



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Carolina Monteiro Costa

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Diagnóstico *point-of-care* de marcadores cardíacos: o caso da troponina I” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Ana Martins Rico, do Dr. João Paulo Teixeira de Matos, da Dra. Raquel Cardoso e do Professor Doutor António Jorge Jesus, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

**Ana Carolina Monteiro Costa**

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Diagnóstico *point-of-care* de marcadores cardíacos: o caso da troponina I” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Ana Martins Rico, do Dr. João Paulo Teixeira de Matos, da Dra. Raquel Cardoso e do Professor Doutor António Jorge Jesus, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Eu, Ana Carolina Monteiro Costa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015247727, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Diagnóstico *point-of-care* de marcadores cardíacos: o caso da troponina” apresentadas à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 1 de Setembro de 2020

Ana Carolina Monteiro Costa

(Ana Carolina Monteiro Costa)

## Agradecimentos

Chega ao fim uma das etapas mais importantes da minha vida, e como tal não poderia terminar sem expressar os meus sinceros agradecimentos àqueles que fizeram parte desta jornada e que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional, provando que valeu a pena a etapa que agora termina. Assim, pelo contributo de várias pessoas sem as quais não seria possível esta concretização, tenho de agradecer:

Aos meus pais, por tudo! Por todo o amor incondicional e por estarem sempre presentes. Por me terem proporcionado todas as bases para ser o ser humano com princípios do qual me orgulho. Agradeço-vos por tudo! Pelo vosso sacrifício, o meu maior obrigado!

À minha irmã, por acreditar em mim, por me fazer sempre rir e ser feliz em todos os momentos. Por ser a minha alma gémea.

Amo-vos!

Ao meu namorado, por toda a paciência e companheirismo,  
Pelo carinho e conforto,  
Pelo amor!

A tua ajuda e apoio foram muito importantes para mim.  
Obrigada por estares sempre presente.  
Obrigada por me fazeres feliz!

Aos meus amigos, por me acompanharem neste percurso, ajudando-me sempre que precisei. A todos que, de 2015 a 2020, se cruzaram comigo e tornaram estes cinco anos da minha vida tão gratificantes e recompensadores.

À Dra. Ana Rico e a toda a equipa da Farmácia Central pela oportunidade de uma aprendizagem tão genuína e dedicada. Tive a sorte de ganhar uma família durante 3 meses.

A toda a equipa da Farmácia Parente por me receberem de braços abertos, em particular à Dra. Raquel que me passou todos os ensinamentos com todo o carinho. Não é possível quantificar o quanto aprendi com estas equipas fantásticas.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e corpo docente, em particular ao Professor Doutor António Jorge Jesus por toda o empenho e ajuda prestada.

A todos vós, e a Coimbra,

Um bem-haja

# Índice

## **CAPÍTULO I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	5
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	6
<b>2. Análise SWOT</b> .....	8
<b>2.1. Farmácia Central - Coimbra</b> .....	8
<b>2.1.1 Pontos Fortes</b> .....	8
<b>2.1.2 Pontos Fracos</b> .....	11
<b>2.1.3 Oportunidades</b> .....	12
<b>2.1.4 Ameaças</b> .....	14
<b>2.1.5 Caso Prático</b> .....	15
<b>2.2. Farmácia Parente - Lamego</b> .....	16
<b>2.2.1 Pontos Fortes</b> .....	16
<b>2.2.2 Pontos Fracos</b> .....	18
<b>2.2.3 Oportunidades</b> .....	19
<b>2.2.4 Ameaças</b> .....	20
<b>2.2.5 Caso Prático</b> .....	21
<b>3. Considerações Finais</b> .....	22
<b>CAPITULO 2 - Diagnóstico <i>point-of-care</i> de marcadores cardíacos: o caso da troponina I</b>	
<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	24
<b>Resumo</b> .....	25
<b>Abstract</b> .....	26
<b>1. Introdução</b> .....	27
<b>2. Troponina I</b> .....	27
2.1. Importância clínica enquanto biomarcador cardíaco.....	27
2.2. Libertação da troponina.....	29
2.3. Detecção.....	30
<b>3. <i>Point-of-care</i> no diagnóstico precoce da lesão cardíaca</b> .....	32
3.1. Relevância das plataformas <i>point-of-care</i> .....	32
3.2. Características dos dispositivos POCT para medição da troponina cardíaca I.....	33
<b>4. Integração dos biossensores nas plataformas POC</b> .....	38
4.1. Tipos de biossensores usados na detecção de troponina I.....	38
4.2. Incorporação de nanomateriais.....	40
4.3. Avaliando as técnicas de detecção de cTnI.....	42
<b>5. Conclusão</b> .....	44
<b>Bibliografia</b> .....	45

# **CAPÍTULO I**

## **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

### **Farmácia Central - Coimbra**

Dra. Ana Maria Martins Rico

### **Farmácia Parente - Lamego**

Dr. João Paulo Teixeira de Matos

Dra. Raquel Monteiro Cardoso

*“A principal responsabilidade do farmacêutico é para a saúde e o bem-estar do doente e do cidadão em geral, promovendo o direito a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança.”*

In Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária - Ordem dos Farmacêuticos

## **Lista de Abreviaturas**

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos não sujeitos a receita médica

MSRM – Medicamentos sujeitos a receita médica

PVP – Preço de Venda ao Público

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

# INTRODUÇÃO

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) engloba duas fases fundamentais para a nossa formação: a primeira de aprendizagem e consolidação de conhecimentos, onde estes nos são transmitidos com elevada especificidade e diversidade; e a segunda, a aplicação e aprimoramento destes na realização do estágio curricular.

Neste sentido, o culminar deste ciclo de estudos consiste na realização de um estágio curricular que, no meu caso, apenas se focou em Farmácia Comunitária por ser a minha principal área de interesse para o meu percurso como farmacêutica.

A Farmácia Comunitária é muitas das vezes o primeiro local ao qual o doente recorre quando necessita de cuidados de saúde, dada à facilidade de acesso alicerçada à confiança depositada nos seus profissionais de saúde. Desta forma, o farmacêutico como profissional de saúde especialista no medicamento, agente de promoção de saúde pública, do bem-estar geral da população presta serviços diferenciados exerce diversas atividades focadas no doente, sendo considerado um profissional pluridisciplinar.

O estágio curricular é o momento pelo qual todos esperamos, pois é o mais próximo que temos à nossa futura realidade no exercício da profissão farmacêutica e, desta forma, torna-se o momento ideal para consolidar e aplicar os conhecimentos adquiridos durante toda a formação académica, perceber e identificar as nossas falhas e aprender novas competências tanto técnicas como pessoais, que são essências para nos tornarmos bons profissionais de saúde.

Pensei que a possibilidade de realizar estágio em farmácia comunitária num período compreendido entre os cinco/seis meses me permitiria vivenciar diversas situações que certamente me diferenciariam no futuro. Infelizmente, algo maior apareceu e fez com que o meu estágio fosse suspenso. Entrámos em estado de emergência nacional devido à “Pandemia Covid-19”, algo que será recordado nos próximos anos, e também aqui percebi a grande importância da nossa profissão: nós, farmacêuticos, mesmo que o mundo colapse estaremos na linha da frente para que nada falte as pessoas e para lhes assegurar o acesso à saúde. Terminado o estado de emergência e devido à minha situação particular propus-me a transferência de estágio, que foi compreensivelmente aceite. Desta forma, tive oportunidade de contactar com duas realidades distintas e de pôr à prova a minha capacidade de adaptação.

Primeiramente, realizei um estágio na Farmácia Central de Coimbra, uma farmácia com mais de 200 anos de história localizada numa das ruas mais movimentadas da cidade, de janeiro



a março de 2020, sob a orientação da Dra. Ana Rico e acompanhada de uma equipa técnica fantástica. Continuei o estágio na Farmácia Parente, em Lamego, sob orientação extraordinária do Dr. João Paulo Teixeira de Matos e da Dra. Raquel Cardoso, também acompanhados de uma equipa técnica incrível, e aqui senti o verdadeiro sabor de voltar a casa. No término do estágio, senti-me privilegiada por ter experienciado estas duas realidades.

Este presente relatório pretende a descrição e avaliação do estágio de forma crítica através da análise SWOT, onde faço uma análise dos pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) do meu estágio, destacando os pontos fortes e os pontos fracos relativamente ao ambiente interno e as oportunidades e ameaças perante o ambiente externo.

## 2. Análise SWOT

### 2.1. Farmácia Central - Coimbra

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"><li>- Localização;</li><li>- Competência e afabilidade da equipa;</li><li>- Cooperação entre estagiários;</li><li>- Horário flexível;</li><li>- Armazenamento por grupo farmacológico;</li><li>- Planificação do estágio;</li><li>- Autonomia;</li><li>- Prestação de serviços farmacêuticos;</li><li>- Inserção num grupo de farmácias;</li><li>- Saúde Animal;</li><li>- Programa Sifarma 2000®.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Número de estagiários;</li><li>- Preparação de Manipulados;</li><li>- Dermocosmética;</li><li>- Nomes comerciais.</li></ul>
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"><li>- Contacto com diversidade de utentes;</li><li>- Contacto com Diversas Realidades;</li><li>- Formações;</li><li>- Intervenção no sistema de organização da farmácia;</li><li>- Cooperação com outros profissionais de saúde;</li><li>- Colaboração com instituições;</li><li>- Cedência de estupefacientes e psicotrópicos;</li><li>- Gestão de Conflitos.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Farmácias circundantes;</li><li>- Condições externas (Ruído exterior e a inexistência de estacionamento);</li><li>- Medicamentos esgotados ou rateados;</li><li>- Alteração dos preços;</li><li>- Competitividade do mercado (Locais de venda de MNSRM);</li><li>- Receitas manuais.</li></ul>

#### 2.1.1 Pontos Fortes

##### Localização

A Farmácia Central é uma das mais antigas de Coimbra. Localiza-se na Baixa, mais concretamente na Rua da Sofia, uma zona muito movimentada não só devido à facilidade de acesso através de transportes públicos como ao elevado comércio tradicional. Aliado a isto, existe o facto de esta ser Património Mundial da Unesco, o que proporciona o contato com turistas, para além dos utentes regulares, que são maioritariamente habitantes da Baixa de Coimbra.

### Competência e afabilidade da equipa

A Farmácia Central apresenta uma equipa muito dinâmica e diversificada constituída por três farmacêuticos e uma técnica de farmácia. Desde o início que me demonstraram muito carinho, aliado a uma vontade de me instruir e ajudar nas tarefas desempenhadas durante o estágio. Desta forma, existiu a partilha de imensos casos clínicos e de todo o conhecimento e ideias associados aos vários anos de experiência e aliados ao verdadeiro espírito de equipa e entreatajuda, o que se revelou uma mais-valia no meu estágio.

### Cooperação entre estagiários

Durante o meu estágio, estiveram presentes outros estagiários. Isso mostrou-se benéfico, porque existiu muita partilha de conhecimentos e de algumas situações já experienciadas, assim como o espírito de equipa e entreatajuda.

### Horário flexível

Desde o princípio do estágio que a orientadora nos deu liberdade para gerirmos o tempo na farmácia e construir o nosso horário da forma que achávamos mais proveitosa e rentável para nós. Assim sendo, tive oportunidade de gerir o meu horário consoante as necessidades que tinha devido às cadeiras em que estava inscrita e cujo horário das aulas coincidia com o do estágio.

### Armazenamento por grupo farmacológico

A Farmácia Central, contrariamente à maioria das farmácias, possui uma organização dos medicamentos por grupo farmacológico. Este fator foi muito importante para aprender e associar os fármacos aos seus nomes comerciais, assim como consolidar as indicações terapêuticas de cada fármaco, melhorando o atendimento ao doente.

### Planificação do Estágio

Durante o meu estágio não foi seguido qualquer tipo de planificação, no entanto esta foi desenvolvida de modo a assegurar e prever o meu desenvolvimento progressivo. Assim, iniciei o estágio na receção de encomendas e armazenamento dos produtos, que se tornou fulcral no exercício de associação de cada medicamento ao seu grupo farmacológico, facilitando-me o atendimento. Desde o princípio que me foi consentido a observação dos atendimentos realizados por toda a equipa da farmácia, o que promoveu a minha familiarização com os vários processos de atendimento ao público, quer a nível de software quer a nível de aconselhamento. Também a prestação de serviços foi algo que tive acesso desde o início do

estágio, embora com supervisão, e permitiu-me ir ganhando alguma confiança através do diálogo com os utentes.

### Autonomia

Ao longo do estágio, toda a equipa da Farmácia Central sempre promoveu a minha autonomia. Primeiramente, o desempenho de novas tarefas era supervisionado, mas a equipa permitiu que eu realizasse as tarefas autonomamente quando sentiram que estava preparada. As atividades foram: gestão de encomendas e devoluções, atendimento e organização da farmácia. Desta forma, nunca me foi imposto qualquer limite de tempo em determinado setor e desta forma consegui evoluir autonomamente ao meu ritmo.

### Prestação de serviços farmacêuticos

O facto de serem diariamente prestados vários serviços na Farmácia Central tornaram-se muito benéfico para a minha formação, na medida em que pude colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos no que diz respeito a medições de pressão arterial, determinação de glicémia e colesterol total. Ainda nesta temática, tive oportunidade de aconselhar os utentes quanto a hábitos de vida saudáveis, assim como analisar os resultados dos serviços prestados e prestar o devido aconselhamento. Além disto, tive a oportunidade de realizar a preparação/reconstituição de antibióticos.

### Inserção num grupo de farmácias

A Farmácia Central está integrada num grupo composto por três farmácias, o que permitiu perceber que nestes casos há uma maior facilidade em gerir o stock entre as farmácias e, quando necessário, pode haver transferência de produtos. Desta forma, conseguimos oferecer melhores condições de compra e, conseqüentemente, melhores preços de venda ao utente. Isto foi um ponto forte, pois consegui inteirar-me de alguns processos de gestão da farmácia.

### Saúde Animal

Embora inicialmente tenha tido bastante dificuldade na área dos produtos veterinários, o facto da Farmácia Central ter uma gama variada e haver solicitações regulares desses produtos de vendas livre e medicamentos sujeitos a receita médica veterinária permitiu-me ir elevando os meus conhecimentos à cerca destes produtos e do aconselhamento associado aos mesmos.

## Programa Sifarma 2000®

O Sistema informático utilizado na Farmácia Central é o Sifarma 2000®, um dos *softwares* mais úteis na prática de farmácia de oficina que permite exercer diversas funções, sendo muito útil e, de certa forma mais intuitivo para trabalhar. Para além disto, o facto deste *software* ser provido de informação científica atualizada contribuiu imenso para a minha evolução quer a nível de aconselhamento e atendimento, quer a nível de eficiência, qualidade e segurança.

### **2.1.2 Pontos Fracos**

#### Número de estagiários

Como referi anteriormente, o facto de poder partilhar experiência e cooperar com estagiários foi bastante vantajoso. No entanto, a aprendizagem tornou-se por vezes mais difícil quando estávamos três estagiárias na farmácia ao mesmo tempo, pois as tarefas que estavam destinadas a cada uma de nós tinham de ser partilhadas, como por exemplo o atendimento ao público, que tinha de ser feito de maneira faseada entre nós.

#### Preparação de Manipulados

A Farmácia Central não faz a preparação de medicamentos manipulados, o que considero um ponto fraco no meu estágio, pois não tive oportunidade de aprimorar os conhecimentos adquiridos durante as aulas em contexto profissional. Para além disso, estes medicamentos são essenciais em diversas patologias e em situações de necessidade ajuste de dose, como por exemplo em pediatria.

#### Dermocosmética

Outro dos pontos fracos do meu estágio foi a falta de diversidade relativamente à dermocosmética, pois sendo uma farmácia com clientes habituais idosos e um público-alvo muito específico a aposta na diversidade das marcas e dos produtos não se justificava. Na Farmácia existiam apenas as marcas mais procurados pelos seus utentes. No entanto, creio que faltou contacto com mais gamas de produtos cosméticos para a minha aprendizagem e crescimento.

## Nomes comerciais

A associação dos fármacos/princípios ativos às designações comerciais foi uma das maiores dificuldades que senti, pois durante o nosso percurso académico é-nos feita pouca referência aos nomes comerciais dos produtos.

### **2.1.3 Oportunidades**

#### Contacto com diversidade de utentes

A Localização da Farmácia Central permitiu-me ter contacto com um público bastante heterogéneo, o que me fez adaptar e melhorar o meu discurso a cada tipo de doente. Desta forma, realizei atendimentos tanto a utentes pontuais como a turistas, aos quais maioritariamente aconselhei produtos de venda livre. O facto de ter tido contacto com estrangeiros deu-me a oportunidade de praticar a língua inglesa em contexto clínico. Para além disto, no caso dos utentes fidelizados com ficha criada no sistema também me deu a oportunidade de comunicar e fazer o acompanhamento da gestão de compras, principalmente dos idosos e polimedicados.

#### Contacto com Diversas Realidades

Neste estágio tive contacto com diversas realidades que, no meu ponto de vista, me enriqueceram tanto a nível pessoal como profissional. A realidade vivida pela população com a qual tive contacto sensibilizou-me: tive contacto com população envelhecida com imensas patologias e dificuldades económicas, com pessoas totalmente dependentes de fármacos e em total discrepância com pessoas com muitas posses.

#### Formações

Durante o meu estágio, tive oportunidade de integrar várias formações externas às quais a farmácia tinha sido convidada. Para além destas formações, tive oportunidade de aceder às formações internas concedidas pelos delegados de informação médica que apresentavam vários produtos de venda livre.

#### Intervenção no sistema de organização da farmácia

Os colaboradores da Farmácia Central incentivaram-nos a sugerir melhorias nos serviços prestados, assim como sugerir mudanças na organização dos lineares da farmácia.

Desta forma, tive a oportunidade de reestruturar a disposição dos produtos para exposição como estratégia de atração para o utente.

#### Cooperação com outros profissionais de saúde

Durante o estágio tive a oportunidade de cooperar, juntamente com toda a equipa, com uma nutricionista que se dirigia à farmácia semanalmente, permitindo-me conhecer a gama de produtos EasySlim® e aprimorar os conhecimentos nesta área. Tive ainda oportunidade de colaborar com um Podologista que se dirigia a farmácia para diagnosticar doenças nos pés e tratar a maioria delas.

#### Colaboração com instituições

A Farmácia Central possui parcerias com algumas entidades, como protocolos de fornecimento de medicamentos para instituições. O aviamento das receitas e dispensa dos produtos constituiu uma oportunidade não só para me aperceber dos tipos de protocolos estipulados com as farmácias, assim como para ganhar mais autonomia e dinâmica no uso do Sifarma 2000®.

#### Cedência de estupefacientes e psicotrópicos

Considero uma oportunidade o facto de ter tido inúmeros contactos com cedência de estupefacientes e psicotrópicos, pois foi-me permitido aprender as normas estreitas ligadas a estes produtos e os cuidados a ter na dispensa dos mesmos.

#### Gestão de Conflitos

Durante o estágio tive de gerir conflitos com frequência, e considero isso uma oportunidade na medida em que me ajudou a ganhar confiança relativamente à melhor forma de elucidar e promover a literacia em saúde aos doentes. As receitas sem papel apresentam algumas desvantagens, pois muitas vezes o utente não sabia o que estava prescrito nem a quantidade e validade da prescrição, e isto provoca conflito com os utentes porque não sabiam o que aviar. Para além disso, a tentativa de compra de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) como antibióticos, benzodiazepinas e mesmo psicotrópicos sem receita gerou muitas vezes conflitos, nos quais tive a oportunidade de apelar ao bom senso do utente e sugerir-lhe possíveis alternativas.

## **2.1.4 Ameaças**

### Farmácias circundantes

Na Rua da Sofia existem várias farmácias, e isto constitui uma ameaça visto que existe uma maior dispersão de utentes (quer por serem clientes habituais de outra farmácia, quer por não haver o produto na farmácia ou mesmo por os balcões de atendimento estarem cheios) e, conseqüentemente, existe uma menor oportunidade dos estagiários contactarem com casos diferenciados.

### Condições externas (Ruído exterior e a inexistência de estacionamento)

A Farmácia Central localiza-se na Rua da Sofia que, sendo uma zona de grande movimento, o tráfego e o ruído são permanentes, e a Farmácia mantém a porta aberta durante o horário de funcionamento. Esta situação tornou-se uma ameaça na medida em que, na maior parte das vezes, a comunicação com o utente é dificultada. Assim sendo, considero uma ameaça para o funcionamento da farmácia, pois nem sempre o ambiente é calmo e sereno. Outra questão problemática é a inexistência de estacionamento, o que traz inconvenientes ao deslocamento dos utentes à farmácia.

### Medicamentos esgotados ou rateados

Em Portugal, devido à realidade económica, as companhias farmacêuticas têm de racionalizar o abastecimento de produtos no mercado. Durante o estágio, foram algumas as situações em que a farmácia não conseguiu dar resposta às necessidades dos utentes devido ao pedido de medicamentos que estavam esgotados (ex: Victan 2mg).

Para além disso, a falta de medicamentos verificada por o produto estar esgotado ou descontinuado compromete muitas vezes a terapêutica dos doentes, e embora as farmácias tentem encontrar alternativas para que seja garantida a terapêutica adequada ao utente, estes muitas vezes não compreendem a situação e ficam a desconfiar da farmácia.

### Alteração dos preços

As constantes alterações do PVP (Preço de Venda ao Público) dos medicamentos geram uma enorme suspeita por parte dos utentes, que por norma acham que é a farmácia que assume esta responsabilidade. Outra situação é o facto de as guias de tratamento apresentarem um custo mínimo para os medicamentos, o que constitui uma ameaça no atendimento pois utentes não compreendem que esses valores não estão sempre atualizados.



## Competitividade do mercado (Locais de venda de MNSRM)

Em farmácia comunitária lida-se diariamente com a concorrência, desde outras farmácias a locais de venda de MNSRM (ex: Well's). A maior preocupação quanto a estes espaços é que haja pouco ou nenhum aconselhamento farmacêutico, sendo que uma simples dispensa de um xarope com açúcar para a tosse pode trazer complicações se o utente tiver diabetes e não forem feitas quaisquer questões acerca disso. A venda de medicamentos nestes locais é efetuada maioritariamente por profissionais que não são devidamente qualificados e não prestam qualquer tipo de aconselhamento ou indicação. Isto constitui uma preocupação para a saúde pública, aliada ao facto de as farmácias não terem capacidade para competir com estes espaços a nível de preços.

## Receitas manuais

Na minha opinião, a prescrição através das receitas manuais é uma ameaça, visto que existem dificuldades constantes na interpretação da caligrafia do prescritor e isso poderá conduzir a erros na dispensa e toma dos medicamentos.

### **2.1.5 Caso Prático**

O estágio permite-nos o contacto real com os utentes e o aprimoramento do nosso aconselhamento no que diz respeito aos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM). Desta forma, e tendo o meu estágio decorrido durante o inverno, apresento um caso clínico que representa um dos atendimentos realizados em contexto real:

- Uma utente com cerca de 35 anos deslocou-se à FC e referiu que andava com episódios de tosse há cerca de dois dias e que queria algo para esse efeito. Questionei-lhe se a tosse era seca ou produtiva, se tomava alguma medicação habitual e se era diabética (para salvaguardar a escolha de um xarope sem açúcar). A utente referiu que, para além de tosse, tinha dores de garganta. Atendendo a esta situação, aconselhei a toma de Bisolvon® (bromexina, um mucolítico) para a tosse, e para a dor de garganta dispensei-lhe umas pastilhas Strepfen® (flurbiprofeno – anti-inflamatório). No final do atendimento, alertei-a para as medidas não-farmacológicas como a importância de manter uma boa hidratação para que conseguisse libertar a expetoração mais facilmente.

## 2.2 Farmácia Parente - Lamego

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"><li>- Filosofia Kaizen;</li><li>- Programa Sifarma 2000®;</li><li>- Integração na Equipa;</li><li>- Planificação do estágio;</li><li>- Dermocosmética;</li><li>- Ortopedia;</li><li>- Desenvolvimento de autonomia na cedência de MNSRM;</li><li>- Número de estagiários.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Prestação de Serviços;</li><li>- Medicamentos manipulados.</li></ul>
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"><li>- Acesso a formações;</li><li>- Colaboração com outras instituições e profissionais de saúde;</li><li>- Postos Móveis;</li><li>- Redes sociais/marketing;</li><li>- Sifarma Connect;</li><li>- Proximidade à diversidade de utentes.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Localização;</li><li>- Medicamentos esgotados ou rateados;</li><li>- Alteração dos preços;</li><li>- Receitas manuais.</li></ul>

### 2.2.1 Pontos Fortes

#### Filosofia Kaizen

O estágio curricular na Farmácia Parente deu-me a possibilidade de conhecer a Filosofia Kaizen. Esta filosofia baseia-se em princípios socioculturais do oriente que têm por base um grande compromisso de todos os indivíduos que fazem parte de uma empresa (farmácia), alicerçada a uma forma de gestão orientada para a maximização da produtividade e da rentabilidade e consequente redução de custos.

#### Programa Sifarma 2000®

O sistema informático utilizado na Farmácia Parente é o Sifarma 2000®, *software* que, como já referi anteriormente, constitui um grande suporte para o profissional de saúde exercer o ato farmacêutico com qualidade, eficiência e segurança, tornando-se numa ferramenta essencial para a nossa aprendizagem.

### Integração na Equipa

Os recursos humanos são uma base essencial para o bom funcionamento de todas as empresas. A equipa da Farmácia Parente, desde os profissionais que lidei diariamente até à gerência, sempre me trataram com muito respeito e mostraram-se disponíveis para me instruir e ajudar na minha formação, facilitando a minha integração na equipa. Isto foi sem dúvida um dos pontos mais fortes do meu estágio.

### Planificação do estágio

Uma vez que fiz transferência de estágio, considero um ponto forte o facto da planificação do meu estágio ter sido baseada no ato de confiança depositado pelos profissionais da Farmácia Parente, pois primeiramente procederam a uma explicação sucinta dos procedimentos da farmácia e de seguida deram-me crescente liberdade para exercer as funções que me eram destinadas.

### Dermocosmética

Na Farmácia Parente contactei com diversas gamas de cosmética o que, na minha opinião, constitui um ponto forte do meu estágio. Cada vez mais o farmacêutico tem um papel preponderante no conhecimento teórico e tecnológico das preparações de aplicação na pele com ação terapêutica – dermofarmacêuticas – e das preparações destinadas à higiene, proteção e correção da superfície cutânea e seus anexos e mucosas – cosméticos. Um conhecimento dos diversos produtos, auxiliado quer por formações quer por explicações dos profissionais da Farmácia Parente, tornou-se um ponto forte do meu estágio, pois melhorou significativamente o meu aconselhamento ao utente.

### Ortopedia

A Farmácia Parente sempre foi uma farmácia de referência na região a nível de ortopedia (talas, cadeiras de rodas, almofadas, camas). Neste sentido, considero um ponto forte do meu estágio o facto de poder instruir-me acerca deste tipo de produtos através da consulta de catálogos dos mesmos e através da informação que me foi prestada pela equipa. Embora atualmente a farmácia não disponha de todos os produtos, esta está suficientemente preparada para encomendá-los com confiança. Desta forma, durante o meu estágio pude envolver-me na venda e apreciação do cliente no que diz respeito a estes produtos, aprimorando o meu conhecimento acerca dos mesmos.

## Desenvolvimento de autonomia na cedência de MNSRM

Um estágio longo em farmácia comunitária permite-nos desenvolver capacidades no que toca à cedência e aconselhamento de MNSRM. Desta forma, fui diariamente confrontada com situações em que me foi necessário dispensar MNSRM depois de aferir o quadro clínico do utente, contribuindo para que me tornasse cada vez mais autónoma e crítica durante este tipo atendimento.

## Número de estagiários

O facto de ser a única estagiária na Farmácia Parente constitui um ponto forte do meu estágio, visto que desempenhar as várias tarefas até ao fim e ter uma equipa dedicada a instruir-me para que tivesse a melhor formação possível tornou-se algo muito importante e favorável na minha aprendizagem. Sendo a única estagiária, contrariamente ao que aconteceu na Farmácia Central a maioria das tarefas que me eram destinadas eram executadas individualmente.

## **2.2.2 Pontos Fracos**

### Prestação de Serviços

A Farmácia Parente presta normalmente diversos serviços como medição de parâmetros bioquímicos (colesterol total, ácido úrico, glicémia), medição da tensão arterial, administração de vacinas e injetáveis, no entanto, atendendo à situação de pandemia, a prestação de serviços não aconteceu. Isto constituiu um ponto fraco na medida em que não me foi possível praticar as diversas medições dos parâmetros bioquímicos e pressão arterial. No entanto, foi-me explicada a teoria dos testes e os procedimentos a eles associados com todo o cuidado e rigor possível.

### Medicamentos manipulados

Ainda que a Farmácia Parente disponha de um laboratório de manipulados, não se executa a preparação dos mesmos. Considero também um ponto fraco do meu estágio, uma vez que a preparação destes tem um papel preponderante em várias patologias e também em situações de ajuste de dose, nomeadamente em pediatria, pois existem várias formulações que não estão disponíveis no mercado.

## 2.2.3 Oportunidades

### Acesso a formações

O farmacêutico, para ser capaz de responder corretamente aos desafios do seu quotidiano, precisa de estar em constante atualização. Neste contexto, é extrema importância que este assista a formações de forma a estar o mais instruído possível para assegurar o melhor atendimento ao utente. Neste estágio tive oportunidade de participar em várias formações promovidas quer por entidades comerciais, quer pela própria farmácia, através das visitas dos delegados informação médica. Desta forma, considero uma oportunidade o facto de ter podido assistir a estas formações que me permitiram conhecer gamas inteiras de produtos, bem como recordar algumas temáticas lecionadas ao longo da minha formação académica.

### Colaboração com outras instituições e profissionais de saúde

Durante o meu estágio, tive oportunidade de contactar com outras instituições. Considero isto uma oportunidade, uma vez que aprendi a gerir todo um conjunto de receituário de utentes que efetivamente não se dirigem à farmácia e nos quais todo o processo tem de ser feito com muita responsabilidade. Nesta temática, o aviamento de receita e dispensa dos respetivos produtos constitui para mim uma oportunidade uma vez que me permitiu ganhar confiança e autonomia a trabalhar com o Sifarma 2000®.

### Postos Móveis

A Farmácia Parente possui dois postos farmacêuticos móveis sendo um localizado em Lalim (vila) e o outro na Penajóia (aldeia). Os postos farmacêuticos móveis são estabelecimentos destinados à dispensa ao público de medicamentos e outros produtos de saúde, ao cargo de um farmacêutico, sendo que estes são dependentes de uma farmácia. Assim, considero uma oportunidade o facto de durante o meu estágio me deslocar a estes postos podendo contactar com mais diversidade de utentes e uma realidade diferente da que contatei na Farmácia Parente.

### Redes sociais/marketing

Como sabemos, atualmente é fundamental a implementação de estratégias de *marketing* nas farmácias em Portugal. Estas, bem como estratégias de *cross-selling*, são fulcrais para a sustentabilidade das farmácias, principalmente quando existem várias farmácias numa dada região. Assim, tive oportunidade de colaborar com toda a equipa na execução de publicidade

e de estratégias para cativar o utente de forma a promover a ida à farmácia, assim como promover a sua fidelização.

### Novo Sifarma

A Glinnt está a criar um Sifarma que se espera chegar a todas as farmácias. Desta forma, durante o meu estágio tive a oportunidade de explorar e utilizar os módulos já criados deste novo software que irá ser a ferramenta futura das farmácias portuguesas.

### Proximidade à diversidade de utentes

O relacionamento com os utentes e a adaptação a cada tipo de utente constituiu uma oportunidade do meu estágio, pois a Farmácia Parente tem um leque diversificado de utentes. Desta forma, foi-me permitido aperfeiçoar a técnica de comunicação para cada tipo de utente, contactando com diferentes realidades socioculturais e económicas, assim como ganhar confiança no atendimento, contribuindo para uma aprendizagem mais enriquecedora.

## **2.2.4 Ameaças**

### Localização

Atualmente, a localização de uma farmácia é essencial para uma maior abrangência de utentes. A Farmácia Parente está localizada na rua de Almacave, em Lamego, e embora anteriormente essa fosse a zona de grande concentração de comércio tradicional, hoje isso não acontece. Para além disso, o facto de haver três farmácias a pouca distância torna-se uma ameaça pois os clientes, exceto os habituais, dispersam pelas outras farmácias.

### Medicamentos esgotados ou rateados

As companhias farmacêuticas em Portugal têm de racionalizar o abastecimento de produtos ao mercado, devido à realidade económica do país. Durante o estágio, observei algumas situações em que a farmácia não conseguiu dar resposta às necessidades dos utentes devido ao pedido de medicamentos que estavam esgotados (ex: Victan 2mg).

A falta de medicamentos, quer por estarem esgotados ou descontinuados, compromete o tratamento dos doentes. A Farmácia Parente tentava sempre encontrar alternativas para que isto não acontecesse, mas muitas vezes os doentes não são capazes de compreender e culpam a farmácia pela falha de stock verificada.

### Alteração dos preços

As persistentes alterações do PVP (Preço de Venda ao Público) dos medicamentos geram uma enorme desconfiança e suspeita por parte dos utentes, pois acreditam que é responsabilidade da farmácia. Adicionalmente, as guias de tratamento constituem uma ameaça no atendimento por apresentarem um custo mínimo para os medicamentos que muitas vezes não se encontra atualizado, provocando uma vez mais incompreensão por parte dos utentes.

### Receitas manuais

Na minha opinião, a prescrição através das receitas manuais é uma ameaça, pois existem dificuldades constantes na interpretação da caligrafia do prescritor e isso poderá conduzir a erros na dispensa de medicamentos.

## **2.2.5 Caso Prático**

Durante o meu estágio deparei-me com vários utentes a queixarem-se hemorroidas. A maioria destes utentes não sabe responder à cerca do tipo de hemorroidas, sendo que todos eles justificam que procuram a farmácia porque se torna menos constrangedor do que ir ao médico.

Aquando destes casos, aconselhei a aplicação de uma pomada anestésica rectal com propriedades vasoconstritoras e além disso, realcei a importância de beber água uso dos venotrópicos que podem ser utilizados para ajudar nesta situação. Questionei ainda sobre o facto de sofrerem de obstipação e em caso afirmativo informei sobre as várias medidas farmacológicas, nomeadamente a utilização de laxantes (lactulose) e não farmacológicas, como o aumento da ingestão de fibras e frutas, pois, muitas das vezes o esforço defecatório pode causar hemorroidas.

Por fim, alertei sobre a importância de uma correta higiene rectal antes da aplicação da pomada, nomeadamente utilização de antissépticos na lavagem.

### **3. Considerações Finais**

O farmacêutico comunitário, como profissional de saúde essencial na promoção da saúde pública, tem um papel importantíssimo e de grande responsabilidade na sociedade atual. As suas funções devem ser exercidas com cautela e discrição, aliadas a um enorme profissionalismo e responsabilidade na prestação de aconselhamento e na sensibilização dos utentes para o uso responsável da medicação. Atualmente, é crucial que se invista e apoie a formação contínua dos farmacêuticos e que se procure uma adaptação constante às necessidades dos utentes.

Apreciando o meu estágio curricular como um todo noto que tive oportunidade de pôr a prova a minha capacidade de adaptação a uma nova equipa, a um novo local de estágio, a uma nova realidade tornando-se isto um ponto crucial na minha aprendizagem. Através da análise SWOT do meu estágio curricular apercebi-me que as farmácias onde estagiei são, sem dúvida, locais onde os utentes vêm as suas dúvidas esclarecidas e os seus cuidados de saúde otimizados. Fui orientada por uma equipa de profissionais de excelência aos quais agradeço muito, pois contribuíram substancialmente para o meu crescimento e desenvolvimento profissional e pessoal.

Concluindo, a apreciação global do meu estágio curricular é significativamente positiva, pois foi sem dúvida algo que enriqueceu a minha formação académica e verificou ser uma experiência muito gratificante. No estágio podemos aplicar e complementar os conhecimentos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, para o mercado de trabalho a nível de competências técnico-científicas, bem como a nível ético-social.



# **Capitulo 2**

## **Diagnóstico *point-of-care* de marcadores cardíacos: o caso da troponina I**

Orientador Professor Doutor António Jorge Jesus

## Lista de Abreviaturas

AHA – American Heart Association

A $\beta$  – Anticorpo

cTn – Troponina cardíaca

cTnI – Troponina I

cTnT – Troponina T

CV – Coeficiente de variação

DAC – Doença arterial coronária

DCV – Doenças cardiovasculares

EAM – Enfarte agudo do miocárdio

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

EM – Enfarte do Miocárdio

LOD – Limite de Detecção

POC – *Point-of-care*

POCT – *Point-of-care test*

SCA – Síndrome coronária aguda

URL – Limite de referência superior

## Resumo

Os biomarcadores cardíacos são frequentemente medidos para fornecer orientação sobre o bem-estar dos pacientes em relação à saúde cardíaca. A troponina I, biomarcador específico de lesão do miocárdio, irá ser alvo de estudo na presente monografia. Ao longo dos últimos anos, a troponina I tem sido alvo de vários estudos com o intuito de compreender melhor a sua estrutura e fisiopatologia, existindo já alguma evidência de que determinadas alterações estruturais da sua isoforma influenciam a regulação cardíaca. Desta forma, esta proteína passou a ser considerada determinante para o diagnóstico de lesão cardíaca, passando a ser um meio de diagnóstico valioso para descartar/confirmar a possibilidade de enfarte do miocárdio.

Neste contexto, surge a necessidade de encontrar métodos que permitam a detecção da troponina I com o rigor e rapidez necessários. Os testes *point-of-care* (POCT) envolvem a realização do teste de diagnóstico na presença do paciente. Têm tempos de resposta mais curtos quando comparados com os testes realizados nos laboratórios de análises clínicas, e requerem o uso de reduzidos volumes de amostra. Torna-se uma abordagem ideal para implementar na triagem médica, com potencial para aliviar consideravelmente os tempos de espera nos serviços de urgência hospitalar. Os POCT devem fornecer medidas quantitativas da troponina I cardíaca. No entanto, existem vários fatores que, em conjunto, precisam de ser otimizados para que a plataforma POC seja implementada com sucesso. Nos últimos anos, têm surgido técnicas de detecção de troponina I altamente sensíveis com vista a integração nas plataformas POC. Na presente monografia serão caracterizados alguns ensaios POCT de bancada atualmente comercializados para detecção da troponina I, e analisados os desenvolvimentos mais recentes sobre a implementação de biossensores nos testes *point-of-care*, por forma torná-los mais sensíveis. Os desafios analíticos e clínicos encontrados durante as medições de troponina I serão também abordados.

**Palavras-chave:** POCT, Troponina I, Síndrome Coronária Aguda, Enfarte Agudo do Miocárdio, Biossensores.

## Abstract

Cardiac biomarkers are often measured to provide guidance in regards to the welfare of patient in regards to cardiac health. Troponin I, a biomarker specific to myocardial injury, will be the subject of study in this monography. In recent years, troponin I has been the subject of several studies with the intent of better understanding its structure and pathophysiology finding some evidence that certain alterations of its isoform influence cardiac regulation. This lead to this protein being considered determinant for the diagnosis of cardiac injury, making it a valuable means of diagnosis to rule in/out myocardial infarction.

In this context, the need arises for testing methods that allow for troponin I detection with necessary rigor and speed. Point-of-care tests (POCT) involve testing in the presence of the patient. They have faster response times when compared to tests performed in clinical analysis laboratories and require less sample volume. It becomes an ideal approach when implanted in a medical triage setting, with potential to significantly reduce waiting times in hospital emergency services. POCT should provide quantitative values of cardiac troponin I. However, there are several that need to, conjunctly, be optimised so that the POC platform can be successfully implemented. In recent years, highly specific techniques for the detection of troponin I have arisen with purpose of integrating the POC platform. In this monography, some bench POCT assays for detection of troponin I, that are currently being commercialised, will be characterized, and the more recent developments about the implementation of biosensors in point-of-care tests to make them more sensitive. The analytical and clinical challenges found in the measurements of troponine I will also be approached.

**Keywords:** POCT, Troponin I, Acute Coronary Syndrome, Acute Myocardial Infarction, Biosensors.

# **I. Introdução**

As doenças cardiovasculares são patologias que afetam o sistema circulatório, isto é, o coração e os vasos sanguíneos (artérias, veias e vasos capilares). Existem várias doenças cardiovasculares (DCV), sendo as mais preocupantes a doença das artérias do coração e a doença das artérias do cérebro. Estas são geralmente provocadas por aterosclerose, ou seja, depósito de placas ateroscleróticas (gordura) e cálcio no interior das artérias, as quais dificultam a circulação sanguínea nos órgãos, podendo mesmo bloqueá-la [1].

A Doença Arterial Coronária (DAC) é a forma mais comum de doença cardíaca e constitui um dos mais graves e preocupantes problemas de saúde a nível mundial. É causada maioritariamente por aterosclerose, que constitui umas das principais causas de morbidade e mortalidade cardiovascular [1-4].

A síndrome coronária aguda (SCA) é uma subcategoria da DAC. Ocorre quando o fluxo de sangue para o coração é reduzido e as células do miocárdio ficam desprovidas de oxigénio [2,3]. A SCA pode ser atribuída à rutura das placas ateroscleróticas instáveis, culminando na formação de trombos que promovem a oclusão de uma artéria coronária. Esta condição limita o aporte sanguíneo, estando associada a diversas doenças consoante o órgão e/ou estrutura afetada: Doença Arterial Coronária (DAC) e Enfarte Agudo do Miocárdio (EAM), caso seja o coração; acidente Vascular Cerebral (AVC) isquémico, caso seja o cérebro; doença arterial periférica, caso a obstrução ocorra nas extremidades inferiores [1,2].

Os dois principais tipos de SCA incluem angina instável, na qual as células do miocárdio são danificadas reversivelmente e infarto agudo do miocárdio (EAM), quando o fluxo sanguíneo é completamente bloqueado, provocando a morte das células do miocárdio [1-3].

## **2. Troponina I**

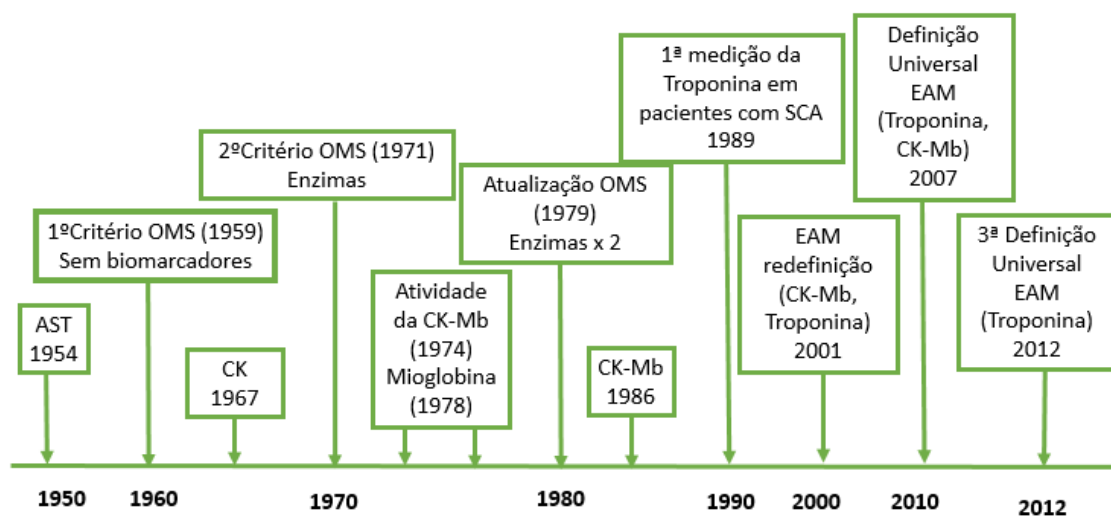
### **2.1. Importância clínica enquanto biomarcador cardíaco**

O termo biomarcador refere-se a um sinal objetivo de uma condição fisiológica ou patológica que pode ser medido experimentalmente com precisão e reprodutibilidade em indivíduos doentes ou saudáveis [4-5]. Os biomarcadores podem ser de diversos tipos: fisiológicos (funções de órgãos), físicos (alterações das características de estruturas biológicas), histológicos (amostras de tecido obtidas por biopsia) e anatómicos. Estruturalmente, podem ser células específicas, moléculas, genes, enzimas ou hormonas [4-6]. Têm grande utilidade na prática clínica, contribuindo para o diagnóstico e identificação de riscos de ocorrência de uma

determinada doença, servindo ainda como ferramenta útil na estratificação de doentes para avaliação da possível progressão de uma determinada condição de saúde, tornando possível prever um prognóstico mais ou menos favorável, assim como monitorizar se um determinado tratamento está a ser eficaz [4-7].

Os biomarcadores cardíacos fornecem indicação sobre o bem-estar de um paciente em relação à sua saúde cardíaca. O tratamento e a monitorização eficaz de doenças cardiovasculares (DCV) dependem da rápida resposta a sinais de sintomas cardíacos, fornecendo assim uma base para o aprimoramento da gestão do doente, resultando na melhoria do seu estado clínico [4,8]. O aspartato aminotransferase foi inicialmente descrito como um biomarcador de EAM [9]. Mais tarde, também a enzima creatina quinase (CK) e a sua isoenzima músculo-cérebro (CK-MB), a mioglobina, entre outros, foram descritos como marcadores específicos e sensíveis de SCA [3,9]. No entanto, estes biomarcadores apresentam uma limitação comum no que respeita à sua deteção, uma vez que o aumento acima dos seus níveis normais na corrente sanguínea só ocorre quando a lesão do miocárdio é significativa, o que faz com que o diagnóstico de EAM não possa ser feito atempadamente [3,6,9,10].

A troponina I (cTnI) foi inicialmente considerada um biomarcador proteico de necrose do miocárdio, sendo em 2012 reconhecida e introduzida na definição de enfarte agudo do miocárdio (EAM) pelas normas orientadoras elaboradas em conjunto pelo Colégio Americano de Cardiologia (ACC) e Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC), **Figura I** [9]. Nessas normas, a variação dos valores de troponina cardíaca (cTn) passou a ser considerada determinante para o diagnóstico de lesão cardíaca [3, 9 -13], passando a ser um meio de diagnóstico valioso, complementando o resultado de um eletrocardiograma.



**Figura I.** Evolução dos biomarcadores cardíacos ao longo do tempo. Adaptada da referência [9].

A Definição Universal de Enfarte do Miocárdio define "o valor aumentado de cTn usado para avaliar um EAM" como a concentração de cTn que excede o percentil 99 numa população de referência saudável [6,8,9,12], isto é, corresponde à concentração de troponina para a qual 99% dos valores obtidos para uma população de referência são menores ou iguais a esse valor [9]. Em ensaios usando metodologias convencionais, este valor está geralmente compreendido entre 25-70 ng /L [14]. É desejável que os ensaios meçam o percentil 99 de referência com a precisão recomendada pelas diretrizes clínicas e analíticas [Coeficiente de Variação (CV) ≤ 10%] [9,12,14]. São ainda considerados clinicamente válidos ensaios que meçam este indicador com CV até um máximo de 20% [9]. De referir que existem ensaios de troponina cardíaca com elevada sensibilidade (hs-cTn), os quais conseguem detetar níveis extremamente baixos dessa proteína, na ordem de 3-10 ng/L, permitindo assim um diagnóstico de lesão no miocárdio numa fase ainda muito precoce [6,9,12,14,15].

A presente monografia centra-se na troponina I e no seu potencial valor como biomarcador cardíaco. Atendendo à reavaliação dos critérios de diagnóstico do EAM que ocorreu ao longo dos últimos anos, nos quais se preconizou o papel da troponina I, esta proteína tem sido alvo de vários estudos com o intuito de compreender melhor a sua estrutura e fisiopatologia, existindo já alguma evidência de que determinadas alterações estruturais da sua isoforma influenciam a regulação cardíaca [5,6,14,15].

A medição das concentrações de troponina I no sangue constitui um elemento-chave na avaliação de pacientes com suspeita de SCA, contribuindo para o despiste atempado de um possível EAM. Uma medição rigorosa das concentrações de cTnI no sangue após isquemia/dor no peito pode permitir que os profissionais de saúde antecipem a ocorrência de um EAM [9,10]. No entanto, o termo lesão do miocárdio não é sinónimo de EAM, sendo que um aumento da concentração plasmática de cTn deve sempre ser interpretada no contexto clínico específico de cada paciente [9]. Importa também ressaltar que as troponinas cardíacas (cTn) estão entre os biomarcadores cardíacos mais utilizados, sendo que a cTnI, uma proteína encontrada apenas no miocárdio, é considerada pela Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC) como o biomarcador cardíaco "gold-standard", sendo recomendado o seu uso para descartar/excluir enfarte agudo do miocárdio (EAM) [8,9,10,13,16].

## **2.2. Libertação da troponina**

Tal como ilustrado na **Figura 2**, a troponina é um complexo de três polipeptídeos: troponina C (TnC), troponina I (TnI) e troponina T (TnT), localizado no filamento fino de todas as células musculares estriadas, incluindo as do músculo cardíaco. Este complexo

controla a interação do cálcio entre os filamentos de actina e miosina, sendo responsável pelo ciclo dinâmico de contração e relaxamento do músculo cardíaco. Enquanto a troponina C é idêntica tanto no músculo esquelético como no cardíaco, as troponinas I e T apresentam isoformas no miocárdio diferentes das que existem no musculo esquelético [3,9,17]. Desta forma, estas ultimas beneficiam de propriedades únicas que as tornam bons marcadores para a lesão do músculo cardíaco, sendo, por isso, consideradas troponinas cardioespecíficas [8, 9,17].

As três troponinas (C, I e T) estão complexadas e são libertadas após lesão do miocárdio, por meio de uma desintegração desorganizada de células danificadas que libertam substâncias que desencadeiam inflamação (lesão irreversível das células do miocárdio), ou após isquemia, como é o caso da angina instável ou outro tipo de lesão (lesão reversível das células do miocárdio) [9,18].

A libertação pode ocorrer sob a forma de complexos cTn ternários (cTnC-cTnI-cTnT), através de formas processadas do tipo complexo binário (cTnC-cTnI ou cTnI-cTnT), ou sob a formas livres cTnT e cTnI. Na circulação sanguínea, fração de cTnI na forma livre é bastante reduzida, sendo que a forma predominante (95%) é o complexo binário cTnC-cTnI. Desta forma, este complexo torna-se fulcral nos ensaios para medida da cTnI libertada [9,18].



**Figura 2.** Representação do complexo troponina. Imagem Adaptada da referência [9].

### 2.3. Detecção

Apesar dos avanços em várias áreas científicas, como sejam a biotecnologia, bioanálise, entre outras, a deteção de cTnI com elevada precisão e exatidão é ainda bastante desafiador. A gama de elementos de bioreconhecimento de cTnI disponíveis para comercialização encontra-se ainda em expansão, e apesar das bases científicas estejam bem estabelecidas, bio-receptores diferentes apresentam vantagens e desvantagens que podem torná-los mais ou menos adequados para aplicações específicas. No entanto, quando consideramos um elemento de bioreconhecimento temos de ter em conta algumas limitações (ver secção 4.1) que lhes



são frequentemente atribuídas, e esta preocupação é especialmente relevante no caso da quantificação da cTnI [8].

A Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC) estabeleceu que o elemento de bioreconhecimento deve ter como alvo epítomos na região estável da sequência de aminoácidos entre 30 e 110, pois após a liberação no sistema circulatório, o complexo da troponina sofre modificações. Como referido anteriormente, a cTnI pode circular na sua forma livre não complexada, ou pode estar presente num complexo binário (com maior frequência) ou ternário. Para além disso, a cTnI tem um tempo de meia-vida que pode variar significativamente, dependendo do tipo particular de enfarte ou da condição médica cardíaca presente, podendo, em certos casos, ser detetável por um período superior a 12 horas [8].

Uma vez libertadas, as formas de cTn podem sofrer modificações pós-traducionais que interferem na sua medição. Isto é particularmente relevante no caso de ensaios de cTnI. A cTnI contém resíduos de serina que podem ser fosforilados intracelularmente e, portanto, grande parte da cTnI libertada na circulação aparece sob a forma fosforilada. A fosforilação altera a conformação da cTnI e modifica sua interação com as outras troponinas [3,13,18]. Para além disto, na corrente sanguínea, as moléculas de cTnI existem em formas reduzidas, oxidadas ou parcialmente degradadas por proteases. A cTnT também pode sofrer proteólise ou fosforilação, embora em menor extensão que a cTnI [21]. Estas modificações pós-traducionais podem alterar em diferentes graus a interação da cTnI e cTnT com os anticorpos (A $\beta$ s) utilizados em imunoenaios [9,13,18].

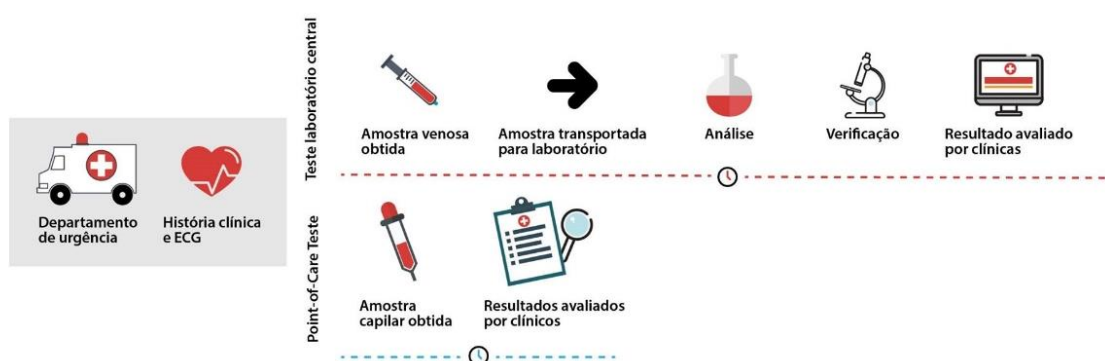
Existem outros fatores que podem também ter impacto na exatidão dos ensaios de cTn. Um deles é a presença de autoanticorpos. Efetivamente, vários estudos têm demonstrado que os autoanticorpos produzidos pelo próprio organismo para a cTnI surgem em alguns doentes após um episódio de enfarte do miocárdio, o que pode influenciar os resultados obtidos nas medições da concentração de cTn. Outro fator tem que ver com a variação do tempo de meia-vida da cTnI em função do tipo particular de enfarte ou da condição cardíaca do doente [8,19]. Estes autoanticorpos que reagem com a cTnI são heterogéneos, podendo ligar-se a qualquer região da sequência de aminoácidos, potencialmente inibindo, mais uma vez, a captação efetiva do antígeno [23]. Para além destes fatores, a presença de anticorpos heterófilos e artrite reumatoide podem também conduzir a erros na determinação da concentração de cTnI, produzindo falsos positivos ou falsos negativos [8].

Assim, a combinação de interferências e variações que afetam a medição da cTnI complicam o desenvolvimento de técnicas consistentes para detetar com precisão a cTnI e criam disparidade entre medições da mesma abordagem [8].

### 3. Point-of-care no diagnóstico precoce da lesão cardíaca

#### 3.1. Relevância das plataformas point-of-care

Uma área de investigação emergente consiste no desenvolvimento de dispositivos que permitam realizar testes de análises clínicas de forma rápida e descentralizada. Estes são, por norma, desenvolvidos para realização de testes *in vitro* no ponto de atendimento ao paciente (POC, abreviado do inglês *point-of-care*) [24]. O teste *point-of care* (POCT) é realizado na presença do paciente, tem um tempo de resposta muito menor quando comparado com os testes laboratoriais centralizados, **Figura 3** [8, 23], e a quantidade de amostra necessária é pequena. O interesse pelo POCT tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, sendo que têm sido desenvolvidos esforços no sentido de desenvolver ensaios de cTn que demonstrem ser rigorosos sob o ponto de vista analítico e simultaneamente com tempo de análise curto [3,8,22].



**Figura 3.** Comparação entre um teste rápido descentralizado (POCT) e teste centralizado no que respeita ao tempo de resposta [8].

POCT representa um teste no qual o resultado contribuirá para uma decisão estratégica, levando a uma melhor monitorização do paciente e um melhor resultado para a sua saúde. É uma abordagem ideal para implementar na triagem médica com potencial para aliviar consideravelmente os tempos de espera do departamento de urgência. O POCT pode ser realizado em praticamente qualquer ambiente, encontrando-se disponível no mercado uma variedade cada vez maior de dispositivos, que vão desde os mais simples (portáteis) que usam tiras de teste, até instrumentos de bancada com maior grau de complexidade [8]. O POCT apresenta também vantagens sob o ponto de vista económico, dado que a sua implementação conduz a uma redução nos custos gerais das instalações hospitalares e laboratoriais [8,22]. Os avanços nestas metodologias têm-se revelado cruciais no que diz respeito à forma como as

DCV são diagnosticadas, visto que podem ser incorporados uma ampla gama de marcadores bioquímicos, entre os quais a troponina I.

A utilização de um dispositivo POCT deve ser o mais simples possível, privilegiando a automação aquando a introdução da amostra no dispositivo POC. Isto reduz a necessidade de intervenção de pessoal qualificado, o que facilita a implementação desta tecnologia num sentido mais amplo nos serviços de saúde, particularmente na medicina geral ou em departamentos de urgência [8].

Importa ainda referir que, para otimizar a eficácia do diagnóstico de uma plataforma POC, a introdução da deteção de múltiplos marcadores é de interesse primordial [8,55].

### **3.2. Características dos dispositivos POCT para medição da troponina cardíaca I**

Existem dois tipos principais de dispositivos POC para a medição da troponina cardíaca: sistemas de bancada e dispositivos portáteis. No entanto, não há padronização na medição da troponina cardíaca I nas várias tecnologias de ensaio disponíveis [3]. Além disso, há uma variação considerável entre os dispositivos de acordo com a quantidade e o tipo de amostra biológica (sangue, plasma ou soro) usada para a medição. Alguns sistemas medem vários biomarcadores simultaneamente (por exemplo, troponina cardíaca I, CK-MB e mioglobina). Em geral, os tempos de teste são da ordem de 10 a 15 minutos, embora o tempo total dependa do número de biomarcadores que são medidos nos vários sistemas. Neste sentido, estão a surgir novas tecnologias para a medição de troponina cardíaca no ponto de atendimento com o potencial de reduzir o tempo do teste para cerca de 5 minutos, mas que ainda estão em fase de investigação [29].

Os POCT devem fornecer medidas quantitativas da troponina I cardíaca para apoiar ou descartar o diagnóstico de EAM e, como tal, a sensibilidade do sistema do teste não deve ser significativamente diferente da fornecida pelas análises feitas no laboratório central. A precisão da medida na concentração do percentil 99 é tido como um fator muito relevante nas atuais recomendações relacionadas à medição da troponina cardíaca. Como já fizemos referência, é desejável o CV seja menor ou igual a 10% no limite do percentil 99, sendo que o uso de ensaios de troponina I com imprecisão superior a 20% não são recomendados [3,9,10,12]. Uma maior precisão na análise aumenta a capacidade de determinar pequenas diferenças nas concentrações de cTnl. No entanto, alguns dispositivos que são comercializados não atendem a este critério. Um CV igual a 20% no valor do percentil 99 é ainda considerado

cl clinicamente aceitável [3,24,25]. É importante ter em mente que o valor do 99 percentil irá variar para cada dispositivo, devido à falta de ensaios de normalização e variâncias na sensibilidade analítica [3].

O limite de detecção (LOD) do ensaio ou a sua sensibilidade analítica é determinada pelos anticorpos utilizados e pela sua afinidade para um determinado epítopo. Importa referir que um LOD mais baixo permite uma medida quantitativa de cTn mais informativa e importante para futura estratificação de risco [3].

Os dispositivos POC devem implementar medidas para reduzir o efeito de interferência de anticorpos heterofílicos, o que pode levar a erros nas medições [3,26]. Amostras hemolisadas, dislipidémias, ou ictéricas podem também interferir nos ensaios. Como tal, os fabricantes devem fornecer uma lista de produtos farmacêuticos e de outras substâncias relacionadas com as informações relativas à possibilidade de interferência. A heparina e EDTA são os únicos anticoagulantes atualmente aceites por dispositivos POCT [3].

Para contrariar as limitações acima referidas, estão a ser alvos de investigação e aprimoramento ensaios de troponina de elevada sensibilidade (hs-cTn) para que seja possível identificar baixas concentrações de cTn, que poderão indicar a existência de pequenas lesões no miocárdio [9]. Esta investigação tem sido impulsionada pelas sensibilidades superiores que podem ser alcançadas por estes ensaios e pela possibilidade de redução do impacto negativo do período indetetável da troponina (período cego). O “período cego da troponina” é tradicionalmente conhecido como o período inicial durante o qual os níveis de troponina não são detetáveis usando os testes cTn padrão, embora os sintomas de EAM possam estar presentes [8].

A capacidade de ensaios hs-cTn para detetar concentrações mensuráveis de cTn em pelo menos 50% de pessoas saudáveis, em conjunto com a sua melhor precisão (expressa como o CV de 10% ao percentil 99), associado a um maior reconhecimento de variação de valores, tem conduzido a uma melhor estratificação do risco de paciente com suspeita de EAM. Estes novos níveis de desempenho têm facilitado o diagnóstico, tornando-o mais rápido e preciso para as DCV. No entanto, estes ensaios ainda estão para ser replicados nas plataformas POC [12,8].

### 3.3. Exemplos de testes POC existentes para detecção da troponina I

Nesta secção, vamos abordar alguns dos ensaios POCT já existentes para a detecção da troponina I, focando-nos nos seus princípios de funcionamento, nas interferências a que estão sujeitos, nos parâmetros analíticos mais importantes e na viabilidade de utilização em contexto de urgência hospitalar. Para complementar a discussão que se segue, é apresentado na **Tabela I** um resumo das características de alguns dos dispositivos POC de bancada comercialmente disponíveis.

**Tabela I.** Resumo das características analíticas dos dispositivos POC de bancada usados para a detecção de cTnI. Adaptado de [3]

Fabricante	Radiometer	Abbot	LSI Medience Corporation
Nome do dispositivo	AQT90 FLEX cTnI	i-STAT cardiac troponin I	PATHFAST
Tempo de análise, min	10-20	12	17
LOD, µg/L	0,0095	0,02	0,019
URL do percentil 99, µg/L	0,023	0,08	0,029
Coefficiente de variação	10% a 0,039 µg/L	10% a 0,10 µg/L	5.1% a 0,029 µg/L
Substâncias Interferentes	Sem interferências documentadas	HAMA; hemólise excessiva; hematócrito > 65%	HAMA, bilirrubina, TG, Hb, e fator AR
Tipo de amostra	Anticoagulantes: Li-heparina, EDTA Sangue total ou plasma	Anticoagulantes: Heparina Sangue total ou plasma	Anticoagulantes: Li-heparina, Na-heparina, EDTA Sangue total ou plasma
Volume	2mL	17 µL	100 µL
Preparação da amostra	Colocar o tubo de colheita diretamente no instrumento	Pipetar a amostra para o dispositivo de teste e inserir	Pipetar a amostra para o poço I do cartucho e inserir

#### 3.3.1 Radiometer- “AQT90 FLEX”

O AQT90 FLEX da Radiometer é um ensaio que testa uma variedade de biomarcadores cardíacos, incluindo cTnI, cTnT, CK-MB, dímero D e mioglobina. Estes testes podem ser realizados na mesma amostra. O tempo de análise deste dispositivo varia entre 10 a 20 minutos após a adição da amostra, dependendo do analito, sendo que a determinação da cTnI demora cerca de 12 minutos [3]. As amostras podem ser de sangue total ou plasma

tratado com EDTA ou heparina, sendo que para iniciar o ensaio é necessário colocar diretamente na entrada do dispositivo um quantidade mínima de 2 mL da amostra [3].

Este ensaio utiliza anticorpos monoclonais biotinizados para a captura da cTnI, que são pré-imobilizados numa superfície revestida com estreptavidina do vaso de ensaio. Utiliza ainda os anticorpos marcadores com európio, adicionados sobre uma camada de separação. Quando a amostra é colocada no vaso de ensaio e incubada, os anticorpos de captura e os marcados ligam-se a diferentes epítomos da cTn na amostra, formando um complexo do tipo sanduíche. O copo de ensaio é lavado e seco, e o sinal emitido pelo A $\beta$  marcado com európio é medido por fluorometria. O sinal medido é diretamente proporcional à quantidade de cTnI presente na amostra, sendo que a concentração do analito é calculada diretamente por uma curva de calibração previamente estabelecida para o dispositivo [3].

Este ensaio é considerado específico e não são reportadas interferência no caso de amostras hemolisadas, dislipidémias ou icterícia. Produtos farmacêuticos e substâncias interferentes foram testadas numa concentração cinco vezes superior à da linha terapêutica e constatou-se uma interferência  $\leq 20\%$  no ensaio cTnI. Não foram detetadas interferências de anticorpos heterófilos no ensaio [3].

O ensaio AQT90 FLEX cTnI tem um LoD de 0,0095  $\mu\text{g/L}$ . O URL do percentil 99 é de 0,023  $\mu\text{g/L}$ , e a concentração que fornece um CV de 10% foi de 0,039  $\mu\text{g/L}$ . A precisão total para uma concentração de 0,024  $\mu\text{g/L}$ , logo acima do URL do percentil 99, é de 17,7%, que fica abaixo de 20%. Assim, este teste é considerado clinicamente aceitável [3]. Uma limitação importante deste teste reside no volume relativamente elevado de amostra que é necessário usar, que é de aproximadamente de 2 mL [3].

### **3.3.2 Abbott – “i-STAT”**

O teste de cTnI i-STAT é um teste de diagnóstico *in vitro* utilizado para medição quantitativa de cTnI, usando um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), no sangue total ou plasma heparinizado [3]. O tempo de ensaio é de 7 minutos, sendo necessário um mínimo de 17  $\mu\text{L}$  de amostra. Quando a amostra é injetada na entrada do cartucho de teste i-STAT, este é colocado em contato com um sensor eletroquímico, onde estão depositados os anticorpos de deteção marcados com enzimas (fosfatase alcalina). Os anticorpos dissolvem-se na amostra e ligam-se à cTnI formando complexos A $\beta$ -cTnI. O excesso de amostra e reagente é lavado com um fluido contendo um substrato para a fosfatase alcalina. A enzima cliva o substrato, originando um produto que é quantificado eletroquimicamente [3].

Anticorpos humanos anti-murino (HAMA) ou anticorpos heterófilos podem interferir no ensaio. Embora o dispositivo contenha reagentes destinados a minimizar este efeito, podem ocorrer resultados inconsistentes. As amostras visivelmente hemolisadas também devem ser evitadas, pois a hemólise em excesso pode interferir na atividade da fosfatase alcalina. Relativamente a fármacos ou proteínas associadas à cTnI, não foram observadas quaisquer interferências [3].

Este ensaio tem um LOD de 0,02 µg/L, e o URL do percentil 99 ocorre a 0,08 µg/L. Um CV de 10% é alcançada a uma concentração de cTnI igual a 0,10 µg/L, e um CV de 20% é atingido para uma concentração de 0,07 µg/L [3]. Desta forma, embora o i-STAT não demonstre precisão ideal (CV <10%) no URL do percentil 99, a precisão do dispositivo é satisfatória com CV <20% a 0,08 µg/L. Importa ainda realçar que a portabilidade deste dispositivo e o tempo de análise tornam-no uma mais-valia para uso em ambientes de cuidados intensivos [3].

### **3.3.3 LSI Medience Corporation- “PATHFAST”**

O PATHFAST cTnI utiliza um imunoensaio enzimático de quimiluminescência (CLEIA) e MAGTRATION® como tecnologia para medir a concentração de cTnI. A amostra pode conter como anticoagulante Li-heparina, Na-heparina, EDTA-K2 ou pode ser executada a colheita de sangue total ou plasma [3]. Quando é usada a amostra de sangue total esta deve ser misturada com cuidado no tubo de colheita. Para iniciar o teste, o reagente é colocado no cartucho do PATHFAST. O cartucho é então carregado e a amostra é misturada com anticorpos monoclonais anti-cTnI marcados com fosfatase alcalina e anticorpos monoclonais anti-cTnI revestidos com partículas magnéticas. Desta forma, os dois Aβs são solubilizados na amostra ligando-se a diferentes epítomos da cTnI formando um imunocomplexo tipo sanduiche. Seguidamente, um íman é utilizado de forma a remover os complexos da mistura, permanecendo nesta apenas os que estão marcados com fosfatase alcalina. Finalmente, é adicionado à mistura um substrato quimiluminescente que, após um curto período de incubação, reage com a enzima. A intensidade da luminescência gerada pelo produto desta reação é medida e a concentração de cTnI é calculada utilizando uma curva de calibração do dispositivo. O tempo de análise da amostra é de 17 minutos [3].

Relativamente às interferências por Aβs heterófilos, embora tenham sido tomadas precauções de forma a minimizar estes riscos, a eliminação completa das mesmas não é garantida. Têm sido reportadas ainda algumas interferências com amostras contendo bilirrubina livre e conjugada (60 mg/mL), triglicérideos (1000 mg/gL), hemoglobina (1000

mg/dL) e fator da artrite reumatoide (500 UI/mL). Não foram encontradas quaisquer interferências significativas a nível de produtos farmacêuticos e, uma vez que, este ensaio permite a utilização de anticoagulantes (tipo Li-heparina, Na-heparina, ou EDTA-K2) foram testadas amostra dos mesmos para averiguar a interferência destes compostos, que se mostrou insignificante [3].

O limite de quantificação (LOQ) para o PATHFAST é de 0,019 µg/L, e o URL do percentil 99 é de 0,029 µg/L. O PATHFAST ultrapassa um CV de <10% no URL, alcançando um CV de 5,1% a 0,029 mg/L. Desta forma, este dispositivo POC é o dispositivo que possui maior precisão total [3].

## **4. Integração dos biossensores nas plataformas POC**

### **4.1. Tipos de biossensores usados na detecção de troponina I**

Para além dos dispositivos de bancada acima referidos, existe uma outra categoria de dispositivos POCT de menor dimensão e instrumentalmente menos complexos e dispendiosos, baseados no uso de biossensores. Por definição, um biossensor é um dispositivo que deteta analitos, através da combinação de um componente biológico com um detetor físico-químico [29]. Os biossensores são constituídos por dois componentes principais: um elemento de reconhecimento e um transdutor, sendo que alguns autores consideram o sistema de processamento de sinal como terceiro componente principal. O elemento de reconhecimento que se liga ao analítico, permitindo o seu isolamento e, assim, facilitando a sua determinação. Existe uma ampla gama de elementos de reconhecimento comumente usados para interagirem com os analitos-alvo, como sejam anticorpos, aptâmeros, polímeros de reconhecimento molecular, ácidos nucleicos, entre outros [30]. O transdutor tem como função transformar o sinal resultante da interação do analito com o elemento biológico (transferência de eletrões, variação de pH, variação massa, transferência calor, etc. ) num sinal elétrico mensurável [8-30].

Os imunossensores são um tipo de biossensores baseados numa reação imunológica em que o antígeno ou anticorpo é imobilizado na superfície do transdutor. Vários tipos de anticorpos podem ser usados (policlonal, monoclonal e recombinante), os quais, por terem características diferentes, seguem também diferentes abordagens de produção. Os Aβs policlonais são gerados através da imunização do hospedeiro por um antígeno específico (biomarcadores direcionados, como cTnI), resultando numa resposta imune que produz um anti-soro policlonal contendo anticorpos contra o antígeno imunizado, mas também outros



anticorpos presentes no soro do hospedeiro. Estes A $\beta$ s serão produzidos contra vários epítomos do antígeno, ao contrário dos A $\beta$ s monoclonais, que são produzidos contra um único epítomo e são derivadas de uma célula B específica [8,28].

Os anticorpos recombinantes são produzidos através da exploração de técnicas genéticas para gerar uma variedade de construções de anticorpos, como o Fab (fragmento de ligação do antígeno) e o scFv (fragmento variável de cadeia simples). Estas técnicas oferecem vantagens consideráveis, como sejam o menor tamanho do A $\beta$ , permitindo que uma maior densidade de A $\beta$ s seja imobilizada. [8,29]. O uso de A $\beta$ s recombinante em ensaios de cTnl ainda se encontra numa fase embrionária, sendo a maioria dos imunoensaios realizados com uso de A $\beta$ s monoclonais. No entanto, num estudo recente, foram usados A $\beta$ s recombinantes para deteção de cTnl num imunoensaio baseado em luminescência, tendo sido possível detetar cTnl em concentrações na ordem dos ng/L [8,28].

Existem também estudos publicados na literatura sobre a utilização de elementos bioreconhecimento alternativos aos A $\beta$ s no desenvolvimento de biossensores de cTnl, como sejam aptâmeros [8]. Tratam-se de oligonucleotídeos de cadeia simples com a capacidade de se ligarem seletivamente a moléculas-alvo, que possuem características semelhantes às dos A $\beta$ s. Estes elementos de bioreconhecimento apresentam algumas vantagens como sejam estabilidade térmica, facilidade de modificação e produção de baixo custo. Recentemente, foram usados aptâmeros e A $\beta$ s no desenvolvimento de biossensores eletroquimioluminescentes, isto é, baseados na medição da emissão de luz resultante da aplicação de corrente elétrica [8]. Os aptâmeros foram usados para captar o cTnl, com os A $\beta$ s biotinilados conjugados com estreptavidina marcada com complexos de ruténio. Com esta metodologia obteve-se um LOD de 0,79 ng/L e um intervalo de deteção linear de 1 a 10 ng/L [8,33].

Outro tipo de elementos de bioreconhecimento são polímeros impressos molecularmente (MIPs), que possuem várias impressões do analito-alvo usadas para ligação em toda a sua estrutura. Por vezes, têm a vantagem de apresentar maior estabilidade térmica que os A $\beta$ s, bem como períodos de armazenamento superiores. Para além disso, podem ser usados repetidamente e produzidos de forma mais barata. Existem na literatura alguns estudos sobre o desenvolvimento de um sensor eletroquímico, usando MIPs para capturar cTnl [8,34,35]. Com base nestes trabalhos de investigação, produziu-se um sensor eletroquímico cTnl baseado em MIP altamente sensível, capaz de detetar cTnl a níveis tão baixos quanto 0,8 ng/L [8].

Um outro aspeto bastante importante no desenvolvimento de biossensores é a estratégia de imobilização, a qual deve ser adequada para que a capacidade de deteção não fique comprometida. Em relação ao POCT, as estratégias de imobilização de A $\beta$ s afetam o armazenamento do biossensor e a sua estabilidade operacional, tendo impacto na vida útil do cartucho do POC [33,36]. As estratégias de imobilização englobam os meios de fixar de forma eficaz e segura o elemento de bioreconhecimento a uma superfície de forma a maximizar a área da superfície e posicionar o bioreceptor de forma correta. Idealmente, o A $\beta$  deve ser posicionado na vertical para maximizar a capacidade de ligação ao antígeno; no entanto, até ao momento, nenhuma estratégia conhecida permite garantir uma disposição consistente de A $\beta$ . Apesar disto, existem algumas abordagens que são capazes de fornecer A $\beta$ s altamente orientados por meio de estratégias especializadas de orientação específicas do local. A adsorção física é frequentemente usada e depende de atrações fracas, como forças de van der Waals, interações hidrofóbicas e ligação de hidrogénio para obter imobilização de anticorpos [8,36,37].

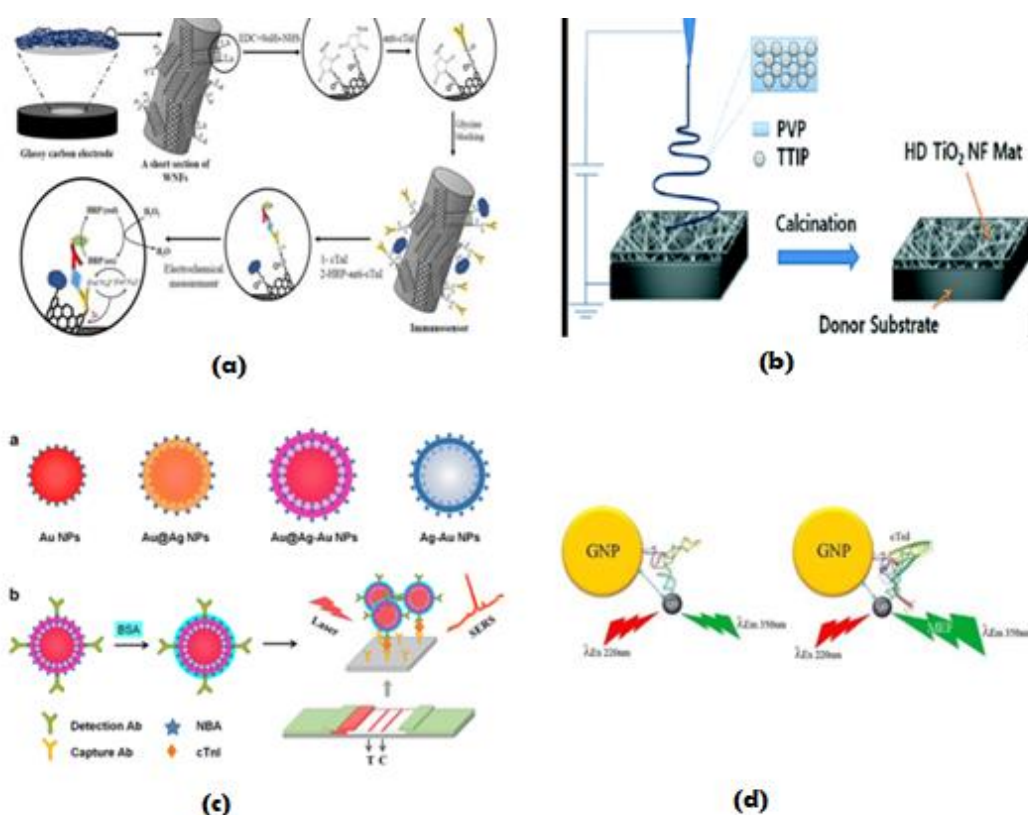
## 4.2. Incorporação de nanomateriais

Os nanomateriais estão a emergir rapidamente como componentes-chave na construção de plataformas de biossensores, podendo ser usados para melhorar a sensibilidade e contribuir significativamente para a miniaturização de sensores, visto que estes são classes de materiais diferenciados pelo seu tamanho, que, geralmente varia de 1 a 100 nm. A adoção cada vez mais frequente de nanomateriais é evidente em vários biossensores desenvolvidos recentemente para a determinação da cTnI, com a utilização de uma ampla gama de nanomateriais [8,35]. Entre estes destacam-se os nanotubos de carbono, constituídos por uma única camada (nanotubos de carbono de parede única [SWCNT]) ou por múltiplas camadas (nanotubos de carbono de parede múltipla [MWCNT]); nanopartículas metálicas sintetizados a partir de ouro e prata; "sistemas poliméricos altamente ramificados" conhecidos como dendrímeros com tamanho inferior a 10 nm; e pontos quânticos, que são nanocristais baseados em semicondutores que exibem propriedades ópticas desejáveis em sistemas de deteção de fluorescência, entre outros [8,40,41].

Atualmente, existem várias técnicas de utilização de nanomateriais no desenvolvimento de biossensores, as quais estão representadas na **Figura 4**. Uma das técnicas estudadas consiste na utilização de nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNTs) carboxilados, que funcionam como suporte para criação de nanofibras por eletrofiação, deposição das nanofibras diretamente na superfície do elétrodo de carbono vítreo (GCE), o que facilita a

imobilização da captura de A $\beta$ s. A eletrofação é uma técnica comum de fabrico amplamente utilizada na construção de biossensores baseados em nanofibras. Esta técnica é capaz de detetar cTnl em concentrações tão baixas quanto 4,4 ng/L [8, 41].

As nanopartículas mais amplamente usadas no *design* de biossensores são as nanopartículas de ouro, que exibem propriedades sensoriais ideais, ajudando a aumentar o desempenho do biossensor, conferindo-lhe elevada estabilidade, excelente condutividade elétrica e excelentes propriedades optoelectrónicas. AuNPs (nanopartículas de ouro) e pontos quânticos são usados como nanopartículas plasmónicas e nanocristais semicondutores excitónicos, respetivamente, num sistema de deteção de fluorescência aprimorado por metal [8, 43, 44].



**Figura 4.** Uso de nanomateriais no desenvolvimento de biossensores de cTnl : (a) Produção de eléctrodos usando nanofibras com nanotubos de carbono e a estratégia de conjugação de bioreceptores; (b) Processo de produção de uma camada de nanofibra através de eletrofação; (c) nanopartículas para intensificação de sinal num ensaio de fluxo lateral; (d) Mecanismo de deteção de aptasensor de luminescência mostrando a redução na distância entre AuNP e QD, intensificando o sinal de fluorescência). Retirado de [8].

Outra classe de nanomateriais são os dendrímeros, que são estruturas radialmente simétricas tipo árvore que consistem numa molécula central ou núcleo de polímero linear, exibindo propriedades interessantes em relação à otimização da conjugação A $\beta$ . O tipo de dendrímero mais amplamente utilizado é o dendrímero de poliamidoamina, que normalmente

está disponível com um núcleo de alquil-diamina e ramificações de aminas terciárias, embora os fornecedores ofereçam uma variedade de grupos funcionais nas ramificações para uma variedade de requisitos de imobilização de A $\beta$ . Essas nanoestruturas contribuem muito para atingir um limite de detecção de cTnI na ordem de picogramas [49,50].

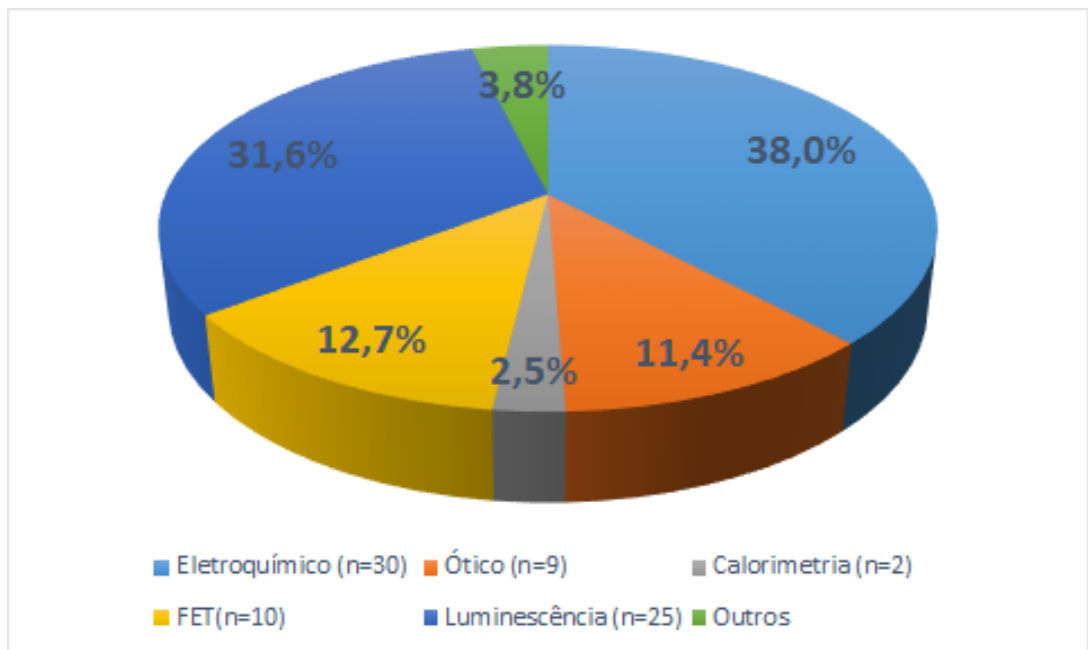
Assim, torna-se evidente que um dos maiores objetivos associado às plataformas POC concentra-se em sintetizar nanomateriais e gerar efetivamente uma superfície estável para imobilização de A $\beta$ . [8,47,48].

### 4.3. Avaliando as técnicas de detecção de cTnI

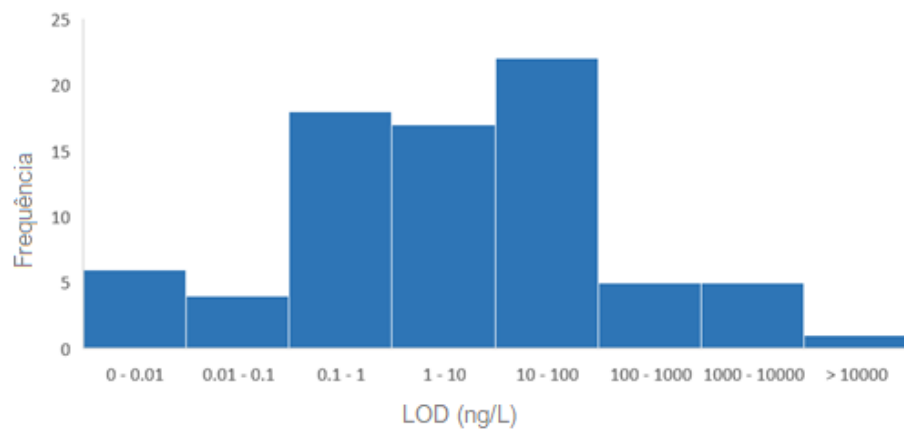
Nesta secção, iremos avaliar a composição e características das técnicas de detecção de cTnI de forma a poder ajudar a identificar tendências relacionadas com as abordagens mais comuns adotadas e a adequação inerente à integração dessas técnicas no POC.

Com se pode verificar da análise da **Figura 5**, os métodos de detecção eletroquímica são os mais frequentemente usados em ensaios de cTnI usando biossensores. Isso geralmente envolve o uso de GCEs (carbono vítreo) ou eléctrodos serigrafados (SPEs) e a implementação de uma técnica eletroquímica, como voltametria cíclica (CV) ou voltametria de pulso diferencial (DPV). A detecção eletroquímica é uma opção bastante viável para o POCT, pois é facilmente miniaturizada e geralmente requer instrumentação menos dispendiosa do que outras abordagens [46].

Relativamente à gama de LOD, a maioria das técnicas de detecção em estudo demonstrou ser capaz de detetar cTnI abaixo de 100 ng/L, sendo que o maior subconjunto deteta concentrações de cTnI entre 10 e 100 ng/L (**Figura 6**), demonstrando sensibilidades comparáveis aos ensaios comerciais de troponina de primeira geração [8].



**Figura 5.** Técnicas de detecção de cTnI utilizados desde 2015. Cada técnica foi classificada adequadamente com base no mecanismo de detecção de ensaio e biossensor utilizado. Retirado de [8].



**Figura 6.** Biossensores organizados em subconjuntos com base no LOD. Retirado de [8]

## 5. Conclusão

As medições de troponina cardíaca (cTn) desempenham um papel importante no diagnóstico de SCA, por aumentarem a especificidade cardíaca em comparação com biomarcadores anteriores, como sejam a CK, CK-MB e mioglobina. No entanto, uma percentagem significativa de testes convencionais de cTn não cumpre os objetivos de sensibilidade e precisão analíticas exigidos pelas diretrizes internacionais por forma a serem usados com segurança no diagnóstico de EAM. Isso tem levado ao desenvolvimento dos ensaios de cTnI de elevada sensibilidade. Com estes ensaios, é possível identificar pequenas quantidades de cTn na corrente sanguínea, permitindo assim identificar precocemente um EAM. Aumentar a sensibilidade dos ensaios cTnI oferece benefícios adicionais, na medida em que permite uma implementação mais rápida de um plano de monitorização clínica adequado, levando a um melhor resultado para a saúde do doente. No entanto, a deteção rigorosa de cTnI não é uma tarefa fácil atendendo à variação nas formas do complexo de cTn na corrente sanguínea, à flutuação da concentração de cTn entre diferentes grupos etários e de género e às complicações adicionais decorrentes de muitos fatores que interferem na ligação com o elemento de bioreconhecimento. Estas condicionantes podem levar a alterações nas medições de concentração de cTn, gerando falsos positivos e potencialmente falsos negativos.

A implementação do POCT no diagnóstico cardiovascular tem contribuído significativamente para aliviar a pressão nos departamentos de emergência e permitir a distribuição generalizada de diagnósticos cardíacos portáteis, com impacto económico positivo.

Nos testes POCT que utilizam biossensores, a seleção criteriosa de elementos de bioreconhecimento possível, bem como de estratégias de imobilização e técnicas de deteção adequadas, têm uma grande influência no desempenho analítico. Para além disso, a introdução de nanomateriais tem revelado desempenhar um papel importante no desenvolvimento de dispositivos cada vez mais portáteis, e simultaneamente mais sensíveis. Contudo, a otimização de todos estes fatores deixa ainda muito espaço para melhorias nos dispositivos POCT aplicados à medição de troponina.

## Bibliografia

- [1] P. Libby, "Molecular bases of the acute coronary syndromes," *Circulation*, vol. 91, n°. 11, pp. 2844–2850, 1995.
- [2] J. F. Bentzon, F. Otsuka, R. Virmani, and E. Falk, "Mechanisms of plaque formation and rupture," *Circ. Res.*, vol. 114, n°. 12, pp. 1852–1866, 2014.
- [3] B. E. Amundson and F. S. Apple, "Cardiac troponin assays: A review of quantitative point-of-care devices and their efficacy in the diagnosis of myocardial infarction," *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 53, n°. 5, pp. 665–676, 2015.
- [4] R. Dhingra and R. S. Vasan, "Biomarkers in cardiovascular disease: Statistical assessment and section on key novel heart failure biomarkers," *Trends Cardiovasc. Med.*, vol. 27, n°. 2, pp. 123–133, 2017.
- [5] A. J. Atkinson *et al.*, "Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework," *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 69, n°. 3, pp. 89–95, 2001.
- [6] C. S. Martins, "Troponina: Estrutura, fisiopatologia e importância clínica para além da isquemia miocárdica," *Arq. Med.*, vol. 23, n°. 6, pp. 221–240, 2009.
- [7] RANG, H.P., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, G. Rang & Dale's Pharmacology. 8th Edition. London: Elsevier Churchill Livingstone, 2016. ISBN- 13 978-0-7020-5363-4
- [8] B. Regan, R. O'Kennedy, and D. Collins, "Point-of-care compatibility of ultra-sensitive detection techniques for the cardiac biomarker troponin I—challenges and potential value," *Biosensors*, vol. 8, n°. 4, pp. 1–32, 2018.
- [9] A. Alquézar-Arbé, A. Sionis, and J. Ordoñez-Llanos, "Cardiac troponins: 25 years on the stage and still improving their clinical value," *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, vol. 54, n°. 7–8, pp. 551–571, 2017.
- [10] R. Bingisser *et al.*, "Cardiac troponin: A critical review of the case for point-of-care testing in the ED," *Am. J. Emerg. Med.*, vol. 30, n°. 8, pp. 1639–1649, 2012.
- [11] D. W. Kemper *et al.*, "Analytical evaluation of a new point of care system for measuring cardiac Troponin I," *Clin. Biochem.*, vol. 50, n°. 4–5, pp. 174–180, 2017.
- [12] M. Kozinski, M. Krintus, J. Kubica, and G. Sypniewska, "High-sensitivity cardiac troponin assays: From improved analytical performance to enhanced risk stratification," *Crit. Rev.*

- Clin. Lab. Sci.*, vol. 54, n°. 3, pp. 143–172, 2017.
- [13] P. J. M. Wijnker, A. M. Murphy, G. J. M. Stienen, and J. van der Velden, “Troponin I phosphorylation in human myocardium in health and disease,” *Netherlands Hear. J.*, vol. 22, n°. 10, pp. 463–469, 2014.
- [14] F. S. Apple, “A new season for cardiac troponin assays: It’s time to keep a scorecard,” *Clin. Chem.*, vol. 55, n°. 7, pp. 1303–1306, 2009.
- [15] V. Palamalai, M. A. M. Murakami, and F. S. Apple, “Diagnostic performance of four point of care cardiac troponin I assays to rule in and rule out acute myocardial infarction,” *Clin. Biochem.*, vol. 46, n°. 16–17, pp. 1631–1635, 2013.
- [16] T. Liu *et al.*, “A label-free cardiac biomarker immunosensor based on phase-shifted microfiber Bragg grating,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 100, pp. 155–160, 2018.
- [17] R. J. Solaro, P. Rosevear, and T. Kobayashi, “The unique functions of cardiac troponin I in the control of cardiac muscle contraction and relaxation,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 369, n°. 1, pp. 82–87, 2008.
- [18] S. Sadayappan *et al.*, “Role of the acidic N’ region of cardiac troponin I in regulating myocardial function,” *FASEB J.*, vol. 22, n°. 4, pp. 1246–1257, 2008.
- [19] S. Hasić, E. Kiseljaković, R. Jadrić, J. Radovanović, and M. Winterhalter-Jadrić, “Cardiac troponin I: the gold standard in acute myocardial infarction diagnosis,” *Bosn. J. Basic Med. Sci.*, vol. 3, n°. 3, pp. 41–44, 2003.
- [20] E. I-humphreys and P. C. Regulatory, “Regulatory Proteins of the Myocardium Atrial and Ventricular Tropomyosin and Troponin-I in the Developing and Adult Bovine and Human Heart J . E . Humphreys and P . C u m m i n s Molecular Cardiology Unit , Department of Cardiovascular Medicine , Universi,” vol. 657, pp. 643–657, 1984.
- [21] D. C. Gaze and P. O. Collinson, “Multiple molecular forms of circulating cardiac troponin: Analytical and clinical significance,” *Ann. Clin. Biochem.*, vol. 45, n°. 4, pp. 349–355, 2008.
- [22] K. Pettersson, S. Eriksson, S. Wittfooth, E. Engström, M. Nieminen, and J. Sinisalo, “Autoantibodies to cardiac troponin associate with higher initial concentrations and longer release of troponin I in acute coronary syndrome patients,” *Clin. Chem.*, vol. 55, n°. 5, pp. 938–945, 2009.



- [23] S. Eriksson, H. Halenius, K. Pulkki, J. Hellman, and K. Pettersson, "Negative interference in cardiac troponin I immunoassays by circulating troponin autoantibodies," *Clin. Chem.*, vol. 51, n° 5, pp. 839–847, 2005.
- [24] P. Polyteck, "Por Daniel Cobra e Alexandre Dias Tavares Costa," pp. 1–8, 2016.
- [25] A. S. John and C. P. Price, "Economic evidence and point-of-care testing," *Clin. Biochem. Rev.*, vol. 34, n° 2, pp. 61–74, 2013.
- [26] K. Thygesen *et al.*, "Third universal definition of myocardial infarction," *Circulation*, vol. 126, n° 16, pp. 2020–2035, 2012.
- [27] A. S. Jaffe, F. S. Apple, D. A. Morrow, B. Lindahl, and H. A. Katus, "Being rational about (Im)precision: A statement from the Biochemistry Subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Foundation/American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the definition of myo," *Clin. Chem.*, vol. 56, n° 6, pp. 941–943, 2010.
- [28] M. Plebani, "Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine?," *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 44, n° 6, pp. 750–759, 2006.
- [29] A. P. F. Turner, I. Karube, G. S. Wilson, and P. J. Worsfold, *Biosensors: fundamentals and applications*, vol. 201. 1987.
- [30] V. Perumal and U. Hashim, "Advances in biosensors: Principle, architecture and applications," *J. Appl. Biomed.*, vol. 12, n° 1, pp. 1–15, 2014.
- [31] S. Hearty and R. O'Kennedy, "Exploiting recombinant antibodies in point-of-care (POC) diagnostics the combinatorial advantage," *Bioeng. Bugs*, vol. 2, n° 3, pp. 182–186, 2011.
- [32] J. Liu, Z. Cao, and Y. Lu, *Functional nucleic acid sensors*, vol. 109, n° 5. 2009.
- [33] F. Xia *et al.*, "An electrochemical supersandwich assay for sensitive and selective DNA detection in complex matrices," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 132, n° 41, pp. 14346–14348, 2010.
- [34] Y. Ma *et al.*, "MIPs-graphene nanoplatelets-MWCNTs modified glassy carbon electrode for the determination of cardiac troponin I," *Anal. Biochem.*, vol. 520, pp. 9–15, 2017.
- [35] S. Liébana and G. A. Drago, "Bioconjugation and stabilisation of biomolecules in biosensors," *Essays Biochem.*, vol. 60, n° 1, pp. 59–68, 2016.

- [36] N. R. Mohamad, N. H. C. Marzuki, N. A. Buang, F. Huyop, and R. A. Wahab, "An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes," *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, vol. 29, n<sup>o</sup>. 2, pp. 205–220, 2015.
- [37] S. Sharma, H. Byrne, and R. J. O’Kennedy, "Antibodies and antibody-derived analytical biosensors," *Essays Biochem.*, vol. 60, n<sup>o</sup>. 1, pp. 9–18, 2016.
- [38] M. Pan, Y. Gu, Y. Yun, M. Li, X. Jin, and S. Wang, "Nanomaterials for electrochemical immunosensing," *Sensors (Switzerland)*, vol. 17, n<sup>o</sup>. 5, 2017.
- [39] B. Rezaei, A. M. Shoushtari, M. Rabiee, L. Uzun, W. C. Mak, and A. P. F. Turner, "An electrochemical immunosensor for cardiac Troponin I using electrospun carboxylated multi-walled carbon nanotube-whiskered nanofibres," *Talanta*, vol. 182, pp. 178–186, 2018.
- [40] T. Bai *et al.*, "Functionalized Au@Ag-Au nanoparticles as an optical and SERS dual probe for lateral flow sensing," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, n<sup>o</sup>. 9, pp. 2291–2303, 2018.
- [41] Z. Rezaei and B. Ranjbar, "Ultra-sensitive, rapid gold nanoparticle-quantum dot plexcitonic self-assembled aptamer-based nanobiosensor for the detection of human cardiac troponin I," *Eng. Life Sci.*, vol. 17, n<sup>o</sup>. 2, pp. 165–174, 2017.
- [42] D. Bhatnagar, I. Kaur, and A. Kumar, "Ultrasensitive cardiac troponin I antibody based nanohybrid sensor for rapid detection of human heart attack," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 95, pp. 505–510, 2017.
- [43] E. Abbasi, S. F. Aval, A. Akbarzadeh, M. Milani, and H. T. Nasrabadi, "Dendrimers : synthesis , applications , and properties," pp. 1–10, 2014.
- [44] L. E. Kreno, K. Leong, O. K. Farha, M. Allendorf, R. P. Van Duyne, and J. T. Hupp, "Metal-organic framework materials as chemical sensors," *Chem. Rev.*, vol. 112, n<sup>o</sup>. 2, pp. 1105–1125, 2012.
- [45] Z. Hu, B. J. Deibert, and J. Li, "Luminescent metal-organic frameworks for chemical sensing and explosive detection," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43, n<sup>o</sup>. 16, pp. 5815–5840, 2014.
- [46] L. El Harrad, I. Bourais, H. Mohammadi, and A. Amine, "Recent advances in electrochemical biosensors based on enzyme inhibition for clinical and pharmaceutical applications," *Sensors (Switzerland)*, vol. 18, n<sup>o</sup>. 1, 2018.
- [47] A. St John and C. P. Price, "Existing and Emerging Technologies for Point-of-Care Testing," *Clin. Biochem. Rev.*, vol. 35, n<sup>o</sup> 3, pp. 155–67, 2014.