

BR 1331126

ISSN 0101-7004



CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares

RADIOBIOANÁLISE IN VITRO APLICADA

Janete C.G. GABURO e Gian M.A.A. SORDI

IPEN-Pub-379

NOVEMBRO/1992

SÃO PAULO

RADIOBIOANÁLISE IN VITRO APLICADA

Janete C.G. GABURO e Gian M.A.A. SORDI

SERVIÇO DE PROTEÇÃO RADIOLÓGICA

CNEN/SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO - BRASIL

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

C21.00

**RADIOBIOLOGY
RADIOCHEMISTRY
IN VITRO
RADIONUCLIDE KINETICS**

IPEN-Doc-4498

Aprovado para publicação em 03/11/92.

Note: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do(s) autor(es).

RADIOBIOANÁLISE IN VITRO APLICADA

Janete C. G. GABURO - GIAN M. A. A. SORDI

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
CAIXA POSTAL 11049 - PINHEIROS
05422-970 SÃO PAULO - BRASIL

Resumo

O objetivo desta publicação é apresentar os conceitos de bioanálise e as técnicas bem como os procedimentos experimentais associados a avaliação da contaminação interna. Descreve-se as principais vias de incorporação, comportamento metabólico, e tipos de amostras de bioanálise que podem ser coletadas para análise dos radionuclídeos. Consideram-se os processos biológicos e químicos e o comportamento físico do radionuclídeo de interesse e são discutidas as técnicas para detectá-lo e quantificá-lo.

Uma outra consideração feita é a necessidade da garantia de qualidade em todo o procedimento e finalmente é dado um resumo das técnicas aplicadas rotineiramente na monitoração interna dos trabalhadores do IPEN.

APPLIED IN VITRO RADIOBIOASSAY

Janete C. G. GABURO - Gian M. A. A. SORDI

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
CAIXA POSTAL 11049 - PINHEIROS
05422-970 SAO PAULO - BRASIL

Abstract

The aim of this publication is to show the concepts and in vitro bioassay techniques as well as experimental procedures related with internal contamination evaluation. The main routes of intake, metabolic behavior, and the possible types of bioassay samples that can be collected for radionuclides analysis are described. Both biological processes and the chemical and physical behavior of the radioactive material of interest are considered and the capabilities of analytical techniques to detect and quantify the radionuclides are discussed. Next, the need of quality assurance throughout procedures are considered and finally a summary of the techniques applied to the internal routine monitoring of IPEN workers is given.

Título: RADIOPIOANÁLISE IN VITRO APLICADA

SUMÁRIO

I - Definição: Bioanálise.....	11
II - Definição: Trabalhador com Radiação.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Comentários Gerais.....	13
2. BIOANÁLISE: Amostragem e Interpretação.....	14
2.1 Tipos de Amostras de Bioanálise.....	14
2.1.1 Urina.....	15
2.1.2 Fezes.....	16
2.1.3 Tecido.....	18
2.1.4 Outras Amostras.....	19
2.2 Variações de Amostras.....	19
2.3 Interpretação de Resultados de Bioanálise.....	20
3. CONCEITOS DE ANÁLISES RADIOQUÍMICAS EM AMOSTRAS DE BIOANÁLISE.....	23
3.1 Métodos Radioquímicos.....	24
3.1.1 Comentários Gerais.....	24
3.1.2 Conservação das Amostras.....	26
3.1.3 Preparação das Amostras.....	26
3.1.4 Preparo da Matriz (oxidação da matéria orgânica e / ou dissolução dos sólidos).....	27
3.1.5 Tracedor para Rendimento Químico.....	28
3.2 Purificação Química.....	29
3.3 Preparação da Amostra para Contagem.....	29
3.4 Medida da Radioatividade.....	30

3.5	Limites de Detecção	30
3.6	Garantia de Qualidade	32
4.	PERPECTIVAS NA UTILIZAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS DE BIOANÁLISE	33
5.	TÉCNICAS DE MEDIDA DE BIOANÁLISE	34
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

I Definição : Bioanálise

Bioanálise é a determinação do tipo, da quantidade, da localização e da retenção de radionuclídeos no corpo por medidas in vivo ou por análises in vitro do material excretado ou removido do corpo. A Bioanálise deve ser considerada como o procedimento final de controle de qualidade que é usado para assegurar a proteção adequada dos trabalhadores à exposição interna de radiação.

NCRP - Report n° 87.

Use of Bioassay Procedures for Assessment of Internal Radionuclide Deposition.

February 28, 1987.

II Definição : Trabalhador com Radiação

Trabalhador ocupacional é aquela pessoa cujo trabalho exige a presença de máquinas produtoras de radiação ou de materiais radioativos e que tenha uma exposição rotineira potencial superior a 0,1 rem (0,001 Sievert) por ano, que é a soma da Dose Equivalente Efetiva Anual para a irradiação externa e da Dose Equivalente Comprometida Efetiva para a irradiação interna.

DOE Order 5480.11.

Radiation Protection for Occupational Workers.

December 21, 1988; Chg 1, July 20, 1989.

1. Introdução

1.1 Comentários Gerais

O termo Bioanálise é aqui usado para identificar e quantificar o radionuclídeo presente no corpo por meio da análise do material excretado ou removido do corpo (análise in vitro).

Na Proteção Radiológica, as técnicas de bioanálise podem fornecer um meio de monitoração dos trabalhadores para estabelecer se houve uma deposição interna bem como se são necessárias outras medidas de controle. No caso de pessoas que podem ter sido expostas aos radionuclídeos durante muitos anos ou a décadas anteriores à presente data, os procedimentos de bioanálise podem fornecer um meio para se determinar estas deposições passadas baseando-se nos níveis de radiação remanescentes no corpo.

Nestas condições, as determinações podem ser aplicadas somente àqueles materiais que são eliminados muito lentamente do corpo por um período de tempo prolongado. Em princípio, se pudermos determinar uma quantidade de radionuclídeo atualmente existente no corpo então podemos estimar a dose em órgãos ou tecidos específicos por cálculos apropriados, para uma incorporação que ocorreu num instante específico anterior. Estes cálculos dependem das hipóteses estabelecidas

quanto à retenção e à excreção dos materiais existentes no corpo.

2. Bioanálise: Amostragem e Interpretação

2.1 Tipos de Amostras de Bioanálise

Com o propósito de verificar se ocorreu anteriormente uma deposição interna, pode ser coletada e analisada uma variedade de amostras de um indivíduo para bioanálise in vitro. Estas amostras incluem: a urina, as fezes, o tecido (incluindo espécies de biópsia), o sangue, as unhas, o cabelo, os dentes, a saliva, o suor e o hálito.

Com exceção da biópsia de espécies de tecido, todas estas amostras in vitro fornecem uma medida indireta da deposição interna do radionuclídeo, uma vez que o órgão ou tecido de interesse não está sendo amostrado. Assim, a correta interpretação desses resultados requer o conhecimento da relação entre a presença de um radionuclídeo nas várias amostras usadas na bioanálise e a carga corporal deste radionuclídeo. Para esta finalidade, existem vários modelos metabólicos com diferentes graus de precisão e exatidão.

Na seleção da amostra para a análise deve-se levar em conta vários fatores como: o elemento químico a ser determinado, sua forma física e química, a magnitude da

deposição interna, a meia-vida biológica e física do radionuclídeo na sua forma química, o tempo decorrido desde que ocorreu a deposição e a sensibilidade do método analítico usado para processar estas amostras.

2.1.1 Urina

Para a avaliação da deposição interna de radionuclídeos, por meio de procedimentos de bioanálise in vitro, as amostras de urina, na maioria dos casos, são o material mais conveniente, uma vez que a urina contém somente os radionuclídeos que foram absorvidos na corrente sanguínea e além disso, é uma amostra fácil de ser coletada e analisada.

A análise da urina é especialmente útil para radionuclídeos que entram no corpo na forma relativamente transferível (isto é solúvel). Quando um radionuclídeo nesta forma alcança a corrente sanguínea, frações dele serão depositadas em vários órgãos do corpo e o restante excretado, predominantemente, via urina. Estas frações são determinadas pela forma química e características metabólicas do elemento químico em questão. Como em vários órgãos ocorre o ciclo celular ou outros processos cinéticos, parte do radionuclídeo é liberado e volta novamente para a corrente sanguínea, levando a uma redeposição no órgão e a uma excreção contínua na urina e nas fezes.

Atualmente a maioria das organizações fazem colheita de amostras equivalente a um período de 24 horas de excreção urinária do indivíduo.

A presença do radionuclídeo de interesse, em níveis maiores do que aqueles estimados como naturais, indica que pode ter ocorrido uma deposição interna. Este resultado positivo pode ser confirmado por amostragens repetitivas e determinada a taxa média no instante em que ocorreu a excreção do radionuclídeo.

2.1.2 Fezes

Uma outra maneira de obter uma avaliação indireta de uma possível deposição interna de um radionuclídeo é feita pela colheita e análise de amostras diárias de fezes. O uso de amostragem de fezes não é tão relevante quanto a amostragem de urina, para propósitos rotineiros de bioanálise, mas pode fornecer uma informação qualitativa importante, especialmente a respeito de radionuclídeos relativamente insolúveis, que não podem ser encontradas em amostragem de urina.

Quando uma incorporação de um radionuclídeo ocorre por ingestão, a quantidade do radionuclídeo excretado logo após a ingestão representa a quantidade líquida do radionuclídeo não absorvido depois de ter passado através do trato gastrointestinal. A fração absorvida durante o trânsito do

radionuclídeo ingerido, através do trato gastrintestinal, entra na corrente sanguínea e é depositado em vários órgãos. Da fração do radionuclídeo que alcança a corrente sanguínea, uma parte é subseqüentemente eliminada do fígado para o trato gastrintestinal, via bile e é excretado do corpo pelas fezes.

Quando o radionuclídeo é inalado, ocorrem diferentes caminhos metabólicos e dosimétricos. Uma parte pequena das frações do radionuclídeo depositadas nas passagens nasal, traqueal e brônquica serão absorvidas na corrente sanguínea. O restante será removido pela ação mucociliar para a faringe e a seguir entra para o trato gastrintestinal após ter sido deglutido. Neste caso, a quantidade excretada nas fezes representa a quantidade líquida do radionuclídeo inalado, não absorvido, após ter passado através do trato gastrintestinal e a quantidade excretada via fígado, como mencionada acima.

A fração do radionuclídeo inalado, depositado na região pulmonar pode ser absorvida rapidamente na corrente sanguínea se o radionuclídeo estiver em forma relativamente solúvel. Uma vez absorvido, o radionuclídeo entra na corrente sanguínea, sendo depositado em vários órgãos e excretado na urina e nas fezes, de um modo semelhante àquele que advém da ingestão. Ao contrário, se o radionuclídeo está numa forma relativamente insolúvel quando inalado, uma parte pode permanecer na região pulmonar por um longo período de tempo (por exemplo, vários anos). Neste último caso, a presença do

radionuclídeo nas fezes resulta de uma depuração prolongada mecânica dele, a partir da região pulmonar, para os brônquios e traquéia e daí para a boca, pela ação mucociliar seguida por deglutição e passagem, essencialmente sem absorção, através do trato gastrintestinal.

A excreção de um radionuclídeo nas fezes, muito tempo após ter sido incorporado por ingestão ou inalação, pode representar uma eliminação lenta de material relativamente insolúvel da região pulmonar do trato respiratório ou um material que tenha entrado na corrente sanguínea e esteja sendo excretado do fígado para o trato gastrintestinal, via bile.

2.1.3 Tecido

Evidentemente, uma medida direta no tecido do nível de um radionuclídeo forneceria uma indicação mais direta da existência de uma deposição interna do radionuclídeo, mas por si própria não indicaria quando a exposição ocorreu ou qual foi a meia-vida de retenção naquele órgão. Para uma pessoa com vida, uma análise desse tipo seria incomum a não ser que algum dos tecidos ou órgãos em questão fosse removido para propósitos médicos. Se desejável uma análise desse tipo, poderia ser feita pós-morte, em espécime coletado por autópsia.

2.1.4 Outras Amostras

Análises de sangue, suor, saliva, cabelo, dentes ou ar exalado são usadas somente para amostragens especiais, onde pode existir um particular metabolismo que facilite métodos para um determinado radionuclídeo em sua forma química. Por exemplo, amostras de ar exalado (hálito), podem ser úteis para determinar a quantidade de radionuclídeo que sai do corpo na forma gasosa, tais como o ^{222}Rn , ^{14}C ligado com dióxido de carbono, ou vapores de água tritiada (HTO), mas estas amostras não seriam significativas para avaliar os radionuclídeos que não são removidos do corpo pelo ar exalado.

2.2 Variações de Amostras

Vários fatores podem influenciar a variação de amostra para amostra, na bioanálise. Para amostras in vitro, estes fatores incluem a variação biológica dia-a-dia na quantidade de urina ou fezes excretada, e contaminação cruzada de amostras com material radioativo de outras fontes. Estes fatores, e outros se não forem eliminados ou corrigidos podem ter um grande impacto na dose equivalente acumulada, calculada a partir de resultados positivos das amostras de bioanálise in vitro, particularmente aquelas coletadas a várias décadas após uma possível incorporação do radionuclídeo.

2.3 Interpretação de Resultados de Bioanálise

Se a análise de uma amostra de bioanálise indica que um determinado radionuclídeo está presente em níveis suficientemente superiores àqueles do natural, será necessário uma posterior investigação e interpretação para confirmar esta observação e fornecer uma melhor indicação da taxa de excreção do radionuclídeo de interesse e, para tanto, devem ser coletadas mais amostras. Se a análise destas amostras adicionais confirma a observação original, todos os resultados podem ser usados para estimar a carga corporal existente no tempo de amostragem de bioanálise (a carga corporal retida), e se o tempo de exposição é conhecido ou pode ser estimado, poderá ser também estimada a carga corporal inicial.

Este processo é apresentado esquematicamente na Figura 1. A interpretação dos resultados de bioanálise requer o conhecimento da relação entre a excreção do radionuclídeo no tipo de amostra de bioanálise em questão, e a carga corporal ou o conteúdo existente no instante em que foram coletadas as amostras. O ponto A, na Figura 2a mostra a carga corporal retida, estimada da análise da amostra de bioanálise no tempo "t" e a relação matemática a partir do modelo de excreção. O valor da carga corporal inicial, ponto B, pode então ser estimado usando da carga corporal retida estimada e uma função de retenção de corpo inteiro hipotética para o

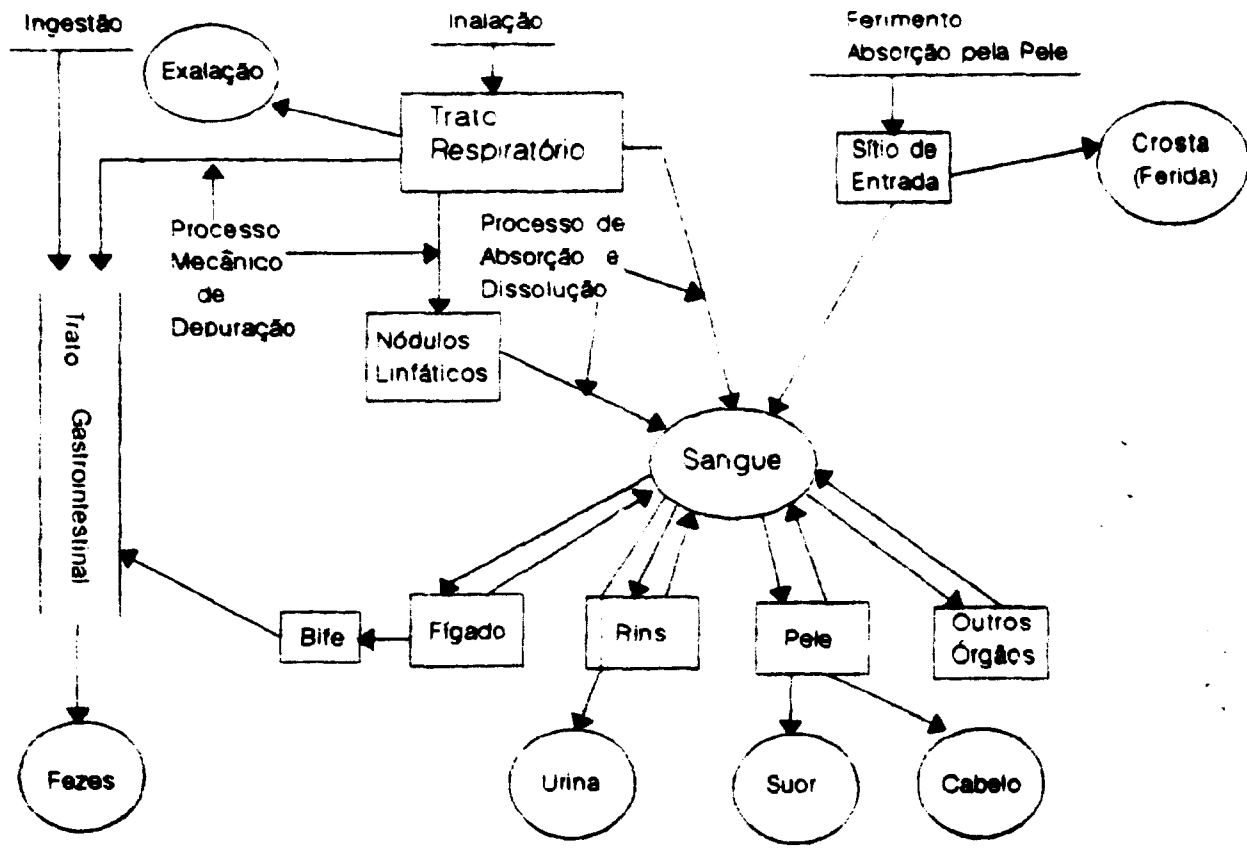


Fig 1 Representação esquemática das vias de incorporação, comportamento metabólico e amostras possíveis de bioanálise para radionuclídeos depositados internamente

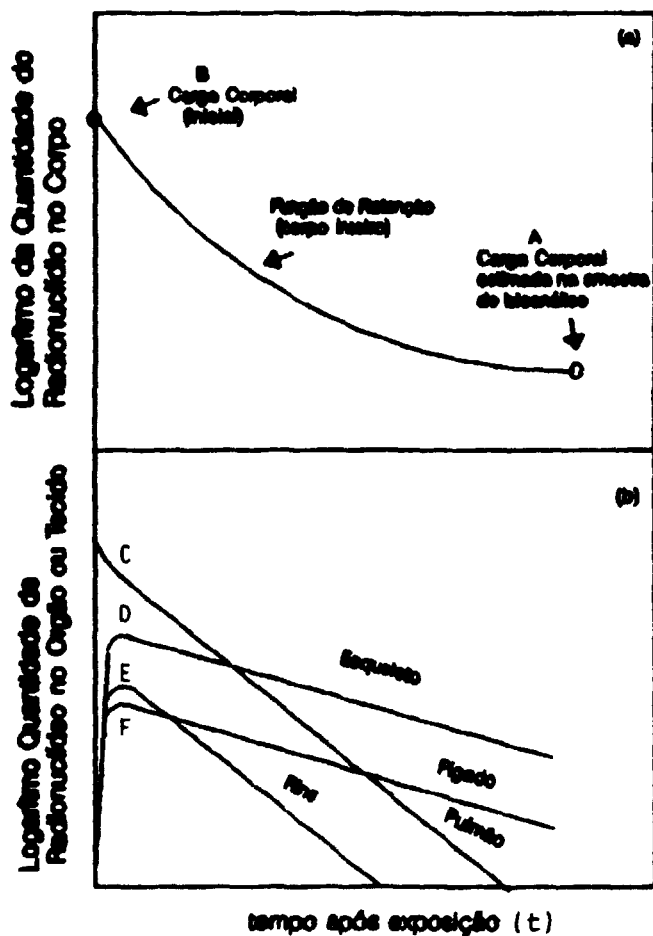


Fig. 2 Representação esquemática de um modelo geral que pode ser usado para interpretar os resultados de uma amostra de bioanálise *in vitro*. As quantidades de radionuclídeos no corpo inteiro (a) ou nos tecidos e órgãos (b) são expressas em logaritmo por causa das curvas de retenção.

particular radionuclídeo, considerando sua forma física e química.

Por causa dos vários processos biológicos, químicos e físicos, a carga corporal inicial calculada acima é distribuída entre vários órgãos e tecidos diferentes.

Com o uso de um modelo metabólico adequado, pode ser estimada a distribuição da carga corporal inicial entre os vários órgãos do corpo. A soma destas cargas corporais iniciais, representadas pelos pontos C, D, E e F na Figura 2b é igual à carga corporal inicial. O modelo biocinético apropriado pode ser usado para projetar a curva de retenção do radionuclídeo para cada órgão ou tecido de interesse. A dose de radiação recebida por cada órgão é então proporcional à área sob a curva de retenção do órgão respectivo como mostra a Figura 2b.

Na seção 5 são dados exemplos de bioanálise para radionuclídeos, cuja metodologia é usada no IPEN-CNEN/SP.

3. Conceitos de Análises Radioquímicas em Amostras de Bioanálise.

Para a detecção e quantificação de níveis pequenos de radionuclídeos em amostras de excreta, autópsia e biópsia, foram desenvolvidos um grande número de métodos e técnicas.

O desafio para o radioquímico está em desenvolver e obedecer os protocolos analíticos que resultarão em dados confiáveis nos níveis de seletividade e sensibilidade exigidos. Cada um destes protocolos analíticos tem duas partes básicas: o processamento químico da amostra e a quantificação do radionuclídeo presente na amostra processada resultante. Estas etapas são fundamentais para o resultado do processo analítico.

Esta secção (3) descreverá as características gerais dos métodos rotineiros disponíveis para análise de amostras de bioanálise in vitro.

3.1. Métodos Radioquímicos

3.1.1 Comentários Gerais

Com o propósito de detectar e avaliar possíveis incorporações de radionuclídeos por trabalhadores expostos à radiação, são realizados no mundo, cada ano, milhões de medidas de bioanálise para uma variedade de radionuclídeos, principalmente em urina e fezes.

O planejamento dos procedimentos analíticos usados devem balancear as exigências de exatidão e precisão em função do limite de tempo, trabalho, e outros recursos que estejam disponíveis. As exigências para a exatidão geralmente são

determinadas por considerações de monitoração de saúde e regulamentação.

As metodologias radioquímicas de uso geral são normalmente procedimentos bem estabelecidos que podem ser usados para satisfazer a maioria das exigências analíticas. Contudo, a qualidade de uma análise radioquímica específica não depende somente da adequacidade da metodologia usada, mas também da experiência e treinamento do analista radioquímico.

A seleção de um procedimento químico adequado deve estar baseado, em grande parte, na forma química esperada do radionuclídeo pesquisado. Algumas formas químicas são particularmente difíceis de serem dissolvidas e podem resultar em limitações analíticas, por exemplo: o dióxido de plutônio, que tem sido tratado por aquecimento em temperaturas elevadas. Este necessitará de um processamento complexo, para a extração quantitativa em amostras de fezes.

Se um procedimento inadequado é aplicado, uma fração significativa de plutônio poderá ser perdida. Por outro lado, o uso de procedimentos complexos poderá não ter um resultado efetivo se existissem somente formas químicas facilmente solúveis dos radionuclídeos presentes na amostra.

A seguir são descritos os elementos básicos de uma análise radioquímica rotineira, para amostras de urina e

fezes.

3.1.2 Conservação das Amostras

Amostras biológicas (urina, fezes, sangue e tecidos) estão naturalmente sujeitas à deterioração após a colheita. Amostras de urina sofrem decomposição, principalmente pela ação bacteriana que degrada a uréia em amônia e dióxido de carbono. O pH se altera, e observa-se um desprendimento gasoso e forte odor. Se as amostras não forem processadas imediatamente após a colheita, elas deverão ser preservadas pela acidificação com ácido mineral, na ordem de 0.1 mol/dm^3 , (o ácido mais indicado é o clorídrico, uma vez que o ácido nítrico oxida a matéria orgânica), ou pela adição de bactericidas, e posterior resfriamento. Amostras de fezes deverão ser, preferencialmente, congeladas. Amostras de sangue deverão ser congeladas ou tratadas com heparina para evitar a coagulação. Amostras pequenas de tecidos, com exceção dos casos de autópsia, necessitam apenas de resfriamento.

3.1.3 Preparação da Amostras

O volume da amostra de urina para a análise é geralmente de 0.5 a 1.0 dm^3 , enquanto que para a análise de fezes é uma evacuação inteira. Cada amostra de urina e fezes, para ser analisada contém uma quantidade muito pequena de

radionuclídeo de interesse, que está ligado em uma matriz complexa de outros constituintes químicos.

A maioria dos procedimentos radioquímicos requer que o radionuclídeo de interesse seja removido da matriz antes que medidas quantitativas possam ser feitas. Frequentemente, isto envolverá a destruição de uma parte tão grande quanto possível da matriz, por aquecimento da amostra em soluções ácidas ou por educação à cinzas em temperaturas elevadas. (maiores detalhes são dados no próximo item).

3.1.4 Preparo da Matriz (oxidação da matéria orgânica e ou dissolução dos sólidos).

Se a matéria orgânica presente na amostra for destruída antes da análise, o técnico poderá avaliar a forma química do radionuclídeo com maior segurança. Para amostras sólidas, esta etapa é essencial. Os métodos usuais consistem em reações com agentes químicos oxidantes em solução (abertura por via úmida) ou então calcinação a cinzas.

Após a destruição da matéria orgânica, o resíduo sólido é solubilizado. Os sólidos são constituídos principalmente de fosfatos, nitratos e sulfatos de elementos leves, como o sódio e o cálcio. É óbvio que só é necessário dissolver o radionuclídeo desejado, mas para se certificar disto, é melhor dissolver toda a amostra.

Urina calcinada e pequenas amostras de tecidos podem ser dissolvidas com ácidos minerais.

As cinzas provenientes das fezes não se dissolvem totalmente. Os complexos insolúveis de fosfatos e sulfatos de ferro, alumínio e magnésio (provenientes de medicação anti-ácida) permanecem em pequenas quantidades. Faz-se necessário, então, a utilização de ácidos minerais ou fundentes, para a quebra e a solubilização de compostos refratários.

3.1.5 Traçador para Rendimento Químico

O processo complexo da determinação quantitativa de traços de um radionuclídeo específico, da amostra biológica, é provável que envolva uma série de manipulações que podem resultar numa perda inevitável de algum radionuclídeo de interesse. Para se ter meios de corrigir esta perda, são acrescentados à amostra, tão logo que o processo permita, por exemplo, durante a preparação da amostra, quantidades conhecidas de um traçador radioativo ou não radioativo, com rendimento químico adequado. Além disso, devem ser mantidos em equilíbrio químico, o traçador e o radionuclídeo de interesse, antes que ocorra uma perda significativa deste último durante as manipulações químicas. Uma determinação do rendimento perdido do traçador, no fim da análise, indica também o quanto foi perdido do radionuclídeo. Desta maneira,

podem ser corrigidos os resultados analíticos do radionuclídeo de interesse.

3.2 Purificação Química

A purificação do radionuclídeo é feita, na grande maioria dos métodos, por extração por solvente ou por troca iônica.

Uma vez que o radionuclídeo de interesse tenha sido separado da amostra matriz e está presente na solução, é purificado de outros agentes químicos e impurezas de radionuclídeos por procedimentos adequados que possibilitem quantificá-lo dentro da amostra. Desde que a parte a ser analisada ("analyte") é somente uma fração muito pequena da amostra total, geralmente são necessárias várias etapas de purificação para se alcançar a sua pureza desejada. Cada uma dessas etapas deve ser suficiente na extração do "analyte", de outros interferentes presentes na amostra.

3.3 Preparação da Amostra para Contagem

O "analyte" uma vez purificado é preparado para medir a sua radioatividade. Dependendo do tipo de medida usada, a amostra pode estar tanto na forma líquida como na forma seca nos quais o "analyte" foi evaporado direto de uma solução aquosa ou eletrodepositado num pequeno disco de metal.

3.4 Medida da Radioatividade

Após a purificação do radionuclídeo e sua preparação para a medida da radioatividade, o analista deve usar um sistema apropriado para a contagem das radiações emitidas. A maioria dos radionuclídeos emitem um ou mais dos seguintes tipos de radiação: fótons, partículas beta, partículas alfa ou radiação gama. A escolha do instrumento depende dos tipos e níveis de emissões radioativas que estão presentes e das exigências de precisão, especificidade isotópica, sensibilidade, e tempo de contagem.

3.5 Limites de Detecção

A quantidade de um radionuclídeo excretado e coletado numa amostra de bioanálise decresce com o aumento do tempo, depois da incorporação do radionuclídeo. Por causa disto, serão exigidos procedimentos analíticos mais precisos e detectores mais sensíveis, quando o intervalo de tempo entre a incorporação do radionuclídeo e a colheita das amostras de excreta ou tecidos para propósitos de bioanálise aumenta. Se forem disponíveis materiais de referências padronizados apropriados, o método analítico pode ser colocado à prova com um alto grau de segurança, para avaliar sua capacidade de detecção ou de quantificação de um radionuclídeo selecionado quantitativamente conhecido.

A maioria dos laboratórios relatam um valor, com base estatística para o Limite Mínimo Detectável (LMD), para cada método analítico padronizado. Para avaliar este valor é necessário estabelecer níveis aceitáveis de duas fontes de erro:

- 1 - Um resultado positivo-falso, (atribuição de um conteúdo de radionuclídeo quando nada está presente).

- 2 - Um resultado negativo-falso, (atribuição de um conteúdo de radionuclídeo real a uma variação da radiação de fundo ou do branco, quando na realidade o radionuclídeo está presente).

O LMD é definido nesta publicação como a quantidade de um radionuclídeo numa amostra que será detectado com um grau de confiança de 95%, o que significa que há uma probabilidade de 5% de dar um resultado positivo-falso.

Os valores do LMD podem ser usados para a intercomparação de vários métodos e podem ser influenciados por um grande número de fatores analíticos tais como o tempo de contagem, tipo de amostra, recuperação química e variações entre "brancos adequados" ou determinações de radiação de fundo. Quando estes fatores são otimizados, a sensibilidade aumenta e o LMD decresce.

3.6 Garantia de Qualidade

A garantia de qualidade é fundamental no processamento das amostras de bioanálise a nível de traços, que devem ser conduzidas sob um programa de garantia de qualidade. Tal programa pode ser dividido em duas etapas: 1- avaliação da qualidade e 2- controle de qualidade. A avaliação da qualidade é o suporte administrativo para a fase do programa de controle de qualidade. A avaliação da qualidade inclui documentação de todos os aspectos do programa, definindo responsabilidades organizacionais, planejamento, ações corretivas, estabelecimento de exigências de qualificações, treinamentos para o pessoal técnico, controles de documentos e revisão do programa.

O controle de qualidade, ou medidas rotineiras de controle, inclui procedimentos tais como procedimentos no registro das amostras, procedimentos administrativos para cada amostra, revisão e atualização nos procedimentos.

O controle de qualidade também envolve o uso de mapas de controle e materiais de ensaio (por exemplo, amostras "brancas", não contendo nenhum radionuclídeo), calibração, manutenção de instrumentos, participação em comparação intra e inter-laboratórios, testes computacionais e revisão dos dados antes da liberação ao usuário.

Infelizmente, até a presente data, não existem exigências de capacidade mínima, nacionalmente aceitas para os laboratórios de radiobioanálise. Existe, contudo, a nível internacional, um comitê padrão de trabalho criado pelo American National Standards Institute (ANSI), que tem tratado desta necessidade e produziu uma minuta a respeito de critérios de desempenhos padronizados para radiobioanálise.

4. Perspectivas na Utilização dos Procedimentos de Bioanálise

Atualmente, amostras de bioanálise in vitro são geralmente usadas para propósitos de radioproteção, nas instituições que usam vários materiais radioativos. As amostras de bioanálise deste tipo possuem essencialmente dois propósitos:

- 1 - Verificação rotineira dos empregados para determinar em que extensão o nível de segurança individual exigido é adequado, observando os procedimentos de trabalho seguro e evitando o acúmulo de radionuclídeos depositados internamente.
- 2 - Investigação rápida da dimensão de uma possível deposição interna, indicada por uma análise positiva de amostras de bioanálise ou por outras indicações de que ocorreu uma incorporação.

A Tabela 1 mostra as técnicas de medidas de bioanálise utilizadas rotineiramente, na monitoração interna dos trabalhadores ocupacionalmente expostos do IPEN-CNEN/SP.

Tabela 1 Técnicas de Medida de Bioanálise Utilizadas Rotineiramente no IPEN-CNEN/SP.

Radionuclídeo	Matriz	Técnica de Medida	Tempo de Contagem (min)	L.M.D.*
^3H	urina	contilação líquida	10	0,3 kBq
^{131}I	urina	espectrometria gama	10	0,2 Bq
U nat.	urina	fluorometria em meio sólido	--	5 μBq
U, Th isotópico	urina e fezes	espectrometria alfa	1000	5×10^{-3} Bq

* L.M.D.: Limite Mínimo Detectável

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOECKER, B.; HALL, R.; INN, K.; LAWRENCE, J.; ZIEMER, P.; EISELE, G.; WACHHOLZ, B.; BURR, W. JR.; Current Status of Bioassay Procedures to Detect and Quantify Previous Exposures to Radioactive Materials. *Health Physics*.. 60(1):49-57, 1991.
2. METODOS in vitro para dosimetria interna (Apostila do Instituto de Radioproteção e Dosimetria / CNEN, Rio de Janeiro).

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Mauro da Silva Dias e A Dra. Leticia L. C. Rodrigues, pela leitura e revisão do manuscrito.