático está em suspensão com todos os outros componentes; inibição da actividade enzimática produz menos produto.	Desenhado para permitir o ensaio de Ag de elevado peso molecular; Sinal inversamente proporcional à concentração de Ag no analito

4.1.1.3. Biotina e Procedimentos Avidina/Streptavidina

A biotina e a avidina/streptavidina formam um complexo. Devido à constante de associação extremamente elevada de biotina, avidina/streptavidina, são produzidos complexos estáveis com taxas de formação favoráveis.

O procedimento consiste no reconhecimento do Ag pelo Ab biotinado, ligando-se este último a uma enzima marcada com avidina/streptavidina.^[7]

4.1.1.4. Procedimentos de Acoplamento de Enzimas

As bases gerais destes procedimentos são semelhantes às referidas para os imunoenaios enzimáticos. Existe uma enzima ligada a imunoreagente havendo produção de um produto que é directamente detectado.

Estes procedimentos têm potencial para o aumento da amplificação, uma vez que as enzimas secundárias contribuem para a multiplicação total de moléculas responsáveis pelo sinal final.

São exemplos destes procedimentos a bioluminescência e as cascatas multienzimáticas.^[7]

Tabela 26 - Procedimentos de Acoplamento de Enzimas (Adaptado de [7])

Ensaio	Princípio	Comentários
--------	-----------	-------------

Cascatas Multi-enzimáticas	Produto de uma reacção enzimática torna-se substrato para outra enzima; a enzima produto pode ser reciclada várias vezes	Sinais enzimáticos amplificados; aumento da sensibilidade comparando com EIA convencional
Bioluminescência	Imunoensaios “sandwich” standard ajustados com uma enzima anexada ou ao Ab ou ao Ag (modo competitivo); forma-se luciferina livre	Pode ser um ensaio competitivo ou não-competitivo; ensaio com muitos passos, tornando-se ensaios mais longos

4.1.1.5. Imunoensaios de Fluorescência

Inerentemente, a fluorescência tem maior sensibilidade que a espectroscopia de absorção. Outras propriedades da fluorescência (polarização de fluorescência, tempos de vida de fluorescência) podem servir como base para detecção.

Existem dois modos para este tipo de imunoensaios:

1. Fluoróforos anexados ao imunoreagente (Ab ou Ag): aquando da formação do imunocomplexo, uma extensão da formação do mesmo pode ser quantificada por fluorescência;
2. É efectuado EIA, mas a enzima produz compostos fluorescentes a partir do substrato. [7]

Duas das técnicas mais importantes são a FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) e a Espectroscopia de Reflexão Total Interna.

Tabela 27 - Imunoensaios por Fluorescência (Adaptado de [7])

Ensaio	Princípio	Comentários
Fluoroimunoensaio directo (FIA)	Um Ab marcado com fluoróforo liga-se a um Ag imobilizado (Ag pode ser imobilizado por Ab capturado); o Ab imobilizado liga-se ao Ag livre ou marcado com fluorescência	Ensaio Heterogéneo; pode ser competitivo ou não competitivo; amplificação mínima; amplificação depende do número de fluoróforos ligado ou ao Ab ou ao Ag; requer que o Ag seja uma proteína ou um péptido maior; pequeno hapteno é conjugado

		com um fluoróforo, por definição não envolve amplificação; configuração do Ab imobilizado pode ser utilizada para ensaios competitivos nos quais o Ag marcado compete com o Ag livre no analito para ligação a um número limitado de zonas do Ab imobilizado.
Imunoensaio de Fluorescência	Avidina/Streptavidina marcada com fluoróforo liga-se a Ab biotinizado	Múltiplas zonas de biotina no Ab, múltiplos fluoróforos na avidina; ensaio heterogéneo
EIA por fluorescência	Um substrato fraco ou não fluorescente gera um produto fluorescente através de análise enzimática; mesmo ensaio imunitário que ELISA	Ensaio heterogéneo ; fluorescência com maior sensibilidade que absorção (colorimétrica)
Espectroscopia de Reflexão Total Interna com Detecção de Fluorescência	Reacção imunológica entre Ag e Ab monitorada na interface entre o guia de ondas óptico e a solução da amostra; resulta na detecção de eventos de ligação Ag-Ab que estejam muito perto da superfície onde ocorre reflexão interna.	Requer ajuste óptico elaborado; o Ab marcado com fluoróforo contribui para a fluorescência observada na interface guia de ondas/solução
FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer)	O fluoróforo doador/Ag conjugado (β -ficoeritrina/tiroxina) compete com o Ag livre na amostra para ligação ao Ab-fluoróforo aceitador conjugado (antitiroxina Ab/Cy-5); quando o Ag marcado se liga ao Ab marcado ocorre FRET; Esta transferência é detectada medindo alterações nos tempos de vida de fluorescência através de modulação de fase. Ou: Dois Abs marcados com fluoróforo resultam em diferentes epítomos no Ag analito; quando se forma o complexo	Ensaio homogéneo competitivo; particular de corantes escolhidos de modo a permitir a ocorrência de FRET mesmo a distâncias superiores à maioria dos pares doador-aceitador; elimina muitas fontes de interferência fluorescente; instrumentação bastante complexa; requer laser. Um Ab marcado com criptato de europium (III) liga-se ao Ag; segundo

	<p>imune, a excitação de um fluoróforo (doador) resulta na transferência de energia para o segundo fluoróforo (aceitador) devido à proximidade</p> <p>Ou:</p> <p>Ag marcado com um derivado quimioluminescente (isoluminol); ligação ao Ab marcado com fluoresceína permite condições para transferência de energia não-radiativa; adição de microperoxidase e H₂O₂ após formação do complexo resulta na emissão devida à reacção de quimioluminescência e transferência de energia para o Ab marcado, resultando na emissão de fluorescência pelo fluoróforo associado ao Ab, uma vez que as espécies doador/aceitador são desenhadas de modo a permitir FRET</p>	<p>Ab marcado com aloficocianina (aceitador) também se liga ao outro epítipo do Ag; excitação por laser do doador resulta em transferência de energia para o doador, se ambos estiverem ligados ao mesmo Ag</p> <p>Ensaio homogéneo, competitivo; amplificação deve-se a múltiplos fluoróforos no Ab; uma vez que ocorre tanto quimioluminescência como fluorescência a razão entre a intensidade da luz a dois comprimentos de onda é utilizada para avaliar a quantidade de energia transferida; ensaio aplicado a grande variedade de Ags; envolve aparato experimental complicado</p>
--	---	---

4.1.1.6. Procedimentos Quimioluminescentes

A quimioluminescência apresenta grande potencialidade para ser um procedimento extremamente sensível. Hoje em dia é a mais utilizada na instrumentação de IVD, principalmente em imunodiagnóstico.

Segue o mesmo conceito que o imunoenensaio por fluorescência. Um imunoreagente é marcado com um composto quimioluminescente ou uma enzima substrato é utilizada para produzir um produto quimioluminescente através de acção enzimática, sendo esta a modalidade mais utilizada. [7]

Tabela 28 - Procedimentos Quimioluminescentes (Adaptado de [7])

Ensaio	Princípio	Comentários
Imunoenensaio por	Captura de Ab usada para imobilizar Ag	Múltiplos marcadores

Quimioluminescência	<p>na superfície sólida por ensaio standard; Ab Ag-específico com marcador quimioluminescente liga-se ao imunocomplexo; depois de lavagem, adição de reagentes apropriados produz quimioluminescência.</p> <p>Ou:</p> <p>Ag marcado com derivado quimioluminescente (isoluminol); Ab Ag-específico imobilizado na superfície sólida; Ag não marcado na amostra compete com o Ag não marcado para ligação ao Ab; após ligação e lavagem, a adição de reagentes apropriados produz quimioluminescência.</p> <p>Ou:</p> <p>Marcador quimioluminescente quimicamente ligado ao Ag; adição de Ag livre na amostra promove ensaio competitivo; ligação do Ab ao Ag marcado com composto quimioluminescente melhora significativamente; Ag livre compete para zonas de ligação no Ab – quanto mais Ag na amostra, menos melhoria na quimioluminescência é observada.</p>	<p>quimioluminescentes por Ab produzem alguma amplificação, ensaio heterogéneo, não competitivo; teoricamente a sensibilidade deve aumentar com a actividade específica do marcador</p> <p>Ensaio heterogéneo competitivo; rendimento da luz inversamente proporcional à concentração do analito; taxa de produção de luz não é constante, portanto o instante de adição dos reagentes é muito importante; os materiais quimioluminescentes normalmente não estão presentes nas amostras biológicas</p> <p>Ensaio homogéneo, competitivo; concentração do Ab ajustada cuidadosamente</p>
Imunoensaio Quimioluminescente Enzimático (CLEIA)	<p>Imunoensaio efectuado da mesma forma que o EIA; marcação enzimática num dos imunoreagentes; actividade enzimática no substrato resulta num produto quimioluminescente; ou a acção da enzima no substrato gera um produto que reage com outros químicos (luminol) na mistura de reacção para produzir quimioluminescência.</p>	<p>Bastante mais sensível que o EIA colorimétrico ou que o radioimunoensaio; sinal luminoso mais forte e mais estável; pode ser usado um filme fotográfico como detector; tempo de ensaio muito curto;</p>

	<p>Ag (bacterial) imobilizado na membraba; adição de Ab conjugado com enzima seguida de adição do substrato e químico luminescente; quimioluminescência detectada.</p> <p>Seguida à electroforese, a análise por imunobloting nas membranas é levada a cabo utilizando imunoreagentes de forma standard; substrato quimioluminescente adicionado, quimioluminescência medida; a “sandwich” de imunoreagente pode ser modificada usando um Ab secundário biotinizado.</p>	<p>Luminescência detectada usando uma câmara CCD e um processador de imagem.</p> <p>Os substratos quimioluminescentes oferecem vantagens relativamente aos colorimétricos, incluindo melhor sensibilidade, menores tempos de incubação, fácil aquisição de imagem</p>
--	--	---

4.2. Ácidos Nucleicos/DNA

Os sensores de DNA são utilizados em ensaios de hibridação (ver figura 65).

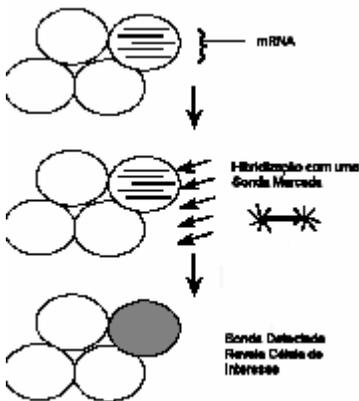


Figura 65 - Princípio da Hibridação.

A hibridação *in situ* permite visualizar onde está localizado ácido ribonucleíco mensageiro (mRNA) particular num tecido. A expressão *in situ* significa “no local”, portanto este método permite ver a localização normal do mRNA de interesse. Pode ver-se no diagrama que uma das quatro células num tecido está a transcrever o gene de interesse (a célula a cheio com linhas). Uma sonda de DNA é ligada a um enzima e ocorre o emparelhamento das bases de DNA e mRNA. Depois de uma série de lavagens apenas as sondas que estão emparelhadas correctamente se mantêm no tecido.

Um substrato incolor é incubado na sonda e o substrato é enzimaticamente convertido em produto colorido que é depois visualizado (pode usar-se fluorescência). As células que contêm o produto colorido indicam onde foi expresso o mRNA de interesse.

Uma característica importante é a escolha do corante que actua como transdutor de sinal. Grande parte das vezes usa-se Brometo de Etídio para detectar hibridação do DNA em aplicações como electroforese. Segue-se mais informação sobre electroforese.

4.2.1. Electroforese Capilar

A electroforese capilar é normalmente efectuada em capilares preenchidos com uma solução tampão aquosa. Cada extremidade do capilar está imersa num reservatório que contém o tampão, sendo aplicado um potencial de 10-30 kV aos eléctrodos de platina (Pt) em cada reservatório (ver figura 66). Na sua forma mais simples, a CZE (Electroforese Capilar de Zona) consiste na separação dos constituintes de uma amostra, com carga eléctrica diferente com base na velocidade de migração electroforética relativa.

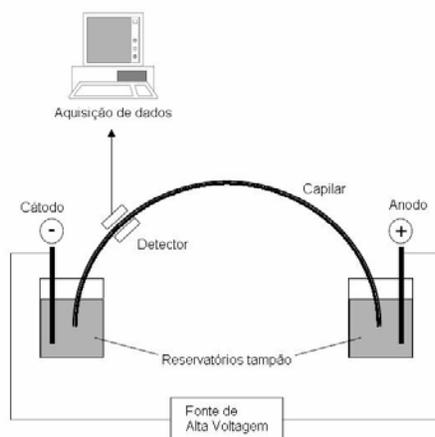


Figura 66 - Diagrama de um sistema de electroforese capilar (Adaptado de [5])

Existem outras técnicas relacionadas com a Electroforese Capilar, nomeadamente, electroforese em gel (SDS-PAGE para proteínas e PAGE para análise de DNA).

No entanto, a electroforese capilar é mais rápida do que a electroforese em gel, em parte porque podem ser aplicados campos de maior potencial devido a correntes electroforéticas reduzidas e aumento de dissipação de calor. [7]

Por razões práticas, um potencial positivo é normalmente aplicado no terminal de injeção do capilar, e o terminal oposto está a um potencial relativamente negativo (ver figura 67).

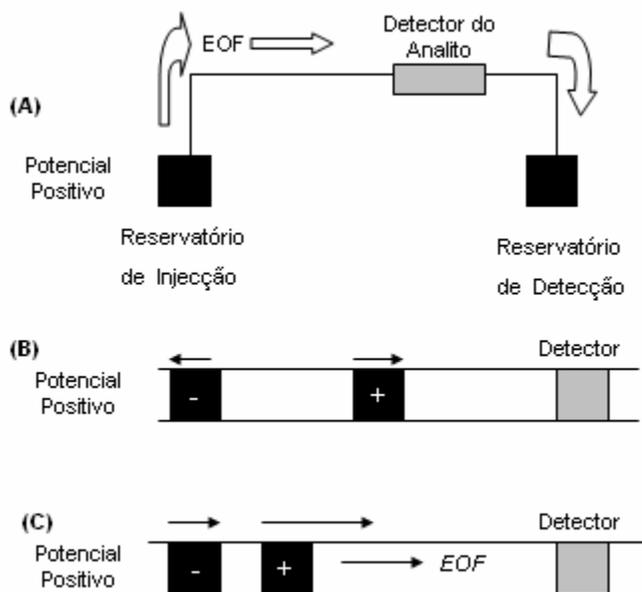


Figura 67 - (A) Instrumentação de Electroforese Capilar. Um potencial é aplicado através de eléctrodos de Pt (não é mostrado) nos reservatórios de injeção e detecção. (B) Migração de aniões e catiões na ausência de fluxo electroosmótico (EOF) (C) Migração de aniões e catiões na presença de EOF. (Adaptado de [7])

A velocidade de migração das espécies iónicas em solução pode ser descrita através da relação:

$$v_{ep} = u_{ep} E$$

Onde v_{ep} é a velocidade electroforética de um composto carregado, u_{ep} é a mobilidade electroforética e E a força do campo aplicado (V/cm). A mobilidade electroforética (u_{ep}) é definida como:

$$u_{ep} = \frac{q}{6\Pi\eta r}$$

Onde q é a carga do composto, η a viscosidade da solução e r o raio hidrodinâmico do composto. Na ausência de fluxo de fluido, apenas as espécies catiónicas podem ser separadas como descrito na figura 67 (A). As espécies aniónicas podem ser separadas revertendo-se a polaridade do potencial aplicado.^[7]

4.3. Estruturas Celulares

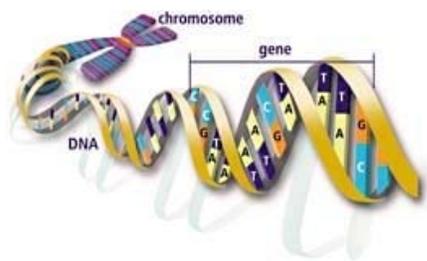
As estruturas celulares e as próprias células têm sido utilizadas no desenvolvimento de biosensores e *biochips*. Estes bioreceptores baseiam-se no bio-reconhecimento por uma célula ou microorganismo por um componente específico com capacidade de ligação específica a certas espécies.^[7]

4.4. Biomimétricos

Estes métodos incluem moléculas fabricadas por engenharia genética e moléculas sintéticas.^[7]

Em medicina molecular, um dos principais alvos de investigação são os genes, compostos por moléculas de DNA (figura 68) uma vez que alterações a este nível são responsáveis por muitas patologias.

As moléculas de DNA codificam a informação genética nos organismos vivos. São



compostas por quatro bases nucleotídicas: adenina (A), citosina (C), timina (T) e guanina (G). A sua estrutura é uma dupla hélice antiparalela.

Figura 68 - Molécula de DNA (Adaptado de [9])

Os genes são a unidade básica da hereditariedade nas células de todos os organismos vivos.^[7]

Um dos maiores desafios em genética humana é identificar e classificar sistematicamente polimorfismos genéticos e elucidar a sua contribuição na saúde e doença humanas.

A análise da sequência de DNA é importante, particularmente na compreensão da base genética das doenças. Existem várias alterações no DNA no genoma humano, desde SNPs, microsátélites, deleção ou inserção de um ou múltiplos pares de bases.

Tradicionalmente, a electroforese em gel tem sido muito utilizada como técnica analítica para estudar a variação genética. No entanto, são exigidas análises cada vez mais rápidas, em paralelo e com elevada resolução de múltiplos alvos e múltiplas amostras, usando ensaios de formato multiplex, isto é, usando duas ou mais tecnologias. Por exemplo, pode-se usar reagentes corantes fluorescentes com diferentes comprimentos de onda de emissão para discriminar compostos, podendo ser combinados numa única corrida analítica.

Existe uma grande variedade de metodologias e plataformas para detectar SNPs no DNA. A maior parte dos métodos são iniciados por amplificação.^[7]

A Amplificação de Ácidos Nucleicos consiste em utilizar técnicas de laboratório que envolvem a síntese *in vitro* de muitas cópias de DNA ou RNA de um modelo original. A técnica mais conhecida é a reacção em cadeia da polimerase (PCR), mas existem técnicas mais actuais e mais utilizadas actualmente, nomeadamente nos produtos do portfólio da Siemens Medical Diagnostics, como o bDNA, ou DNA ramificado.^[7]

A sequenciação de DNA consiste na determinação precisa da sequência de nucleótidos numa amostra de DNA. Permite revelar factos relativamente à estrutura e regulação dos genes, à organização do genoma, assim como descobrir genes.

Um factor importante a ter em conta quando se escolhe uma tecnologia para sequenciação é que apenas pequenas secções (1000 a 2000 bp) de DNA podem ser sequenciadas. O processo actual de geração de DNAs requer um determinado número de passos envolvendo a clonagem e a purificação seguidos de sequenciação e agregação dos fragmentos em regiões contíguas do cromossoma alvo.

Os protocolos de detecção por fluorescência são usados para detectar as bases. Nestes protocolos, um dos passos importantes é o de fraccionamento, no qual as moléculas de DNA são separadas por tamanho através de electroforese em gel.^[7]

Seguem-se mais informações sobre amplificação, sequenciação e análise de ácidos nucleicos.

4.4.1. Amplificação de Ácidos Nucleicos

4.4.1.1. PCR

O DNA alvo é exponencialmente amplificado usando uma polimerase termoestável para copiar pedaços complementares de DNA usando um primer para cada pedaço. O RNA pode entrar no ciclo PCR através da reacção inicial com a transcriptase reversa; podem ser utilizadas várias estratégias para incorporar um marcador ou outros compostos aos quais o marcador se possa ligar durante o decorrer do PCR. [7]

A figura 69 ilustra a estratégia nesta técnica.

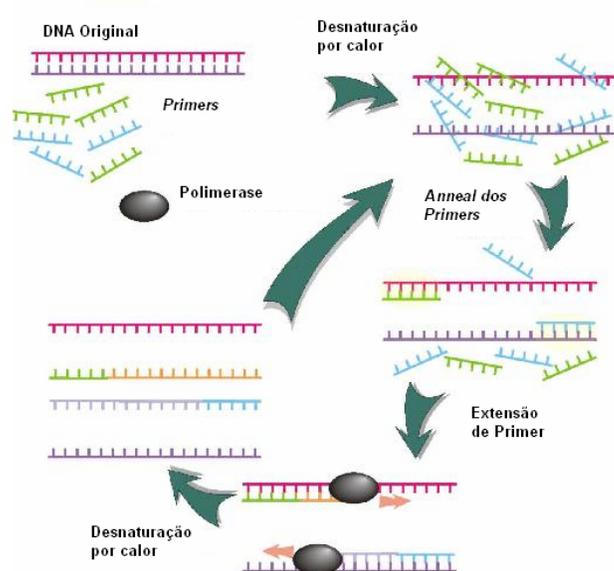


Figura 69 - Passos envolvidos na PCR. (Adaptado de [13])

Na tabela 29 encontram-se resumidos os princípios de ensaios de amplificação baseados em PCR.

Tabela 29 - Amplificação de ácidos nucleicos baseada em PCR (Adaptado de [7])

Ensaio	Princípios	Comentários
Polymerase Chain	Dois primers são usadas num processo interactivo para amplificar um segmento	PCR foi levado a cabo inicialmente com um fragmento do DNA-polimerase de

<p>Reaction (PCR)</p>	<p>específico de DNA; o primeiro DNA alvo é desnaturado por calor, seguido pela hibridização de ambos os primers; otimização da temperatura por DNA-polimerase termoestável ; são repetidos os passos de desnaturação, annealing e extensão de primer; na presença de primers em excesso, após alguns ciclos, cópias da região de interesse na sequência alvo começam a dominar o produto formado; cada ciclo resulta na duplicação da sequência de DNA alvo; pode ser aplicado também para amplificar o RNA se este for transcrito em cDNA por transcriptase reversa</p>	<p><i>e.coli</i>; instabilidade térmica requer adição de nova enzima a cada passo de desnaturação; a utilização de uma enzima termoestável é necessária e universal; produto de PCR pode ser visualizado por manchas de ethidium bromide no gel de agarose; eficiência da reacção pode variar dependendo da concentração da polimerase, primers, Mg²⁺, etc; devido à natureza exponencial do PCR, pequenas alterações na eficiência podem ter grandes efeitos na quantidade final de produto; existe possibilidade também de detecção por fluorescência, por cromatografia líquida, por colorimetria e por FRET</p>
<p>PCR- Transcriptase Reversa (RT-PCR)</p>	<p>Para amplificação de espécies de RNA; o RNA é reversamente transcrito, havendo formação de de uma copia de DNA (cDNA) do RNA; então o PCR pode ocorrer utilizando dois primers como o PCR convencional; durante o primeiro ciclo, um primer liga-se ao cDNA sendo formado um fragmento de cDNA; durante o segundo ciclo outro primer liga-se ao novo fragmento; eventualmente pode ocorrer amplificação exponencial.</p>	<p>Amplificação de RNA por PCR</p>
<p>Taq Man</p>	<p>PCR efectuado de forma usual, mas é tirada vantagem da exonuclease 5'→3' da <i>Taq</i> DNA polimerase; uma sonda oligonucleotídica marcada na terminação 5' com um quencher e na 3' com um fluoróforo é colocada no início do PCR; são aumentados os ciclos de PCR, aumentando a fluorescência.</p>	<p>Amplificação por PCR; é possível detecção numa solução homogénea sem passo de separação; o quencher e o fluoróforo têm que estar próximos o suficiente para para que haja uma transferência de energia eficiente.</p>

4.4.1.2. Hibridação

A hibridação é um método de mapeamento de sondas de ácidos nucleicos.

Uma sonda com um marcador ou com potencialidade de ser marcada é hibridada, e o complexo híbrido é detectado; alternativamente a sonda pode ser amplificada por processos de PCR, como foi focado no tópico anterior. A hibridação é comumente aplicada a membranas, secções de tecido e microarrays, como já tinha sido referido.

Uma técnica muito utilizada é a Hibridação por Fluorescência *in situ* (FISH).^[7]

Outras técnicas estão resumidas na tabela 30.

Tabela 30 – Hibridação (Adaptado de [7])

Ensaio	Princípios	Comentários
Hibridação por fluorescência <i>in situ</i> (FISH)	Sonda de DNA marcada com hapteno hibrida o DNA alvo; o Ab antihapteno marcado com peroxidase ou streptavidina marcada com peroxidase são ligados ao complexo DNA/sonda DNAM adição de biotina tiramida ou fluoróforo tiramida resulta na deposição do fluoróforo ou da biotina na zona de acção da peroxidase; no caso da deposição da biotina, adição de streptavidina marcada com fluoróforo completa a detecção “sandwich”.	Maior intensidade de sinal; maior amplificação devido à actividade enzimática
Hibridação <i>in situ</i> (Colorimetria)	É adicionado substrato colorimétrico para a peroxidase para a detecção final	Amplificação por actividade enzimática

4.4.1.3. DNA Ramificado (bDNA)

A medição do RNA viral plasmático é efectuada mediante DNA ramificado (bDNA). Este método oferece a vantagem de ser baseado na amplificação do sinal e não do alvo, como as metodologias que utilizam a PCR (polimerase chain reaction) e portanto, de ser menos sensível ao problema da contaminação. Actualmente o sistema bDNA parece ser aquele que dá maior cobertura em relação aos vários sub-tipos de HIV existentes. Além disso a bDNA não se ressentir dos erros típicos dos procedimentos de PCR (amplificação

de RNA contaminantes, mutações induzidas pela polimerase). Isso leva a poder reduzir o nível de esterilidade necessário para a execução da análise.

As desvantagens do método são o custo muito elevado do kit, juntamente com o facto que não se pode processar uma só amostra (para otimizar o uso do kit é necessário processar muitas amostras contemporaneamente, atrasando assim a resposta para o médico). Além disso, a técnica da bDNA é influenciada pela instabilidade dos reagentes, nomeadamente dos RNA de controlo que servem para determinar a curva standard da qual se extrai a carga viral das amostras em exame. ^[14]

Tabela 31 - Tecnologia de DNA Ramificado (bDNA) (Adaptado de [7])

Ensaio	Princípios	Comentários
Amplificação Branched DNA	<p>(a) DNA alvo imobilizado em superfície sólida por séries de oligonucleotídeos complementares a outros segmentos de DNA alvo; outros oligonucleotídeos (LE – label extenders) complementares a outros segmentos de DNA alvo são hibridados, os LE também se ligam a um segmento de bDNA ao qual se ligam muitas moléculas de alcalinofosfatase</p> <p>(b) sondas LE ligam-se a sondas oligonucleotídicas pré-amplificadoras, que posteriormente se ligam a segmentos amplificadores; incorporação de bases não-naturais nas moléculas amplificadoras podem reduzir hibridização não-específica, melhorando a sensibilidade; o passo final de detecção envolve a adição de substrato quimioluminescente e detecção de luminescência; a tecnologia bDNA amplifica o sinal repórter, não o alvo.</p>	O sinal de amplificação é linear, portanto o sinal está directamente relacionado com o número de moléculas alvo presentes na amostra original;

		<p>Detecção e quantificação de mRNA directamente das células; CE (capture extenders) e LE com cerca de 30 bases e entre elas a cobertura completa da sequência de DNA; os amplificadores de bDNA têm 15 ramos cada um, cada um marcado com alcalinofosfatase; maior amplificação; superfície sólida tem DNA sintético para hibridizar para CE</p>
--	--	---

4.4.2. Sequenciação de Ácidos Nucleícos

Existem dois métodos de sequenciação com utilização mais comum:

- Sequenciação de Maxam-Gilbert: Utiliza clivagem química para quebrar as moléculas de ssDNA (*Single-stranded DNA*), seguida de um passo de fraccionamento. É efectuada depois a electroforese em gel, sendo a sequenciação deduzida do padrão gerado.
- Método da terminação em cadeia de Sanger: É um método enzimático que envolve a construção de um DNA complementar para modelar aquele cuja sequência está por determinar.

4.4.3. Detecção de Ácidos Nucleícos

4.4.3.1. Autorradiográfica

Após a electroforese das bandas de DNA, estas têm que ser detectadas e analisadas. Um dos primeiros métodos implementados para detectar bandas de DNA em gel foi a autoradiografia. Um dos fosfatos do nucleótido é substituído por um radioisótopo, normalmente ^{32}P ou ^{35}S , ambos emissores β . Quando são usados métodos de Sanger para preparar a reacção de sequenciação, tanto o *primer* como o desoxinucleótido pode ter o radiomarcador. A marcação é feita usando uma enzima que cataliza a transferência de um grupo γ -fosfato do ATP para o terminal 5' de um primer de sequenciação. Depois da corrida electroforética, o gel é seco e colocado num filme de raios-X que é posteriormente revelado, sendo as bandas escuras a zona do filme onde se verifica existência de DNA. A sequência é então lida manualmente a partir do gel.^[7]

4.4.3.2. Detecção por Fluorescência

Na maior parte das aplicações da sequenciação de DNA a fluorescência é o protocolo de detecção mais aceite pois torna o processo mais automatizado e elimina alguma necessidade de manuseamento.

Anexo 5 Questionário para Caracterização do Laboratório

SIEMENS
medical



Diagnóstico in vitro

Local:	Data:
---------------	--------------

I. Caracterização do Laboratório

1. Quais as áreas do laboratório?

--

2. O laboratório trabalha com:

Apenas com tubo primário

Alíquotas

2.1. Caso tenha respondido alíquotas, preencha o seguinte quadro.

Que sectores usam alíquotas?	Quantas alíquotas por tubo?

2.2. Vê vantagens em reduzir o número de alíquotas, utilizando mais o tubo primário, mantendo o tempo de resposta do laboratório?

Sim Não

Observações:

II. Recursos Humanos

1. Caracterize os recursos humanos que trabalham no laboratório, recorrendo ao preenchimento do quadro seguinte:

	Nº de pessoas	Sector em que trabalha	Formação de base	Funções	Pode exercer outras funções? Se sim, quais?	Nº horas de trabalho/semana
Especialistas						
Técnicos Superiores						

Técnicos						
Auxiliares						
Administrativos						
Especialidade do Director Técnico:						

III. Recursos Físicos

1. Que/Quantas salas fazem parte do serviço? Indique, em cada caso, a lotação.

Lotação

Recepção

Sala de Espera

- | | | |
|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | Sala de Colheita | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | Gabinete técnico | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | Laboratório | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | Sala de recepção
de urgências | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | Laboratório de
urgências | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | Sala de recepção
de amostras | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | Armazém | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | WC | <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> | Outras | |

Quais?

Observações:

2. Preencha o seguinte quadro.

Salas	Distância (unidades:)
Recepção → Sala de espera	
Recepção → Sala de Colheita	
Recepção → Laboratório/Sector1	
Recepção → Sector2	
Recepção → Sector3	
Recepção → Gabinete Técnico	
Sala de espera → Sala de Colheita	
Sala de espera → Laboratório/Sector1	
Sala de espera → Sector2	
Sala de espera → Sector3	
Sala de Espera → Gabinete Técnico	
Sala de colheita → Laboratório/Sector1	
Sala de colheita → Sector2	
Sala de colheita → Sector3	
Sala de colheita → Sector4	
Laboratório/Sector1 → Sector2	
Sector2 → Sector3	
Sector3 → Sector4	
Laboratório/Sector1 → Gabinete técnico	
Sector2 → Gabinete técnico	
Sector3 → Gabinete técnico	
Sector4 → Gabinete técnico	

3. Que equipamentos existem no laboratório?

4. Existem equipamentos de automação/integração no laboratório?

Sim

Não

4.1. Se respondeu sim, em que sectores e em que fase do processo? (risque o que não interessa)

Sector	Fase
	Pré-Analítica/Analítica
	Pré-Analítica/Analítica
	Pré-Analítica/Analítica
	Pré-Analítica/Analítica

Observações:

IV. Modelo Organizacional

1. O sistema informático utilizado satisfaz as necessidades do laboratório?

Sim

Não

2. Os exames necessitam de marcação?

Sim

Não

2.1. Se sim, como são marcados os exames?

Presencialmente

Por telefone

Por internet

Outras

Quais?

.

3. O Laboratório efectua colheitas?

Sim

Não

3.1. Se efectua colheitas, qual é o horário?

Manhã (8h-14h)

Tarde (14h-20h)

Todo o dia (8h – 20h)

Funcionamento 24h

Outro

Qual?

.

3.2. Quanto tempo demora, em média, uma colheita?

3-5 minutos

10-15 minutos

15-20 minutos

20-30 minutos

Mais que 30 minutos

3.3. Que variáveis são susceptíveis de condicionar/alterar significativamente o tempo da colheita?

Recursos humanos limitados

Experiência dos recursos humanos

Nervosismo do utente

Veias difíceis

Utentes crianças

Outro

Qual?

4. O laboratório faz urgência?

Sim

Não

4.1. Se respondeu sim, qual o protocolo a seguir para as urgências?

V. Sectores

Caso os sectores tenham funcionamento idêntico, responda apenas ao primeiro item. Se o funcionamento dos sectores for diferente preencha os respeitantes a cada sector.

1. Qual o tempo de inicialização, em média, dos equipamentos?

Equipamento	Hora de inicialização	Hora que está pronto para receber amostras

2. Qual a periodicidade, em média, com que se efectua a calibração dos equipamentos?

- Diariamente
- Semanalmente
- Mensalmente
- Anualmente
- Outra Qual? .

3. Qual a periodicidade, em média, com que se faz controlo de qualidade?

- Mensalmente
- Semanalmente
- 1 vez por dia

- 2 vezes por dia
- 3 vezes por dia
- Mais de 3 vezes por dia

3.1. Quais os níveis de controlo de qualidade utilizados?

Dia/Hora do CQ	Nível de controlo utilizado

4. Quantas amostras são recebidas por dia?

- Entre 1 e 50.
- Entre 51 e 100.
- Entre 101 e 200.
- Entre 201 e 300.
- Entre 300 e 500.
- Entre 500 e 700.
- Entre 700 e 1000.
- Mais de 1000.

Observações:

4.1. Relativamente às amostras recepcionadas diariamente, preencha o quadro seguinte:

Proveniência	Num. de amostras	Hora de chegada	Chegam centrifugadas?	Usam códigos de barras?	Tubo primário?	Tipo de tubo	Tipo de requisição

4.2. Quantas amostras são processadas por dia?

- Entre 1 e 50.
- Entre 51 e 100.
- Entre 101 e 200.
- Entre 201 e 300.
- Entre 300 e 500.

Entre 500 e 700.

Entre 700 e 1000.

Mais de 1000.

4.3. Qual o trajecto do tubo da amostra a partir do momento que entra no sector?

5. Todos os testes são realizados diariamente?

Sim

Não

5.1. Se respondeu não, que tipo de testes não são realizados todos os dias?

5.2. Porquê?

5.3. Qual o procedimento a seguir quando não se conseguem analisar todas as amostras no dia?

6. Quais as principais necessidades e limitações do laboratório?

Anexo 6 Tempos Recolhidos no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Público

6.1. Dados Recolhidos na Zona de Colheitas

Hora de Chegada do Paciente	Hora de Admissão do Paciente	Hora de Chamada do Paciente	Hora de Entrada na Sala de Colheita	Hora de Saída da Sala de Colheita	Hora que sai do serviço
9:00:14	9:10:51	9:25:57	9:26:15	9:29:00	9:33:06
9:03:00	9:14:38	9:31:45	9:32:00	9:35:09	9:40:22
9:10:49	9:16:00	9:35:59	9:36:00	9:40:40	9:42:02
9:14:32	9:20:11	9:38:54	9:39:01	9:42:13	9:45:00
9:15:00	9:27:46	9:49:53	9:50:01	9:57:58	9:59:51
9:20:55	9:32:25	9:51:44	9:51:50	9:56:31	9:59:49
9:25:02	9:37:44	9:53:58	9:54:00	9:58:07	10:01:55
9:35:17	9:45:02	9:59:59	10:00:03	10:05:49	10:07:59

Tempo de Espera antes da Colheita	Tempo de espera desde q é chamado até entrar na sala de colheita	Tempo da Colheita	Tempo Total
0:15:06	0:00:18	0:02:45	0:32:52
0:17:07	0:00:15	0:03:09	0:37:22
0:19:59	0:00:01	0:04:40	0:31:13
0:18:43	0:00:07	0:03:12	0:30:28
0:22:07	0:00:08	0:07:57	0:44:51
0:19:19	0:00:06	0:04:41	0:38:54
0:16:14	0:00:02	0:04:07	0:36:53
0:14:57	0:00:04	0:05:46	0:32:42
0:17:56	0:00:08	0:04:32	0:35:39

*Os tempos assinalados a vermelho são superiores à média

6.2. Dados Recolhidos na Área de Imunologia

Hora de Colheita	Hora de Recepção	Hora entrada na S. pré-analítica	Hora início pré-analítica	Hora fim pré-analítica	Hora de entrada no sistema (ADVIA)	Hora de saída do sistema (ADVIA)	Hora Emissão Relatório	Hora de entrada do relatório na recepção
	9:15:22	9:25:47	9:30:58	11:30:15	11:35:35	12:05:08		
	11:43:40	11:56:00	11:58:15	12:30:48	12:34:09	13:00:59		
	13:00:05	13:17:00	13:29:23	14:00:02	14:02:49	14:40:17		

Amostra	Tempo de introdução dados	Tempo de Espera	Tempo de pré-analítica	Tempo de análise	Tempo total
1	0:10:25	0:05:11	1:59:17	0:29:33	2:49:46
2	0:12:20	0:02:15	0:32:33	0:26:50	1:17:19
3	0:16:55	0:12:23	0:30:39	0:37:28	1:40:12
Média	0:13:13	0:06:36	1:00:50	0:31:17	1:55:46

*Os tempos assinalados a vermelho são superiores à média

Anexo 7 Tempos Recolhidos no Serviço de Análises Clínicas da Clínica Privada

7.1. Dados Recolhidos na Zona de Colheitas

Hora que utente é atendido na receção	Hora de Admissão do Utente	Hora de Chamada do Utente	Hora de Entrada na Sala de Colheita	Hora de Saída da Sala de Colheita
9:00:14	9:04:53	9:14:05	9:14:05	9:17:00
9:01:00	9:05:30	9:15:59	9:15:59	9:18:09
9:05:49	9:10:00	9:20:21	9:20:21	9:23:40
9:07:32	9:13:11	9:22:12	9:22:12	9:25:13
9:08:00	9:13:46	9:20:33	9:20:33	9:25:58
9:09:55	9:15:25	9:24:44	9:24:44	9:28:31
9:10:02	9:15:44	9:25:58	9:25:58	9:28:07
9:13:17	9:16:02	9:25:59	9:25:59	9:28:49
9:14:34	9:20:00	9:30:05	9:30:05	9:33:24
9:19:48	9:23:01	9:33:00	9:33:00	9:36:44
9:20:30	9:24:16	9:33:54	9:33:54	9:37:00
9:22:02	9:27:17	9:36:56	9:36:56	9:39:39
9:26:00	9:31:50	9:42:04	9:42:04	9:45:00
9:28:10	9:34:30	9:44:32	9:44:32	9:47:23
9:29:50	9:35:23	9:45:33	9:45:33	9:49:00
9:30:49	9:35:50	9:46:33	9:46:33	9:49:50

Tempo de Admissão	Tempo de Espera antes da Colheita	Tempo da Colheita	Tempo Total
0:04:39	0:09:12	0:02:55	0:16:46
0:04:30	0:10:29	0:02:10	0:17:09
0:04:11	0:10:21	0:03:19	0:17:51
0:05:39	0:09:01	0:03:01	0:17:41
0:05:46	0:06:47	0:05:25	0:17:58
0:05:30	0:09:19	0:03:47	0:18:36
0:05:42	0:10:14	0:02:09	0:18:05
0:02:45	0:09:57	0:02:50	0:15:32
0:05:26	0:10:05	0:03:19	0:18:50
0:03:13	0:09:59	0:03:44	0:16:56
0:03:46	0:09:38	0:03:06	0:16:30
0:05:15	0:09:39	0:02:43	0:17:37
0:05:50	0:10:14	0:02:56	0:19:00
0:06:20	0:10:02	0:02:51	0:19:13
0:05:33	0:10:10	0:03:27	0:19:10
0:05:01	0:10:43	0:03:17	0:19:01
0:04:50	0:09:25	0:03:12	0:17:27

*Os tempos assinalados a vermelho são superiores à média

7.2. Dados Recolhidos na Área de Separação

nº de amostras no tabuleiro	Hora início dar entrada	Hora fim dar entrada	Hora início descapsulação	Hora fim descapsulação
81	11:05:00	11:13:22	11:30:31	11:34:02
80	11:40:33	11:47:13	12:00:00	12:03:29
86	12:12:37	12:20:11	12:40:58	12:44:01
81	12:50:00	12:56:04	14:02:34	14:04:03
70	14:13:32	14:18:59	14:20:45	14:22:52

Tempo dar entrada	nº tubos a dar entrada por minuto	Tempo descapsulação	nº tubos descapsulados por minuto
0:08:22	0,10	0:03:31	0,04
0:06:40	0,08	0:03:29	0,04
0:07:34	0,09	0:03:03	0,04
0:06:04	0,07	0:01:29	0,02
0:05:27	0,08	0:02:07	0,03
0:06:49	0,09	0:03:21	0,03

*Os tempos assinalados a vermelho são superiores à média