

**A Liofilização como Ferramenta na
Termoestabilidade de Vacinas de mRNA no
Combate ao SARS-CoV-2
Experiência Profissionalizante na Vertente de
Farmácia Comunitária e Investigação**

Versão Final após defesa

Gabriel Cruz Antunes

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
(Mestrado Integrado)

Orientadora: Prof. Doutora Fani Pereira de Sousa

abril de 2023

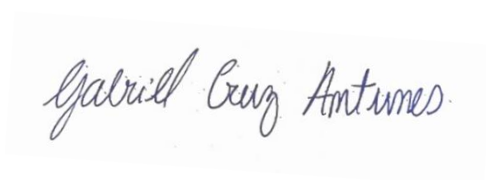
Folha em branco

Declaração de Integridade

Eu, Gabriel Cruz Antunes, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 37380 do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 03/04/2023

A handwritten signature in blue ink that reads "Gabriel Cruz Antunes". The signature is written in a cursive style and is centered within a light gray rectangular box.

(assinatura conforme Cartão de Cidadão)

Folha em branco

Agradecimentos

Venho, por este meio, agradecer a todos aqueles que, de certa forma, me permitiram chegar até aqui e que contribuíram para o alcançar de mais uma etapa neste longo percurso.

Agradeço à Professora Doutora Fani Sousa, minha orientadora, por todos os esclarecimentos, disponibilidade e simpatia, por todo o conhecimento transmitido, porque sem ela este trabalho não seria possível.

Agradeço à Doutora Ana Raquel Andrade, Diretora Técnica da Farmácia Moderna, pela fantástica experiência proporcionada na vertente de Farmácia Comunitária. Agradeço a toda a equipa da farmácia Moderna pela forma calorosa que me acolheram e por todo o conhecimento transmitido.

Aos meus pais, porque sem eles eu não teria alcançado esta etapa. Pelo apoio, força, amor e coragem que me transmitiram durante todos estes anos.

A todos os meus amigos, àqueles que já tinha e que ficaram a meu lado durante esta jornada, e àqueles que com quem iniciei esta caminhada, que me acompanharam, apoiaram, e que seguramente continuarão a fazê-lo por muitos mais anos.

A todos os meus afilhados, pelo apoio, pela disponibilidade, e pela amabilidade para comigo e com os outros.

Folha em branco

Resumo

As vacinas, são ferramentas indispensáveis no combate a doenças, que sem a existência destas seriam altamente letais. Com o avanço do conhecimento científico, diferentes tipos de vacinas foram desenvolvidos, sempre com o objetivo de proteger o ser humano e alguns animais de diversas patologias que foram surgindo ao longo da história. Mais recentemente, a comunidade científica, tem olhado para os ácidos nucleicos, nomeadamente para o RNA mensageiro (mRNA), como uma aposta segura e eficaz na entrega do antígeno de interesse, como é discutido no Capítulo I da dissertação.

Com o aparecimento de novos vírus, como foi o caso do vírus respiratório responsável pela COVID-19, o SARS-CoV-2, o qual se disseminou por todo o mundo, foi necessário o desenvolvimento de uma vacina capaz de desacelerar o avanço epidemiológico e diminuir o número de internamentos e morte de pessoas infetadas. A tecnologia do mRNA como molécula codificadora do antígeno, aliado à formulação de nanopartículas lipídicas, levou à elaboração de duas vacinas, uma criada pela Moderna e outra pela Pfizer/BioNTech. Estas vacinas provaram ser eficazes e seguras, no entanto, quanto à sua conservação e transporte, as mesmas, teriam de ser transportadas em cadeia ultrafria, o que nem sempre é possível ou viável, quando se trata de um meio com elevadas condicionantes económicas. Por isso, e com vista a melhorar a estabilidade térmica do mRNA foram estudados vários métodos onde essa estabilidade pudesse ser assegurada. Pensou-se em fazer algumas alterações na estrutura física e química do RNA, reformular as partículas lipídicas de modo a diminuir a água presente no núcleo da nanopartícula, e por fim, o *freeze-drying* ou a liofilização.

Concluiu-se que a liofilização é a alternativa mais eficaz e segura de melhorar a termoestabilidade do mRNA, pois não só o complexo LNP/mRNA não sofre alteração significativa de tamanho e forma durante o processo de *freeze-drying*, mas também a conservação pode ser feita a uma temperatura de 4 °C, sem haver a necessidade de uma cadeia ultrafria. Com isto, o alcance deste tipo de vacinas poderá vir a ser superior, mais económico e com menor constrangimento logístico, levando a um melhoramento da qualidade de vida e saúde da população global.

O Capítulo II é o resultado do estágio realizado em Farmácia Comunitária, que decorreu na Farmácia Moderna, na cidade da Guarda, no período de 22 de fevereiro a 1 de julho de 2021, sob a orientação da Dr.^a Ana Raquel Andrade. Neste capítulo encontra-se descrita toda a minha experiência profissional, desde o funcionamento da farmácia à apresentação das tarefas e atividades desempenhadas ao longo deste período.

Palavras-chave

Vacinas; mRNA; Termoestabilidade; Liofilização; Farmácia Comunitária

Folha em branco

Abstract

Vaccines are indispensable tools in the fight against diseases, which without them would be highly lethal. With the advancement of scientific knowledge, many different types of vaccines have been developed, always with the aim of covering and protecting humans and some animals from various pathologies that have emerged throughout history. More recently, the scientific community has looked to nucleic acids, namely messenger RNA, as a safe and effective alternative for delivering the antigen of interest, as discussed in Chapter I of this Thesis.

With the emergence of new viruses, such as the respiratory virus responsible for COVID-19, SARS-CoV-2, which spread throughout the world, it was necessary to develop a vaccine capable of slowing down the epidemiological advance and decrease the number of hospitalizations and deaths. The mRNA technology as a molecule that holds the virus antigen, combined with the formulation of lipid nanoparticles, led to the development of two vaccines, one created by Moderna and the other by Pfizer/BioNTech. These vaccines proved to be effective and safe, however, in terms of their conservation and transport, they would have to be distributed in an ultra-cold chain, which is not always possible or feasible when it comes to low incoming countries. Therefore, and with a view to improving thermal stability, several strategies were studied, where this stability could be assured. It was thought of making some changes to the physical and chemical structure of RNA, reformulating the lipid particles to reduce the water present in the nanoparticle core, and finally, freeze-drying or lyophilization.

It was concluded that lyophilization is the most effective and safe alternative to improve thermostability, since not only the LNP/mRNA complex does not undergo a significant change in size and shape during the freeze-drying process, but also conservation can be done at a temperature of 4 °C, without the need for an ultra-cold chain. With this, the reach of this type of vaccines could be superior, more economical and with less logistical constraint, leading to an improvement in the quality of life and health of the global population.

Chapter II is the result of the internship carried out in Community Pharmacy, which took place at Farmácia Moderna, in the city of Guarda, from February 22 to July 1, 2021, under the guidance of Dr. Ana Raquel Andrade. In this chapter, all my professional experience is described, from running the pharmacy to presenting the tasks and activities carried out during this period.

Keywords

Vaccines; mRNA; Thermostability; Lyophilization; Community Pharmacy

Folha em branco

Índice

Declaração de Integridade	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Palavras-chave	viii
Abstract	x
Keywords	xi
Índice	xiii
Lista de figuras	xvii
Lista de tabelas	xviii
Lista de acrónimos	xix
Capítulo I- A Liofilização como Ferramenta na Termoestabilidade de Vacinas de mRNA no Combate ao SARS-CoV-2	1
1.Introdução	1
1.1. Contextualização do tema	1
1.1.1. Novos desenvolvimentos	1
1.2. Classificação das vacinas quanto ao RNA mensageiro	2
1.2.1. Vacinas de mRNA não replicante	2
1.2.2. Vacinas de mRNA autoamplificador	2
1.2.3. Trans amplificação do mRNA	2
1.3. Vantagens e limitações	3
1.3.1. Vantagens perante outras vacinas	3
1.3.2. Vantagens inerentes	3
1.3.3. Limitações	4
1.4. Formulações e sistemas de entrega	4
1.4.1. Nanopartículas de lípidos (LNP)	5
1.4.2. Entrega à base de polímeros	7
1.4.3. Entrega à base de péptidos	8
1.4.4. Partículas de replicões semelhantes a vírus	10
1.4.5. Nanoemulsões catiónicas	11
2. O Novo vírus: SARS-CoV-2	13
2.1. Caraterização genética e estrutural	13
2.2. Mecanismo de entrada	14
2.3. Vias de transmissão	14

2.4. Período de incubação e sintomatologia	15
2.5. Diagnostico da infeção	16
2.6. Abordagem terapêutica	16
3. Vacinas de mRNA contra o SARS-CoV-2 aprovadas	17
3.1. mRNA-1273	17
3.2. BNT162b2	18
4. Estabilidade das vacinas de mRNA	20
4.1. Estabilidade físico-química	20
4.1.1. Avanços	20
4.2. Termoestabilidade	21
4.2.1. Vacina mRNA-1273	21
4.2.2. Vacina BNT162b2	22
4.2.3. Relação com a formulação	22
4.2.4. <i>Freeze-drying</i> ou liofilização	22
5. Conclusão	25
6. Referências bibliográficas	26
Capítulo II – Estágio em Farmácia Comunitária	33
1. Introdução	33
2. Organização da farmácia	34
2.1. Localização e caracterização da farmácia Moderna	34
2.2. Instalações	34
2.2.1. Área de atendimento, exposição de produtos e aconselhamento	35
2.2.2. Armazém e back-office	36
2.2.3. Gabinetes de atendimento ao utente	37
2.2.4. Área de receção e gestão de encomendas	37
2.2.5. Laboratório	37
3. Recursos humanos	37
4. Documentação científica e suporte informático	38
5. Aprovisionamento e armazenamento	39
5.1. Pedido de encomendas	39
5.2. Receção de encomendas	40
5.3. Armazenamento e controlo de temperatura e humidade	41
5.4. Controlo dos prazos de validade	41
5.5. Marcação de preços	42
5.6. Devolução de produtos	42
6. Dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde	43

6.1. Medicamentos sujeitos a receita médica	44
6.1.1. MSRM especial	45
6.1.1.1. Psicotrópicos e estupefacientes	46
6.1.2. Vendas suspensas	46
6.1.3. Planos de Comparticipação	47
6.2. Medicamentos não sujeitos a receita médica	48
6.2.1. Automedicação	48
6.3. Outros produtos de saúde	49
7. Interação farmacêutico-utente-medicamento	51
7.1. Caso clínico nº 1	52
7.2. Caso clínico nº 2	53
8. Preparação de medicamentos	53
8.1. Medicamentos manipulados	53
8.2. Preparação extemporânea	54
8.3. Preparação individualizada de medicação	54
9. Serviços prestados	54
10. Ações de Formação	55
11. Contabilidade e gestão	56
11.1. Processamento do receituário e faturação	56
12. VALORMED	57
13. COVID-19	57
13.1. Regras e funcionamento	58
14. Conclusão	59
15. Referências bibliográficas	61

Folha em branco

Lista de Figuras

Figura 1. Caracterização genética e estrutural do vírus SARS-CoV-2.	14
Figura 2. Esquema representativo e comparativo da formulação das 2 vacinas.	19
Figura 3. As diferentes fases da liofilização, representadas num gráfico de Pressão/Temperatura.	23

Lista de Tabelas

Tabela 1. Síntese das vantagens e limitações dos diferentes tipos de formulações.

5

Lista de Acrónimos

A/O	Emulsões água/óleo
ACE2	Recetor da enzima conversor da angiotensina 2
AIM	Autorização de introdução no mercado
ALC-0315	4-hidroxiutil(azanedil) bis(hexano-6,1-diil) bis(2-hexildecanoato)
ApoE	Apolipoproteína E
BDNP	Base de dados nacional de prescrições
CCM-SNS	Centro de monitorização do SNS
CNE	Nanoemulsões catiónicas
CNP	Código nacional do produto
CNPEN	Código nacional para a prescrição eletrónica de medicamentos
CPPs	Péptidos penetradores de célula
DCI	Denominação comum internacional
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOPE	1,2-dioleoil-sn-3-fosfoetanolamina
DOTAP	1,2-dioleoil-3-trimetilamónio-propano
DSPC	1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina
dsRNA	RNA de cadeia dupla
FM	Farmácia Moderna
hCMV	Citamegalovirus humano
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IVA	Imposto sobre o valor acrescentado
KUN	Vírus kunjin
LNP	Nanopartículas de lípidos
MERS	Síndrome respiratória do Médio Oriente
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MNSRM	Medicamento não sujeito a receita médica
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
MSRM	Medicamento sujeito a receita médica
NE	Nanoemulsões
NLC	Transportador nanolipídico
NRM	mRNA não replicante
nsPs	Proteínas não estruturais
O/A	Emulsões óleo/água
OMS	Organização mundial de saúde
ORF	Estrutura aberta de leitura
PBAEs	Poli β-aminoésteres
PEG	Polietilenoglicol
PEG2000- DMA	2(Polietilenoglicol-2000) -N, N- ditetradecilacetamida
PEG2000- DMG	1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metoxipolietilenoglicol-2000
PEI	Polietilenimina
PIC	Preço impresso na cartonagem
PLGA	Poliácido láctico-co-glicólico

PRM	Problemas relacionados com a medicação
PRR	Recetores de reconhecimento padrão
PVF	Preço de venda à farmácia
PVP	Preço de venda ao público
RNA	Ácido ribonucleico
RNases	Ribonucleases
RNM	Resultados negativos da medicação
rRT-PCR	Transcrição reversa associada à reação de polimerização em cadeia pela polimerase, em tempo real
RSV	Vírus sincicial respiratório
SAM	mRNA autoamplificador
SARS	Síndrome respiratória aguda
SD	<i>Spray drying</i>
SFD	<i>Spray freeze drying</i>
SM-102	Heptadecan-9-il 8-[(2-hidroxi)etil] 8-(noniloxi) -8-oxocetil) amino] octanoato
SNS	Sistema nervoso central
SNS	Serviço nacional de saúde
ssRNA	RNA de cadeia simples
taRNA	Transamplificação do mRNA
TBEV	Vírus da encefalite transmitida pela carraça
TMPRSS2	Protease serina-serina transmembranar celular
TRS	Trato respiratório superior
UTRs	Zonas não traduzidas
VRP	Replicões semelhantes a vírus
WNV	Vírus do Nilo Ocidental

Folha em branco

Capítulo I - A Liofilização como Ferramenta na Termoestabilidade de Vacinas de mRNA no Combate ao SARS-Cov-2

1. Introdução

1.1. Contextualização do tema

A imunização salva milhões de vidas todos os anos, sendo considerada uma vitória na promoção da saúde mundial. As vacinas induzem o funcionamento do próprio sistema imunitário, reduzindo assim o risco de contrair a doença.⁽¹⁾ Até agora, devido à existência de vacinas já foi possível prevenir mais de 20 doenças potencialmente fatais, tais como a varíola, a difteria, a poliomielite e o sarampo, no qual a vacinação foi recomendada em crianças e onde se verificou uma diminuição drástica de casos de infecção, hospitalizações, mortalidade e de custos na saúde.⁽¹⁾⁽²⁾

As vacinas administradas podem ser divididas em categorias dependendo da forma como são preparadas, podendo ser vacinas vivas-atenuadas, vacinas inativadas, vacinas de subunidade, vacinas conjugadas e toxoides.⁽³⁾ No entanto, as vacinas vivas atenuadas apresentam as suas limitações como, por exemplo, o risco de reversão. Para além disso, durante a replicação do vírus no nosso corpo podem ocorrer mutações, que podem resultar em estirpes mais virulentas.⁽⁴⁾ Uma outra abordagem pode ser a administração de antígenos que consistem em subunidades individuais derivados do agente virulento. Contudo, estas vacinas são menos potentes e necessitam de adjuvantes para aumentar as respostas imunológicas.⁽⁵⁾ Por outro lado, as vacinas inativadas podem não produzir respostas protetoras ou podem até mesmo levar a efeitos colaterais.⁽⁶⁾ Globalmente, estas abordagens têm limitações para infeções crónicas, para as quais a resposta imune celular é essencial para conter a infeção.⁽⁷⁾ Essas limitações proporcionaram o impulso necessário ao desenvolvimento de novas estratégias de imunização.⁽⁵⁾

1.1.1. Novos desenvolvimentos

Nas últimas décadas, surgiu um maior leque de novas tecnologias de vacinação, tais como as baseadas em ácidos nucleicos. Estas vacinas baseiam-se, em DNA ou RNA que codifica um antígeno.⁽⁸⁾ O RNA mensageiro (mRNA) é o passo intermediário entre a expressão do DNA codificante para a proteína e a produção da proteína pelos ribossomas no citoplasma.⁽⁹⁾

Atualmente, são estudados dois tipos de vacinas de mRNA, mRNA não replicante (NRM) e mRNA autoamplificador (SAM).⁽¹⁰⁾ Em ambas as situações, a molécula de mRNA resultante deve conter, idealmente, uma estrutura aberta de leitura (ORF) que codifica a proteína de interesse, acompanhado de regiões 5' e 3' não traduzíveis (UTRs), uma capa 5' e uma cauda 3' de poli(A).⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾ As reações de transcrição são realizadas por RNA polimerases (T7, T3 ou S6) de um bacteriófago, a partir de modelos de DNA linear ou contidos num plasmídeo.⁽⁷⁾ O mRNA obtido assemelha-se a moléculas de mRNA maduras totalmente processadas, como acontece naturalmente no citoplasma de células eucarióticas.⁽¹¹⁾

1.2. Classificação das vacinas quanto ao RNA mensageiro

1.2.1. Vacinas de mRNA não replicante

As vacinas de mRNA não replicante ou convencionais são teoricamente similares às moléculas de mRNA da célula hospedeira, uma vez que, codificam apenas o antígeno de interesse.⁽⁵⁾⁽⁹⁾ As NRM são moléculas mais simples e pequenas, daí a possibilidade reduzida de uma resposta inesperada por parte do sistema imunitário, uma vez que mais nenhuma proteína é codificada para além do antígeno de interesse.⁽¹¹⁾ No entanto, doses mais altas de mRNA podem ser necessárias, visto que a expressão desta molécula é menor devido à sua presença transitória nas células.⁽¹⁰⁾⁽¹⁵⁾

1.2.2. Vacinas de mRNA autoamplificador

As SAM incluem mRNA de cadeia positiva (+) simples que codifica a maquinaria de replicação genética, normalmente proveniente de um *alfavírus*, contendo genes de proteínas não estruturais (nsPs), e a substituir os genes que codificam para proteínas estruturais, é colocada uma cassete contendo o antígeno.⁽⁹⁾⁽¹⁶⁾ A RNA polimerase, dependente do RNA viral, é retida, sendo as replicases adicionais que vão ser capazes de direcionar a amplificação citoplasmática.⁽¹⁶⁾ Estes replicões transcritos, devido ao modelo de amplificação de RNA nas células hospedeiras, expressam grande níveis de antígenos, que depois são detetados pelo sistema inume inato e adaptativo.⁽¹⁶⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁷⁾

1.2.3. Trans amplificação do mRNA

Com o progresso e avanço científico no campo da entrega de vacinas à base de mRNA, surgiu uma nova modalidade estrutural denominada por trans amplificação do mRNA (taRNA). Este tem como base o processo de

autoamplificação de mRNA, no entanto apresenta dois moldes independentes, um contém o sistema replicase, e o outro o gene de interesse. Este sistema de transcrição traz algumas vantagens, como o facto de os dois vetores trabalharem de forma independente, podendo ser otimizados separadamente. Também pode ser mais seguro, simples, eficiente em termos de tempo e custos de produção.⁽¹⁸⁾

1.3. Vantagens e limitações das vacinas de mRNA

1.3.1. Vantagens perante outras vacinas

As vacinas de mRNA são promissoras, pois, para além de apresentarem uma abordagem segura e potente, também representam uma alternativa às vacinas vivas atenuadas, baseadas em subunidades, inativas e até mesmo vacinas de DNA.⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾ O mRNA combina características imunológicas de vacinas vivas atenuadas, como a expressão de antígenos endógenos e indução de células T, com aquelas de vacinas mortas ou de subunidade, como a segurança e composição definida.⁽¹¹⁾ O mRNA ativa a imunidade inata, ligando-se a receptores de reconhecimento padrão (PRR).⁽²¹⁾ Estas vacinas podem ser projetadas para serem autoadjuvantes, uma característica que as vacinas baseadas em péptidos e proteínas não apresentam. Em comparação com as vacinas de péptidos, as vacinas de mRNA não têm restrição de haplótipos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC).⁽¹¹⁾

1.3.2. Vantagens inerentes

As vacinas de mRNA têm a capacidade de induzir, após a sua absorção e expressão celular, uma resposta imunológica humoral e celular.⁽²²⁾ O mRNA é considerado material hereditário mínimo, já que não necessita de atravessar o núcleo para a expressão proteica.⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽²⁰⁾ Por consequência, permite a transfeção de células que não se dividem ou que se dividem lentamente, como as células dendríticas.⁽⁷⁾⁽¹¹⁾ O mRNA também contorna a imunidade anti vetor que atualmente é uma limitação ao uso de vetores virais.⁽²²⁾ Devido a essa capacidade, as vacinas de mRNA podem ser utilizadas de forma regular.⁽²⁰⁾ Após a administração destas vacinas, e como a expressão do antígeno é transitória, não há o esgotamento das células T, que pode decorrer de uma exposição contínua ao antígeno.⁽⁵⁾

Assim, as vacinas de mRNA têm o potencial para suportar vários alvos terapêuticos, podendo, além disso, ser obtidas através de uma produção rápida, simples e versátil.⁽²²⁾

1.3.3. Limitações

O grande problema deste tipo de vacinas é o facto de que o RNA é bastante instável, pois esta molécula é suscetível à ação das ribonucleases (RNases), o que pode limitar o seu uso terapêutico. Para mRNAs carregados negativamente, a travessia por difusão passiva pela membrana celular pode ser dificultada, exigindo a utilização de sistemas de entrega adequados.⁽²⁰⁾ A integridade da molécula de mRNA é fulcral para a potência enquanto vacina. Alguma reação de degradação que ocorra em qualquer região da cadeia de mRNA, pode limitar ou interromper a tradução adequada, podendo resultar na expressão inadequada, incompleta ou incorreta da proteína alvo.⁽²³⁾

1.4. Formulações e sistemas de entrega

Neste tópico serão abordados os diferentes tipos de formulações e sistemas de entrega de mRNA, que foram, até ao momento, estudados. A tabela seguinte serve como esquema síntese dos mesmos, apresentando para cada um as suas vantagens e limitações e que serão apresentados de forma detalhada nos subtópicos seguintes.

Tabela 1. Síntese das vantagens e limitações dos diferentes tipos de formulações.

Sistemas de entrega	Vantagens	Limitações
Nanopartículas de lípidos	Apresentam um elevado perfil de segurança, quando comparadas com outras formulações. O tamanho reduzido é ideal para encapsular mRNA. Podem ser integrados lípidos catiônicos, encapsulando o RNA através de interações eletrostáticas.	Para lípidos não bio miméticos poderá haver risco de alguma toxicidade.
Entrega à base de polímeros	São estáveis, pouco citotóxicos e uma elevada diversidade química. Pode ser introduzido um ligando de reconhecimento na superfície do polímero. Capacidade de proteger o RNA das RNases. Podem servir de revestimento em nanopartículas, impedindo a agregação.	A polidispersividade e a clearance destas moléculas. A biodegradação de polímeros com pesos moleculares elevados.
Entrega à base de péptidos	Baixa toxicidade. O uso de péptidos penetradores de célula (CPPs), especialmente aqueles carregados positivamente, interagem melhor com o RNA. Podem oferecer uma via alternativa à parenteral, como por exemplo, a via intra-traqueal.	Fraca indução de uma resposta imunológica em complexos mRNA-protamina.
Partículas de replicões semelhantes a vírus	Elevada expressão de proteínas heterólogas codificadas, devido à eficiente amplificação do replicão de RNA. A ausência de intermediários de DNA, sendo a replicação, exclusivamente, citoplasmática, a impossibilidade do replicão sair do interior da célula, e "infetar" outras células. A facilidade de construção deste tipo de vacinas.	A potencial reconstituição do genoma viral, através de sequências celulares, e assim comprometer a segurança deste sistema de entrega. A produção pode tornar-se difícil, visto que são usadas linhas celulares.
Nanoemulsões catiônicas	Veículo eficaz de entrega de fármacos pouco solúveis em água. Oferece uma grande biodisponibilidade. São seguras e não irritantes para entrega na pele e/ou mucosas. Oferecem um aumento na taxa de absorção e proteção contra a hidrólise e oxidação para emulsões O/A. A libertação e a permeação podem ser controladas.	

1.4.1. Nanopartículas de Lípidos

Formulações com base estrutural lipídica, *lipido-like*, ou mesmo derivados lipídicos como, por exemplo, nanopartículas de lípidos, mais conhecidos por LNPs, têm sido amplamente usadas na entrega de vacinas de mRNA.⁽²⁴⁾ Os lípidos usados são normalmente de origem biológica ou sintética, sendo que a biocompatibilidade tem de ser elevada, visto que, poderá haver risco de alguma toxicidade. Posto isto, as LNPs apresentam um elevado perfil de segurança, quando comparadas com nanopartículas poliméricas e com outros lípidos.⁽²⁵⁾ Estas nanopartículas lipídicas, devido ao tamanho reduzido e propriedades físico-químicas podem encapsular moléculas, tais como o mRNA. Com isto, o mRNA fica protegido do ataque enzimático, assegurando assim, uma biodistribuição controlada e entrega

localizada, e ainda um aumento na absorção e expressão celular, quando comparado com o mRNA livre.⁽²⁶⁾ As formulações com base em lípidos podem interferir com a absorção do RNA de várias formas, nomeadamente devido ao aumento da permeabilidade da membrana, inibição dos transportadores de efluxo, redução das enzimas CYP e ainda por aumento da produção de quilomicon e o transporte linfático.⁽²⁵⁾ Os LNPs conseguem, através de vários mecanismos de endocitose, por exemplo, a endocitose mediada por caveolina ou mesmo a endocitose dependente da apolipoproteína E (ApoE), entregar de uma forma eficaz o RNA mensageiro no interior da célula.⁽²⁷⁾ Quanto ao tamanho ideal para a entrega e eficácia destas vacinas, e considerando um estudo realizado com o intuito de perceber a relação entre o tamanho das partículas de LNP e a resposta imune gerada, concluiu-se que todas as partículas geradas entre 60 e 150 nm, podem produzir uma resposta imune forte em primatas.⁽²⁸⁾

Atualmente, a nova aposta, dentro desta tecnologia, são as nanopartículas lipídicas contendo lípidos ionizáveis, nomeadamente catiónicos, sendo que estes, a um determinado pH, vão encapsular as moléculas de RNA, por interações eletrostáticas, devido à sua carga negativa.⁽²⁶⁾⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾ LNPs carregados positivamente, neutralizam os lípidos aniónicos presentes na célula, permitindo a libertação do RNA no interior.⁽³⁰⁾⁽³¹⁾ Como se trata de moléculas que interagem através de interações eletrostáticas, o pKa destes sistemas tem de ser, por norma, suficientemente alto para que os grupos hidrofílicos destes lípidos se encontrem protonados, ou seja, carregados positivamente, facilitando a interação com o mRNA.⁽³⁰⁾ Exemplos de alguns destes lípidos catiónicos incluem o 3β-[N(N',N'dimetilaminoetano)-carbamoil]colesterol, mais conhecido por DC-Chol, o dimethyldioctadecylammonium ou DDA, o 1,2-dioleoil-3-trimetilamonio-propano (DOTAP) e o 1,2-dioleoil-sn-3-fosfoetanolamina (DOPE). Estas moléculas podem ser combinadas na mesma formulação, otimizando a entrega de vacinas de mRNA com sistema de autoamplificação (SAM), sendo estas alternativas mais efetivas quando comparadas com nanopartículas lipídicas iónicas.⁽¹⁷⁾ Podem ser feitas alterações dos LNPs ou dos lipossomas, com o objetivo de aumentar tanto a eficácia como a especificidade, dos quais se podem destacar a integração de ligandos à superfície, como anticorpos, de modo a proporcionar uma entrega mais direcionada ao alvo. Também a adição de polietilenoglicol (PEG) aos conjugados lipídicos pode ser benéfica, uma vez que aumenta a concentração plasmática, a internalização celular e a própria libertação do RNA.⁽³¹⁾

Por outro lado, com a formulação do mRNA, é formada uma cápsula, onde o mRNA se encontra no interior, envolvido pelo LNP ionizável e água. No entanto, a

exposição do mRNA à água é possivelmente o fator que mais contribui para a sua instabilidade, sendo essencial controlar este parâmetro. Isto pode ser feito, por exemplo, pela otimização do pH, melhorando a estabilidade do mRNA durante o armazenamento.⁽³²⁾

Em suma, as vacinas de mRNA formuladas por LNPs demonstraram ser capazes, não só de prevenir doenças infecciosas, mas também foram úteis no tratamento de cancro, ainda que a um nível de estudos pré-clínicos e clínicos.⁽²⁴⁾

1.4.2. Entrega à base de polímeros

Os polímeros ou materiais poliméricos, onde estão incluídos os polimetacrilatos, os dendrímeros e polissacarídeos,⁽³³⁾ têm sido usados na formulação de fármacos e podem apresentar uma estrutura linear, ramificada, ou simétrica radial, como a encontrada no caso dos dendrímeros.⁽³¹⁾ Os dendrímeros possuem vários atributos, dos quais se destacam a estabilidade, a baixa citotoxicidade, a diversidade química e ainda a capacidade de adicionar um ligando específico de reconhecimento na superfície do dendrímero. Estas características tornam os dendrímeros em potenciais candidatos para a entrega de moléculas como o RNA.⁽³¹⁾

Os polímeros, tal como os lípidos, são também capazes de proteger o mRNA da degradação mediada pelas RNases, e ainda facilitar a sua entrega ao nível intracelular.⁽³³⁾ Estes sistemas de entrega são similares aos lipossomas, na medida em que são capazes de utilizar diferentes mecanismos de libertação do RNA a partir do polímero, assim que a nanopartícula é internalizada dentro da célula alvo. Um desses mecanismos envolve a quebra das ligações dissulfureto existentes no polímero, após o contacto com o ambiente redutor do citoplasma.⁽³¹⁾

No entanto, em relação aos lípidos, os materiais poliméricos apresentam algumas limitações, tais como, aquelas relacionadas com a polidispersividade e com clearance ou mesmo a biodegradação de polímeros com pesos moleculares elevados.⁽³³⁾ Apesar destas limitações, os polímeros são versáteis, ou seja, alterações poderão ser feitas nas suas estruturas, como a adição de grupos hidroxilo, com o propósito de aumentar a hidrofiliabilidade, e a adição de cadeias alquílicas, que permitem a ligação e incorporação dos polímeros em nanopartículas à base de lípidos.

Muitas vezes, os polímeros também fazem parte de estruturas mais complexas como, por exemplo, a formulação de nanopartículas híbridas de mRNA compostas por um lípido-*like* catiónico GO-C14 e um polímero designado de poliácido láctico-co-glicólico (PLGA), onde as nanopartículas formadas foram revestidas por um complexo lípido-PEG. Neste exemplo em concreto o GO-C14 pode ser usado para

complexar o mRNA e o PLGA é selecionado por ser biodegradável e biocompatível. Neste estudo os autores verificaram a formação de nanopartículas estáveis sem alterações significativas no seu tamanho durante 48 horas.⁽³⁴⁾

Uma outra particularidade dos polímeros, enquanto moléculas versáteis, é o facto de poderem servir como revestimento das nanopartículas, contribuindo para a estabilização da nanopartícula e impedindo a agregação.⁽³⁵⁾ A partir destas alterações químicas e estruturais, os polímeros têm a capacidade de melhorar o sistema de entrega do RNA.⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾ Polímeros catiónicos, a partir do qual foram obtidas nanopartículas, demonstraram a capacidade de entregar DNA e RNA. Um dos exemplos desses polímeros catiónicos é o polietilenimina (PEI), que tem sido investigado como um potencial veículo destas moléculas, uma vez que este polímero apresenta uma grande densidade de grupos amina, que facilmente interagem e complexam com os ácidos nucleicos, carregados negativamente. Este também é capaz de neutralizar parte do ambiente endossómico ácido, que se verifica após a internalização da nanopartícula por endocitose.⁽³⁷⁾ Contudo, o PEI gera alguma preocupação no que toca à toxicidade e também, pelo facto, de este não ser degradável, podendo, deste modo, limitar o seu uso a nível clínico. Para ultrapassar este inconveniente apresentado pelo PEI, foram desenvolvidos poli β -aminoésteres (PBAEs), polímeros catiónicos degradáveis que apresentaram um grande potencial como sistemas de entrega de ácidos nucleicos, *in vitro* e *in vivo*.⁽³⁷⁾

Concluindo, os polímeros são potenciais candidatos e demonstraram ser capazes de encapsular e entregar vacinas de mRNA. No entanto, serão precisos novos avanços de forma a apresentar polímeros com uma melhor biodegradabilidade e que permitam uma entrega mais eficiente das vacinas de mRNA formuladas.⁽²⁴⁾

1.4.3. Entrega à base de péptidos

Os péptidos podem ser usados na entrega de vacinas de RNA, podendo ser incorporados em diversos sistemas de entrega, como por exemplo, nanopartículas, lipossomas, emulsões, entre outros. Eles também são estudados como agentes em vacinas, contendo apenas epítotos capazes de induzir uma resposta imunitária em células T e B. Estas vacinas peptídicas são compostas por sequências de 20 a 30 aminoácidos, formando um péptido que mimetiza o epítoto específico de um antigénio.⁽³⁸⁾

Os péptidos, nomeadamente péptidos penetradores de célula (CPPs), interagem mais facilmente com o RNA, através de interações eletrostáticas, quando carregados positivamente, visto que as moléculas de RNA são carregadas

negativamente.⁽³⁹⁾ Estes CPPs podem ser categorizados em três grupos distintos: os CPPs catiónicos como a penetratina e a poli-arginina, onde os resíduos de arginina e lisina conferem a estes péptidos carga positiva; os CPPs anfipáticos, onde os resíduos catiónicos se encontram separados por resíduos hidrofóbicos, sendo exemplos o Transportan e o Pep-1; e por fim os CPPs hidrofóbicos.⁽³⁹⁾

Os CPPs têm sido estudados devido ao seu potencial como vetores, visto que, apresentam, tal como o próprio nome sugere, uma capacidade de penetrar e entregar ácidos nucleicos dentro da célula. Mesmo que estes mecanismos de internalização ainda não estejam totalmente compreendidos, uma das várias hipóteses, é que estes péptidos promovam a agregação de glicosaminoglicanos, carregados negativamente, na superfície da célula, podendo ativar uma macropinocitose ou mesmo levar a uma direta disrupção da bicamada lipídica.

Foi demonstrado o grande potencial de complexação de mRNA de um CPP anfipático rico em arginina, denominado de RALA. O RNA mensageiro formulado com RALA resultou na transferência de mRNA e facilitou a libertação do mRNA dos endossomas para o citoplasma, e como resultado, uma grande expressão antigénica por parte das células dendríticas e a estimulação das células T *in vivo*.⁽³³⁾⁽⁴⁰⁾ No entanto, a capacidade de estimulação das células T foi afetada, uma vez que, se procedeu à remoção de resíduos hidrofóbicos de alanina e leucina, ou mesmo com a substituição destes por outros mais hidrofílicos, como a glicina e a serina anulando quaisquer propriedades de potencialização da resposta imune deste péptido. Contudo, vacinas de mRNA mediadas pelo péptido RALA superaram, em termos de potência, padrões formulados com lipossomas compostos por DOTAP e DOPE.⁽⁴⁰⁾

Com isto, podemos dizer que RALA e outros CPPs poderão servir como veículos de entrega deste tipo de vacinas, uma vez que apresentam uma alta imunogenicidade e uma grande facilidade de produção.⁽⁴⁰⁾

A grande maioria das vacinas estudadas e desenvolvidas têm como via de administração, a administração parentérica. No entanto, outras vias de administração podem oferecer vantagens relativas à administração convencional, como é o caso da entrega pela via pulmonar. Esta via, além do potencial de tratamento ou vacinação de inúmeras patologias pulmonares, baseia-se ainda na utilização de formulação na forma de pó seco, que é particularmente interessante, visto que, apresenta uma maior estabilidade e de uso relativamente fácil.⁽⁴¹⁾

Num estudo descrito na literatura, com o objetivo de entregar mRNA por via inalatória, foi usado o péptido KL4, na formulação, no qual foi adicionado PEG à estrutura peptídica, resultando numa maior solubilidade e numa melhor eficiência

de transfeção. Para que a integridade do mRNA fosse assegurada, estas formulações de pó seco foram preparadas através de técnicas de *spray drying* (SD) e *spray freeze drying* (SFD). Os complexos de PEG12KL4/mRNA quando administrados por via intra-traqueal, tanto na forma líquida, aerossol e em pó, apresentaram uma transfeção eficaz, com baixo risco de toxicidade e de resposta inflamatória. Assim, pode concluir-se que, formulações com base em péptidos podem ser desenvolvidas e consideradas como potenciais formas de entrega de mRNA nos pulmões.⁽⁴¹⁾

1.4.4. Partículas de replicões semelhantes a vírus

A ideia de usar “vírus” para entregar mRNA ou outro tipo de moléculas, de forma a formular vacinas capazes de prevenir e tratar doenças, não é propriamente recente. Vírus com RNA autorreplicativo, com polaridade, tanto negativa como positiva, foram já usados como vetores de entrega de genes, com no caso de partículas recombinantes, replicões de RNA e plasmídeos de DNA.⁽⁴²⁾ Este tipo de formulação, permite a entrega de antigénios, codificados em mRNA autorreplicativo, para dentro das células, designando-se como partículas de replicões semelhantes a vírus (VRP).⁽⁴²⁾ Vários vírus têm sido investigados como possíveis vetores de vacinas de mRNA. Vírus da família dos *flavivírus*, tais como o vírus *Kunjin* (KUN), o vírus do Nilo Ocidental (WNV), o vírus da encefalite transmitida pela carraça (TBEV) e vírus de dengue.⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾ Vírus como o KUN, com vetores de replicão subgenómico de RNA de cadeia positiva, oferecem enormes vantagens para o desenvolvimento de vacinas.⁽⁴⁴⁾ Essas vantagens são essencialmente a elevada expressão de proteínas heterólogas codificadas, devido à eficiente amplificação do replicão de RNA; a ausência de intermediários de DNA, sendo a replicação, exclusivamente, citoplasmática, sem qualquer integração no genoma celular; a impossibilidade do replicão sair do interior da célula, pois uma vez que este é internalizado pela célula, o mesmo já não consegue “infetar” outras células, não ocorrendo disseminação descontrolada; e ainda a facilidade de construção deste tipo de vacinas.⁽⁴⁴⁾

No caso concreto do KUN, este vírus é naturalmente atenuado em seres humanos, onde a maioria das infeções por ele provocadas, se apresentam como assintomáticas. Para além disso, este vírus é geneticamente estável, com a sua epidemiologia e estratégias de replicação virais conhecidas, fazendo do KUN um bom candidato a vetor, no desenvolvimento de vacinas de mRNA.⁽⁴⁴⁾

No caso da origem do mRNA ele pode ser do próprio vírus em si como, por exemplo no estudo feito sobre o uso de replicões virais do WNV, onde foi usado o RNA

autorreplicativo do mesmo no desenvolvimento de uma vacina, e podem conter mRNA de outros vírus ou mesmo informação anti-tumoral, para o combate de células cancerígenas.⁽⁴⁴⁾⁽⁴³⁾⁽⁴²⁾

Como neste tipo de entrega de vacinas de mRNA são utilizados replicões virais, é importante perceber de que forma os vírus são internalizados e de que formas eles utilizam a maquinaria celular. Na grande maioria dos vírus, com ou sem envelope, a penetração celular é desencadeada pelo pH ácido de compartimentos intracelulares. No entanto, também foram descritas outras vias alternativas de internalização, como por exemplo, vias endocíticas independentes do pH ácido.⁽⁴⁵⁾ Assim, podemos dizer que características, como a dependência do pH, são comuns a muitos vírus, podendo esta característica ser explorada e aproveitada de forma a inibir a penetração celular viral. Com isto, poderá ser desenvolvida uma abordagem antiviral, que possa privilegiar ou restringir a entrada de um tipo de vírus em detrimento de outros, de tipos e subtipos diferentes.⁽⁴⁵⁾ Contudo, para que os replicões virais sejam opções viáveis e seguras para a entrega de vacinas de RNA é necessário que a sua produção seja otimizada, visto que estes são produzidos através de linhas celulares, o que se torna mais difícil a produção de certos replicões virais. Assegurar que em termos de segurança, estes não integrem sequências celulares de forma a reconstituírem o potencial patogénico viral do qual esses replicões são originários, é igualmente essencial para esta abordagem.⁽⁴⁶⁾

Assim sendo, pretende-se que com o desenvolvimento de futuras vacinas formuladas com esta tecnologia, tanto a produção a larga escala, como a diminuição da imunidade gerada pelos vetores, possam vir a ser significativamente melhoradas.

1.4.5. Nanoemulsões catiónicas

As nanoemulsões (NE) são um tipo de emulsões coloidais que apresentam partículas muito reduzidas, abaixo da escala dos micrómetros. Estes sistemas são dispersões isotrópicas termodinâmica e cineticamente estáveis. O princípio para a formação destas NE é simples, uma vez que consiste em dois líquidos imiscíveis, como a água e o óleo, estabilizados por um surfactante ou um co-surfactante, formando uma única fase. Surfactantes não iónicos, como os polissorbatos, surfactantes aniónicos, como o laurilssulfato de sódio, surfactantes catiónicos e surfactantes zwitteriónicos, ambos compostos por sais de amónio quaternário são os mais usados neste tipo de preparações. Podem ser ainda classificadas como emulsões do tipo O/A, ou seja, óleo disperso na fase aquosa, A/O, água dispersa numa fase oleosa, e por fim, numa fase bi-contínua, onde há tanto de água como

de óleo, dispersas em microgotículas entre si, dentro do sistema. As NE podem ser obtidas a partir de técnicas como a homogeneização de alta pressão, a microfluidização, a inversão de fase, a emulsificação espontânea, a evaporação de solvente e pela formação de hidrogel.⁽⁴⁷⁾

As NE foram desenvolvidas, pela indústria farmacêutica, como uma forma eficaz de entregar fármacos pouco solúveis em água. Atualmente, esta tecnologia tem sido aplicada como veículo na entrega de vacinas.⁽⁴⁸⁾ Estas formulações oferecem numerosas vantagens, tais como: aumento da taxa de absorção; proteção contra a oxidação e hidrólise em emulsões O/A; oferece uma melhor biodisponibilidade para vários fármacos; podem envolver sistemas de entrega desenhados para otimizar a eficácia, ao mesmo tempo que reduz a dose total e efeitos colaterais; são veículos seguros e não irritantes para a entrega na pele o/ou nas mucosas; a libertação e permeação do fármaco pode ser controlada, através, tanto da espessura, como também da hidrofília e lipofília do filme gerado.⁽⁴⁷⁾

Mais recentemente, as nanoemulsões catiónicas (CNE) têm sido descritas como a nova aposta na entrega de vacinas, uma vez que pode melhorar a entrega de RNA autorreplicativo, bem como também a resposta imune induzida. Num estudo, foi usado DOTAP como componente lipídico catiónico, na formulação de CNE, tendo sido usado já a nível clínico. A capacidade de manter a sua carga positiva fixa quando emulsionada com constituintes de emulsão, como o MF59, tem sido explorada para a formulação de vacinas. O MF59 foi a primeira emulsão O/A aprovado como adjuvante para uso em humanos, onde já foi testado em mais de cem ensaios clínicos, e o onde o seu perfil de segurança está bem estudado e é bem tolerado, tanto em crianças e adultos, como também em idosos. Vacinas de RNA, formulado com esta CNE, foram entregues a três espécies distintas de animais, os murganhos, coelhos e primatas não humanos, contendo antigénios de três agentes patogénicos, dos quais há uma necessidade imediata de resposta, tais como o vírus sincicial respiratório (RSV), o citomegalovírus humano (hCMV) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV).⁽⁴⁸⁾⁽⁴⁹⁾ Noutro estudo, foi também avaliada a resposta imune em macacos, de vacinas de RNA, que codifica a glicoproteína do envelope do HIV, formuladas a partir de nanoemulsões catiónicas. Nanoemulsões essas obtidas a partir de uma mistura de esqualeno, DOTAP e trioleato de sorbitano para a parte oleosa, e polissorbatato 80 na fase aquosa.⁽⁵⁰⁾

Nesses estudos, verificou-se que este tipo de formulações tem o potencial de entregar, de uma forma eficaz, vacinas SAM. A resposta imunitária a estas vacinas foi bastante positiva, já que, tanto a resposta humoral, como celular, foi observada, e quando comparadas, por exemplo com vacinas de subunidade ou replicões virais,

as respostas foram bastante mais intensas, até mesmo com uma dose mais baixa de vacina.⁽⁴⁸⁾⁽⁵⁰⁾

Assim, podemos dizer que as NE, com especial destaque para as catiónicas, provaram ser métodos de entrega seguros e efetivos de vacinas contendo moléculas de RNA, tornando-se uma alternativa robusta às restantes formas de vacinas já existentes.

2. O vírus SARS-CoV-2

Um novo coronavírus foi identificado em Wuhan na China, em dezembro de 2019. A infeção provocada por este novo coronavírus era caracterizada por uma doença respiratória aguda, semelhante a uma pneumonia. O vírus foi então designado de SARS-CoV-2, e a doença por ele provocada de COVID-19.⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾ O número de casos aumentou exponencialmente, passando do estado de epidemia e evoluindo rapidamente para uma pandemia, afetando a população à escala global.⁽⁵³⁾

Este novo vírus, como o próprio nome indica, pertence à família dos *Coronaviridae*, que podem infetar tanto humanos como animais.⁽⁵²⁾ A família dos coronavírus já tinha sido associada a dois surtos anteriores, nomeadamente com o envolvimento dos vírus causadores de Síndrome Respiratória Aguda (SARS) e a Síndrome Respiratória do Médio Oriente (MERS).⁽⁵⁴⁾

Os coronavírus são vírus constituídos por uma molécula de RNA de cadeia simples (ssRNA) de sentido positivo (+), e caracterizados por apresentarem glicoproteínas *Spike* no seu envelope.⁽⁵⁵⁾ Podem ser subdivididos em Alfa, Beta, Gama e Deltacoronavírus, onde os Alfa e os Beta infetam apenas mamíferos, causando doenças respiratórias em humanos e gastroenterites nos restantes mamíferos. Já os Gama e Delta infetam essencialmente aves, no entanto, alguns deles podem também infetar mamíferos.⁽⁵⁵⁾ O SARS-CoV-2 foi relacionado com vírus pertencentes ao subgrupo dos Betacoronavírus, no qual partilha traços genéticos com outros SARS-CoV identificados e com coronavírus de morcegos.⁽⁵⁴⁾

2.1. Caracterização genética e estrutural

Como referido, geneticamente este coronavírus é composto por uma cadeia positiva simples de RNA. O virião, com cerca de 90 a 120 nm de diâmetro, é caracterizado por um envelope composto por uma bicamada lipídica, que protege o genoma. Quatro proteínas estruturais constituem este vírus, proteína *Spike* (S), proteínas da nucleocápside (N), proteínas do envelope (E) e proteínas da membrana (M) e ainda um grupo de proteínas específicas designadas também de proteínas acessórias (Figura 1).⁽⁵⁴⁾ Proteínas como estas, podem estar relacionadas

com a patogênese, integração e replicação viral nas células hospedeiras, sendo que estas são específicas para variantes do coronavírus.⁽⁵⁴⁾

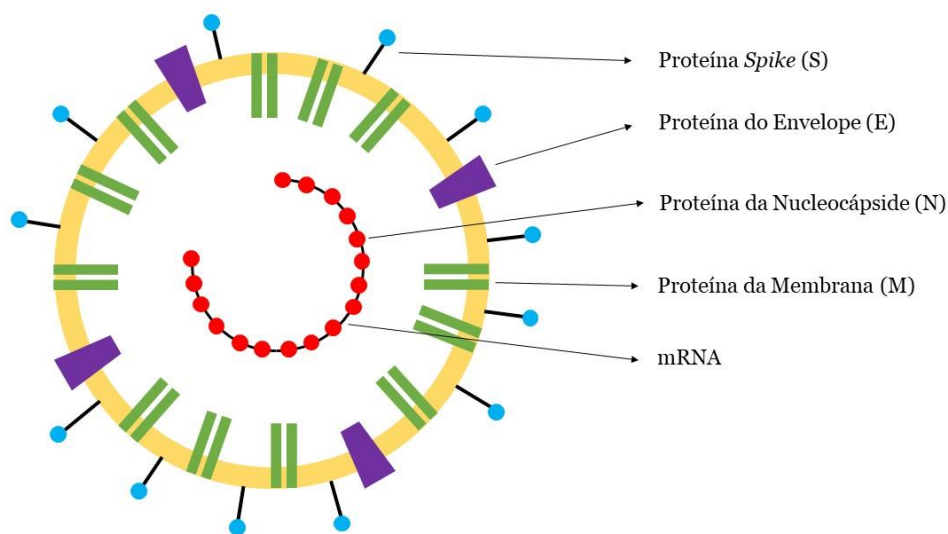


Figura 1. Caracterização genética e estrutural do vírus SARS-CoV-2.

2.2. Mecanismo de entrada

Na entrada na célula, este novo coronavírus comporta-se de forma similar ao já identificado e conhecido SARS-CoV, pois tem proteínas transmembranares características que se vão ligar à superfície da membrana das células hospedeiras, de modo a facilitar a entrada da partícula viral. O SARS-CoV-2 liga-se mais especificamente aos recetores da enzima conversora da angiotensina 2, que têm uma elevada expressão nos pulmões, e também em vários outros órgãos.⁽⁵²⁾ Deste modo, a proteína Spike (S) é essencial, visto que esta é ativada por uma protease transmembranar serina 2 (TMPRSS2) que depois interage com o recetor da enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2), facilitando a fusão do vírus com a célula hospedeira.⁽⁵⁶⁾

2.3. Vias de transmissão

A principal via de transmissão do vírus responsável pela Covid-19 é de pessoa para pessoa, através da transmissão de gotículas libertadas a partir de tosse ou espirros, resultando portanto do contato direto com doentes infetados.⁽⁵⁷⁾ Também foi comprovado que a transmissão através de aerossóis é possível, tendo sido detetadas partículas virais viáveis até 3 ou mais horas.⁽⁵⁸⁾ Alguns estudos revelaram ainda que este vírus permanece viável em certas superfícies, permitindo a sua transmissão através deste contato, sendo que o tempo de permanência do vírus

nessas superfícies, está intimamente ligado com o tipo de materiais. Por exemplo, foram detetadas partículas viáveis em plástico e aço inoxidável após um período de 72 horas. Já superfícies em cobre apenas foram detetadas partículas após 4 horas. Já em cartão não foram detetadas partículas de SARS-CoV-2 passadas 24 horas.⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾

Por fim, foi relatada, ainda que menos provável que as outras vias de transmissão, a possibilidade de este novo coronavírus ser transmitido por via fecal-oral. Concluiu-se que é possível o vírus ser transmitido por esta via, a uma temperatura de 22 a 25 °C e a uma humidade relativa de 40 a 50%, uma vez que o SARS-CoV nestas condições se mantém relativamente estável durante 5 dias. No entanto, este vírus é suscetível a agentes antissépticos como o etanol, e a limpeza regular dos espaços e superfícies é suficiente para que esta transmissão não se verifique. Claro que esta realidade pode tornar-se mais complicada em regiões onde o acesso a água potável é limitado e existe um deficiente saneamento, levando a que nestas situações a transmissão possa ser mais significativa.⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁹⁾

2.4. Período de incubação e sintomatologia

O período de incubação deste coronavírus foi estimado como sendo de 0 a 14 dias, com um período médio de 5,1 dias. Este pode variar entre doentes assintomáticos, sintomáticos ligeiros e com sintomatologia mais grave. Quanto ao aparecimento de sintomas estes também foram estimados em média a surgirem em 11, 5 dias após a exposição. No entanto, é perfeitamente possível uma pessoa aparentemente assintomática poder infectar e transmitir o vírus a outras pessoas, e essas manifestarem sintomas.⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾

As principais manifestações clínicas de COVID-19 são do foro respiratório, e podem variar entre sintomas leves e ligeiros até uma sintomatologia mais acentuada e grave. A maioria dos doentes infectados pelo SARS-CoV-2 são assintomáticos ou apresentam sintomas ligeiros, sendo um dos primeiros sinais e sintomas a anosmia (perda total ou parcial do olfato), a hiposmia (diminuição da olfação) e disgeusia (diminuição ou alteração do paladar). Já os sintomas mais comuns, presentes em doentes sintomáticos, são a falta de ar e a tosse seca, podendo ou não ser acompanhada de episódios de febre, fadiga e mialgias. No entanto, a sintomatologia associada a infeção por este novo vírus não se limita apenas a manifestações do sistema respiratório, uma vez que este pode infectar e afetar outros sistemas do organismo. Um dos sistemas que pode ser afetado é o Sistema Nervoso Central (SNC), com diversas manifestações como polineuropatias, encefalopatias, encefalites, ou mesmo sintomas menos específicos

como cefaleias e desequilíbrios. Também sintomas gastrointestinais são comuns em doentes infetados com este coronavírus, visto que uma das vias de entrada deste vírus é a partir dos recetores ACE-2, sendo estes expressos em grandes quantidades pelas células epiteliais do estômago e intestino. Os sintomas mais comuns são as náuseas, os vômitos, a dor abdominal e a diarreia.⁽⁵²⁾

2.5. Diagnóstico da infeção

O diagnóstico ou confirmação da infeção por SARS-CoV-2 pode ser feita por duas vias distintas: uma que deteta a presença do vírus no organismo, seja pela deteção do RNA viral, seja pela própria deteção do antigénio em si e outra na qual é avaliada a resposta imune gerada pela infeção, nomeadamente pela produção de anticorpos. Os testes de amplificação baseados na deteção de sequências de ácidos nucleicos, onde estão incluídos os testes de reação em cadeia de transcrição reversa em tempo real com recurso a polimerase (rRT-PCR), são reconhecidos como método padrão para o diagnóstico da infeção de SARS-CoV-2. Uma vez que, os sintomas desta infeção podem demorar 5 a 6 dias a manifestar-se, o chamado período de incubação, o diagnóstico clínico tardio pode levar a uma maior disseminação do vírus. Contudo partículas virais podem ser detetadas no trato respiratório superior 3 dias antes do aparecimento dos sintomas. Devido a esta presença no trato respiratório superior (TRS) a recolha de amostras a partir de zaragatoas nasais é a mais indicada e fiável para a deteção de partículas virais.⁽⁶²⁾

2.6. Abordagem terapêutica

Até ao momento, só existe apenas um fármaco aprovado pela FDA, para o tratamento de doentes com COVID-19, o Remdesivir. No entanto, no decurso da pandemia, muitas outras terapêuticas foram estudadas, recomendadas e não recomendadas no tratamento de doentes hospitalizados e não hospitalizados, infetados com o novo coronavírus, de entre estas pode destacar-se o uso de corticoesteroides, como a dexametasona, em certos pacientes hospitalizados e não hospitalizados, como adjuvante no tratamento destes doentes. Outros fármacos foram apontados como promissores como os inibidores da IL-6 (interleucina 6), os inibidores da protease do HIV, como o ritonavir, antimaláricos como a hidroxicloroquina, até mesmo antibióticos como a azitromicina. Todavia, não havendo base científica que suportasse o uso destas moléculas em pacientes com Covid-19, a oferta de um tratamento eficaz é escassa.⁽⁶³⁾

Contudo, e tendo em conta as características do vírus, a sua forma de transmissão, e a falta de tratamento específico, foram desenvolvidas várias vacinas, das quais se

destacam as desenvolvidas pela Pfizer–BioNTech e pela Moderna. Estas foram revolucionárias, visto que, ambas foram as primeiras vacinas de RNA mensageiro a serem aprovadas pela FDA e logo depois, também foram distribuídas pela Europa, e conseqüentemente administradas às populações.⁽⁶⁴⁾ Importante referir que existem outras vacinas aprovadas e eficazes no combate a esta nova infecção, como as desenvolvidas pela farmacêutica AstraZeneca e Johnson & Johnson/Janssen, tendo estas vacinas baseadas no uso de adenovírus recombinantes para a entrega do antigénio. Outras, como vacinas inativadas e proteicas também foram desenvolvidas, no entanto foram apenas aprovadas em alguns países, como a China, Índia, EUA e Rússia. E por fim, de referir ainda uma vacina de plasmídeo de DNA, que foi apenas aprovada na Índia.⁽⁶⁵⁾

Neste trabalho, são apenas focadas as vacinas formuladas com RNA mensageiro, sendo estas de maior relevância do ponto de vista científico, uma vez que foram as primeiras a ser aprovadas no mercado, com recurso ao mRNA.

3. Vacinas de mRNA aprovadas em Portugal no combate ao SARS-CoV-2

3.1. mRNA-1273

A vacina mRNA-1273 que foi desenvolvida pela farmacêutica Moderna, consiste em RNA mensageiro encapsulado em nanopartículas lipídicas, que foi sujeita a várias alterações, de modo a otimizar a sua performance. Uma dessas alterações foi substituir o nucleósido uridina por N1-metil-pseudouridina. A estrutura base do antigénio, tem por base estudos prévios feitos numa possível vacina de mRNA do MERS-CoV-2. Concluiu-se que o comprimento completo do RNA mensageiro da proteína S-2P era a mais imunogénica, e, portanto a com maior probabilidade de induzir uma resposta imune robusta.⁽⁶⁶⁾⁽⁶⁷⁾ Na construção da vacina, foram ainda removidos fragmentos de dsRNA, que apresentam normalmente um potencial de alertar o sistema imune inato e ativar sensores citosólicos de RNA, daí que a sua remoção tenha sido necessária para uma melhor performance.⁽⁶⁷⁾ A formulação da vacina desenvolvida pela Moderna, realizada a partir de quatro materiais de carácter lipídico, foi capaz de encapsular mRNA, formando nanopartículas. Estes componentes são o Heptadecan-9-il 8-((2- hidroxietil) (8-(noniloxi) – 8-oxocetil) amino) octanoato) (SM-102), sendo este o lípido catiónico, o 1,2- dimiristoil-rac-glicero-3-metoxipolietilenoglicol-2000 (PEG2000-DMG), colesterol e 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina (DSPC). A formulação contém também trometamina, cloridrato de trometamina, ácido acético, acetato de sódio e sacarose.⁽⁶⁸⁾

A substituição de MC3 LNP por SM-102 foi efetuada tendo por base o facto de que os lípidos ionizáveis usados permitem uma maior libertação endossómica, visto que, um dos lípidos em questão apresenta três ramificações alquilo, favorecendo uma morfologia cónica, sendo esta preferida para uma melhor libertação do endossoma (Figura 2).⁽⁶⁷⁾⁽⁶⁹⁾

Quanto à eficácia, as análises realizadas pela FDA, confirmaram uma eficácia da vacina na prevenção de COVID-19 passados 14 dias da administração da segunda dose de 94,1%, numa amostra sem evidência de infeção por SARS-CoV-2 anterior à administração da primeira dose.⁽⁶⁸⁾

3.2. BNT162b2

A vacina desenvolvida pela BioNTech e pela farmacêutica Pfizer, também tem por base a tecnologia do mRNA mensageiro, sendo também ela formulada a partir de nanopartículas lipídicas. O RNA contido nesta vacina codifica para a proteína *spike* do SARS-CoV-2, de forma a induzir uma resposta imunológica contra o antigénio apresentado.⁽⁷⁰⁾ À semelhança da vacina anterior, também nesta foram incorporadas algumas alterações na estrutura genética do RNA, de modo a otimizar e melhorar a sua estabilidade, potenciando a imunogenicidade pretendida, nas quais se destacam a sinalização do codão, contendo o comprimento total da proteína *spike*, com um péptido e duas prolinas, designadas de 2 P. Alterações como estas contribuem para que esta proteína adote uma conformação estável o suficiente para que ela não se funda com a membrana, resultando num aumento e estimulação de anticorpos.⁽⁶⁷⁾

Também foram feitas modificações no terminal 3', nas regiões 3' não traduzíveis, uma vez que, alterações como estas são essenciais na estabilidade do mRNA. Em seguida uma estrutura em poly (A) foi adicionada bem como uma sequência de 10 nucleótidos e de outros 70 resíduos de adenosina, de modo a aumentar a expressão proteica. Por fim, a vacina desenvolvida pela Pfizer–BioNTech, substituiu os resíduos de uridina por formas metiladas de nucleósidos de pseudouridina, escapando assim à ativação de imunorreceptores, como os TLR7 e os TLR8, e por conseguinte, conduzindo a uma menor resposta imune, nomeadamente, pelo interferão.⁽⁷¹⁾

Quanto à formação da nanopartícula, esta vacina é composta por um lípido catiónico ionizável sendo que o lípido usado foi o 4-hidroxibutil (azanediil) bis(hexano-6,1-diil) bis(2-hexildecanoato) (ALC-0315). Normalmente, estes lípidos são compostos por aminas terciárias ou quaternárias, na qual a sua função é a de encapsular a molécula polianiónica de mRNA. Para além do lípido catiónico

é necessário um outro componente lípido, designado de lípido “*helper*” ou ajudante, cujo propósito é mimetizar os lípidos constituintes das membranas celulares. Tanto a mRNA-1273, como a BNT162b2 usam o mesmo lípido ajudante, o DSPC, e também ambas as formulações usam colesterol para que este possa estabilizar a bicamada da nanopartícula lipídica. O uso de lípidos PEGilados, como o 2- (polietilenoglicol– 2000)-N,N-ditetradecilacetamida (PEG2000-DMA) usado na BNT162b2, é importante na medida em que, para além de conferir uma camada de hidratação à nanopartícula, também contribui de uma forma significativa para a estabilidade coloidal, e ainda reduz a absorção proteica.⁽⁷¹⁾

Por fim, esta vacina é composta por cloreto de potássio, fosfato monopotássico, servindo como tampão, cloreto de sódio, fosfato dissódico e sucrose, usado com estabilizador. O diluente é composto por uma injeção de uma solução a 0,9% de cloreto de sódio (Figura 2).⁽⁷¹⁾

Quanto à eficácia, as análises realizadas pela FDA, confirmaram uma eficácia na vacina na prevenção de COVID-19 passados 7 dias da administração da segunda dose de 95%, numa amostra sem evidência de infecção por SARS-CoV-2 nos 7 dias anteriores à administração da segunda dose.⁽⁷¹⁾

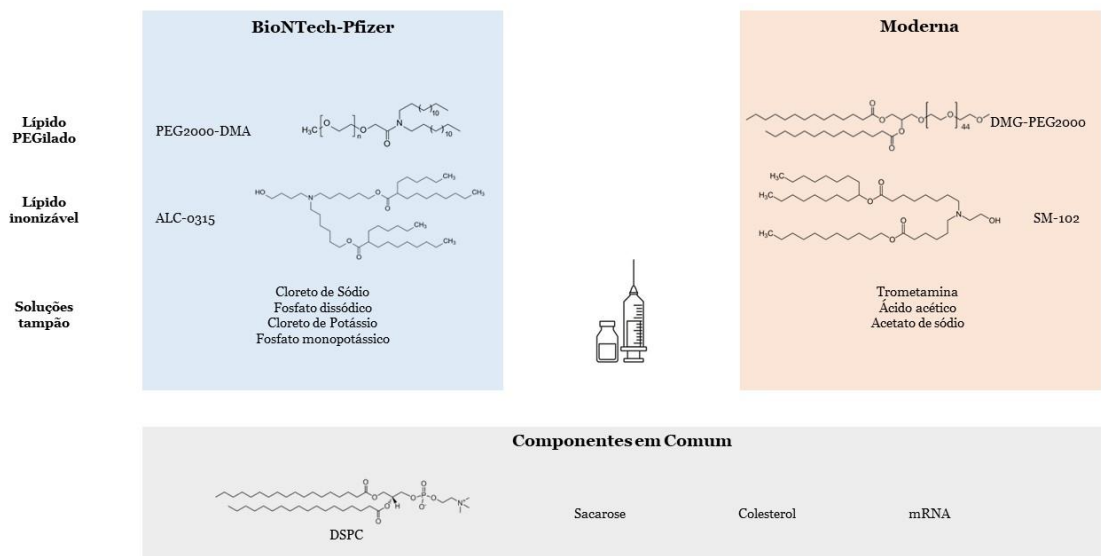


Figura 2. Esquema representativo e comparativo da formulação das 2 vacinas.

4. Estabilidade das vacinas de mRNA

4.1. Estabilidade físico-química

Como já tinha sido abordado anteriormente, para além do grande potencial que estas vacinas demonstraram ter, do ponto de vista de segurança e eficácia, mesmo quando comparadas com outros tipos de vacinas, estas também apresentam limitações. A eficácia na entrega, o direcionamento celular, a segurança dos materiais, a via de administração e a estabilidade térmica são as principais dificuldades encontradas nas vacinas de mRNA.⁽²⁴⁾

A falta de estabilidade nas vacinas de RNA é algo inerente, mas as razões são ainda pouco estudadas e precisam ser compreendidas. No entanto, várias características físico-químicas do RNA são conhecidas e podem estar associadas a essa falta de estabilidade da molécula. Moléculas de RNA podem sofrer reações de hidrólise, onde se inclui a quebra de ligações fosfodiéster, ou reações de oxidação, onde muitas delas dão origem a espécies reativas de oxigénio. Estas podem dever a sua formação ao uso de radiação ionizável, em processos de esterilização, como também dos próprios excipientes presentes nas formulações, como por exemplo, os polióis. As moléculas de mRNA são sensíveis e propensas à clivagem pelas RNases. Muitos foram os esforços feitos para estabilizá-lo, no entanto, os problemas de estabilidade persistiram. Devido ao seu tamanho, carga negativa e hidrofobicidade, o RNA sozinho não tem a capacidade atravessar facilmente uma membrana celular, o que dificulta a sua entrada nas células alvo após a injeção.⁽⁷²⁾⁽⁷³⁾⁽²³⁾

4.1.1. Avanços

Com o intuito de melhorar a estabilidade do mRNA e a sua expressão, têm sido estudadas e introduzidas algumas alterações na molécula. Também a imunogenicidade inata do mRNA poderá ser diminuída, aumentando assim o seu perfil de segurança. Para entregar o mRNA de uma forma eficaz, *in vivo*, são usados vários veículos de entrega na sua formulação, como polímeros, péptidos, LNP, micelas, proteínas, como a protamina, que vão permitir uma internalização mais rápida, aumentando a segurança e a expressão da proteína no citosol. Da mesma forma, podem ser usados agentes complexantes na formulação, para impedir a degradação do mRNA pelas ribonucleases, facilitando a captação do mesmo a nível celular. Além disso, a introdução destes componentes poderá afetar a estabilidade do mRNA durante o armazenamento.⁽²⁰⁾⁽²³⁾

Assim, as formulações de entrega de RNA são fundamentais para estabilizar e proteger as moléculas de RNA da degradação. Até ao momento, o sistema usado

para entregar vacinas de RNA, incluindo as vacinas contra o SARS-CoV-2, é um sistema de entrega de LNP, no qual a molécula de mRNA, carregada negativamente, é encapsulada num sistema lipídico. Desta encapsulação resultam complexos RNA/LNP de 70–100 nm de diâmetro, que protegem o RNA da degradação da RNases, permitindo ainda uma melhor internalização por parte das células. No entanto, a estabilidade do complexo RNA/LNP permanece um problema, pois é sensível a diferentes temperaturas, estando a sua estabilidade coloidal após congelamento e descongelamento em risco.⁽⁷²⁾

4.2. Termoestabilidade

A termoestabilidade destas vacinas é uma limitação, uma vez que estas, na sua maioria, têm de ser conservadas e distribuídas em cadeia ultrafria, onde as temperaturas estão compreendidas entre os -20 °C e os -70 °C.⁽⁷²⁾ Isto, pode torna-se um desafio em situações de emergência pandémica, onde há uma enorme necessidade de vacinação em larga escala, implicando grandes custos no transporte e conservação das vacinas. Para muitos países, nomeadamente países de baixo rendimento, torna-se particularmente difícil, visto que, não têm o suporte nem a infraestrutura necessária para uma distribuição e inoculação eficiente.⁽⁷⁴⁾

Neste trabalho, é discutida a termoestabilidade destas vacinas, e como esta pode ser melhorada, para que no futuro possam ser mais estáveis durante mais tempo, facilitando o transporte, o armazenamento e diminuindo assim os custos associados.

4.2.1. Vacina mRNA-1273

Atualmente, a vacina mRNA-1273 apresenta-se como uma suspensão multidoses, que contém 10 doses, e é mantida a uma temperatura de congelação de -25 °C a -15 °C. Para que esta possa ser administrada, tem de sofrer um processo de descongelação. Após a descongelação o frasco pode ser conservado a uma temperatura de refrigeração de 2 a 8 °C, pelo prazo máximo de 31 dias. O frasco, depois da primeira dose de 0,5 mL ser retirada, pode permanecer a uma temperatura entre 2 °C e 25 °C, num tempo limite de 6 horas, sendo que após este período deve ser descartado. Apesar de não ser requerido, em determinadas situações deveria ser considerado o transporte em cadeia fria. Estes frascos devem ser mantidos em locais ao abrigo da luz solar e luz ultravioleta.⁽⁷⁵⁾

4.2.2. Vacina BNT162b2

Até ao momento, a vacina da BioNTech e da Pfizer ainda requer uma distribuição em cadeia ultrafria. Isto pode ser um desafio na distribuição e armazenamento em alguns países, devido não só ao clima inerente ao mesmo, mas também à energia, recursos e infraestrutura necessária para este transporte. O frasco deve ser descongelado, e depois deste processo, e sem que tenha sido aberto, pode ser conservado por um período de 31 dias a uma temperatura entre os 2-8 °C.⁽⁷⁶⁾

4.2.3. Relação com a formulação

A entrega e a estabilidade de partículas de mRNA/LNP é das mais estudadas, e é, como referido anteriormente, o modelo base usado no combate ao SARS-CoV-2. No entanto, este processo de formulação pode ser mais eficiente usando um método modificado, por exemplo, usando uma filtração de fluxo tangencial e uma purificação antes da transferência para os frascos. Processos como estes foram estudados e demonstraram ser capazes de alcançar 95% de encapsulação, onde as partículas obtidas são morfologicamente homogêneas e sem qualquer vestígio de um núcleo aquoso.⁽⁷⁷⁾

Relativamente à alteração de nucleótidos na sequência do RNA, que como já foi descrito pode ser uma estratégia de estabilização estrutural da molécula, pode influenciar a estrutura secundária, mas parece não ser tão importante no que toca à termoestabilidade do mRNA. Tendo isso em conta, podemos esperar que estudos de termoestabilidade, possam ser globalmente reproduzidos para qualquer molécula de mRNA, visto que essa diferença de nucleósidos não interfere com a estabilidade térmica.⁽⁷⁸⁾

4.2.4. Freeze-drying ou liofilização

O *freeze-drying* ou a liofilização é um processo de remoção de água através da sublimação a partir do estado de congelação. No início os componentes a liofilizar são, primeiramente, congelados (Figura 3). Seguidamente, são submetidos a um intenso vácuo, no qual a água sublima, dá-se então a secagem primária. Depois, a temperatura é gradualmente elevada e depois mantida constante, ocorrendo, aqui a secagem secundária. Técnicas como esta são uma opção viável para melhorar a termoestabilidade destas vacinas, visto que, durante este processo é removida a água presente nestas partículas.⁽⁷⁹⁾⁽⁸⁰⁾

Num estudo feito em vacinas de mRNA contra a raiva, o processo de *Freeze-drying* inicia-se com uma descida da temperatura até aos -40 °C por duas horas. Seguidamente, é reduzida a pressão até 160 µbar, onde a primeira secagem ocorre

aos $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 17 horas. A segunda secagem ocorre a uma pressão de $68\text{ }\mu\text{bar}$, e uma temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e por 10 horas. No final os frascos foram preenchidos com azoto e selados com uma tampa de alumínio. Depois de todo o processo de liofilização, os frascos foram expostos a um amplo leque de temperaturas, desde os $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e até mesmo a temperaturas mais elevadas, que vão desde os $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ até aos $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Como o tempo de exposição também é importante na avaliação da estabilidade, as amostras estudadas para os vários intervalos de temperatura foram igualmente armazenadas e avaliadas aos 3, 6 e 12 meses. Posteriormente, essas amostras foram testadas em ratos onde, não só induziram altos níveis de anticorpos, mas também evitaram a morte, após a exposição ao vírus da raiva.⁽⁷⁸⁾

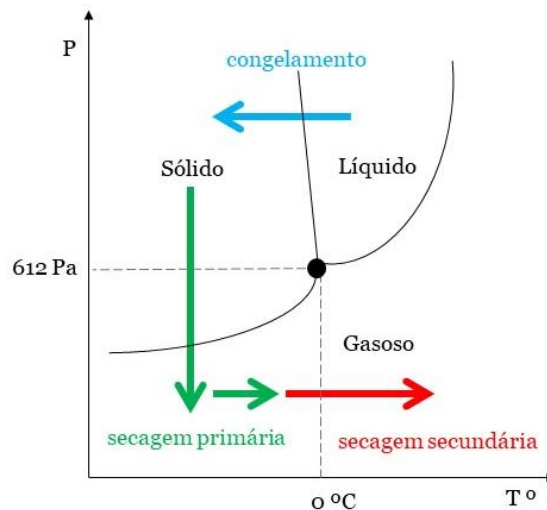


Figura 3. As diferentes fases da liofilização, representadas num gráfico de Pressão/Temperatura.

Já foram estudadas inúmeras alternativas de sistemas de entrega de mRNA com base em estruturas lipídicas. Num estudo foi demonstrada a estabilidade térmica de um sistema nanolipídico (NLC) para entregar de uma forma eficaz vacinas de RNA por via intramuscular. Para além disso este sistema de entrega foi ainda complexado e liofilizado com o mRNA. Posteriormente, foram comparados quanto à sua estabilidade, sendo revelado que o NLC no estado líquido se manteve estável por um 1 ano a temperaturas de refrigeração. Por outro lado, o complexo liofilizado NLC/RNA conseguiu manter as suas propriedades e a capacidade de induzir a expressão proteica *in vivo* por 8 meses à temperatura ambiente e por 21 meses a temperaturas de refrigeração.⁽⁷²⁾

Também foi testada a liofilização em complexos de mRNA-LNPs com nucleósidos modificados até ser obtido um “cake” que pudesse ser restituído mais tarde,

provando a possibilidade de uma melhor estabilidade após o *freeze-drying*. Para que seja obtido um “cake” com as características desejadas, isto é, sem que este colapse, diminua de tamanho, ou fique com alterações na sua textura, foi usada a análise macroscópica, para poder observar possíveis alterações nas nanopartículas. Após o processo, o produto liofilizado apresentou-se uniforme e elegante, que após a restituição em água livre de nucleases, foi rapidamente restituído, sendo este visualmente límpido, opalescente e sem partículas sólidas visíveis em suspensão.⁽⁸¹⁾

O tamanho das partículas é importante para a estabilidade e pode influenciar, tanto a farmacocinética e a distribuição, como também a eficácia e segurança. Nesse estudo, o tamanho no LNP liofilizado manteve-se constante por, no máximo, 12 semanas, a uma temperatura máxima de 4 °C. Para temperaturas mais elevadas, tais como de 42 °C, o produto liofilizado sofreu um ligeiro aumento no tamanho das partículas, no entanto, manteve-se estável por pelo menos 24 semanas. Mesmo assim, esse aumento foi abaixo de 150 nm, sendo este ainda considerado no intervalo de diâmetro das partículas, para que possam induzir uma resposta imunitária robusta, em animais.⁽⁸¹⁾⁽²⁸⁾ Por fim, foi demonstrado que esta LNP liofilizada pode ser armazenada e manter-se estável a 4 °C durante 24 semanas, o que já representa uma maior flexibilidade em termos de armazenamento e distribuição, tendo em conta que tanto a da Moderna como a da Pfizer/BioNTech são mais limitadas no que toca à termoestabilidade.⁽⁷⁵⁾⁽⁷⁶⁾⁽⁸¹⁾⁽²⁸⁾

Assim, os resultados obtidos são promissores, pois demonstraram que recorrendo a várias alterações, como o ajuste das propriedades físico-químicas e estruturais do mRNA, bem como alterações na formulação, é possível aumentar a estabilidade térmica destas vacinas. Este aumento significa um passo em frente na luta pela saúde, e sobretudo igualdade, uma vez que, uma melhor termoestabilidade poderá não requerer o transporte e armazenamento em cadeia ultrafria, podendo ser mais acessível a todo o mundo, em especial, os países de baixo rendimento.

5. Conclusão

As vacinas são ferramentas vitais no combate a infecções graves. Ao longo dos anos foram sendo desenvolvidas diferentes vacinas, com diferentes abordagens no que diz respeito ao antígeno, no entanto, todas sempre com o objetivo de proteger, prevenir e atenuar a doença e a sua sintomatologia.

A ideia de usar o mRNA como vacina, foi sem dúvida revolucionária, contribuindo assim para o avanço do conhecimento científico. Contudo estas vacinas têm de ser formuladas de modo a proteger o mRNA, visto que, este pode sofrer degradação e não penetrar nas células alvo. As duas vacinas abordadas neste trabalho, foram aprovadas no âmbito do combate ao SARS-CoV-2, tendo demonstrado excelentes resultados de segurança e eficácia. No entanto, estas perdem a sua estabilidade quando expostas a temperaturas mais elevadas, daí a necessidade de um transporte em cadeia ultrafria. Com isto, neste trabalho foram abordados alguns métodos que podem ser implementados, com o objetivo de melhorar a estabilidade térmica destas vacinas.

Tendo em conta os estudos apresentados, sugere-se que a liofilização, aliada a alterações feitas na molécula de mRNA e na formulação das nanopartículas, podem ser excelentes estratégias para diminuir a instabilidade das vacinas a temperaturas superiores às atualmente usadas na conservação e transporte das vacinas de mRNA.

Os resultados destes estudos mostram também, que para além da manutenção do tamanho e forma das partículas, estas mantêm igualmente a capacidade de gerar uma resposta imune forte. Isto faz com que, o mesmo método possa ser aplicado e usado como modelo para futuras estratégias de combate à infeção não só por SARS-CoV-2, como também a novas variantes e novos microrganismos.

6. Referências bibliográficas

1. Vaccines and immunization [Internet]. [cited 2021 Sep 10]. Available from: https://www.who.int/health-topics/vaccines-and-immunization#tab=tab_1
2. Younger DS, Younger APJ, Guttmacher S. Childhood Vaccination: Implications for Global and Domestic Public Health. *Neurol Clin.* 2016;34(4):1035–47.
3. Hajj Hussein I, Chams N, Chams S, El Sayegh S, Badran R, Raad M, et al. Vaccines Through Centuries: Major Cornerstones of Global Health. *Front Public Heal.* 2015;3(November):1–16.
4. Different Types of Vaccines | History of Vaccines [Internet]. [cited 2021 Sep 14]. Available from: <https://www.historyofvaccines.org/content/articles/different-types-vaccines>
5. Iavarone C, O'hagan DT, Yu D, Delahaye NF, Ulmer JB. Mechanism of action of mRNA-based vaccines. *Expert Rev Vaccines* [Internet]. 2017;16(9):871–81. Available from: <https://doi.org/10.1080/14760584.2017.1355245>
6. Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, Petsch B. New vaccine technologies to combat outbreak situations. *Front Immunol.* 2018;9(SEP).
7. Pollard C, De Koker S, Saelens X, Vanham G, Grooten J. Challenges and advances towards the rational design of mRNA vaccines. *Trends Mol Med* [Internet]. 2013;19(12):705–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2013.09.002>
8. McNamara MA, Nair SK, Holl EK. RNA-Based Vaccines in Cancer Immunotherapy. *J Immunol Res.* 2015;2015.
9. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines—a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(4):261–79.
10. Brito LA, Kommareddy S, Maione D, Uematsu Y, Giovani C, Berlanda Scorza F, et al. Self-Amplifying mRNA Vaccines [Internet]. Vol. 89, *Advances in Genetics*. Elsevier Ltd; 2015. 179–233 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.adgen.2014.10.005>
11. Schlake T, Thess A, Fotin-Mleczek M, Kallen KJ. Developing mRNA-vaccine technologies. *RNA Biol.* 2012;9(11):1319–30.
12. Wilkie GS, Dickson KS, Gray NK. Regulation of mRNA translation by 5'- and 3'-UTR-binding factors. *Trends Biochem Sci.* 2003;28(4):182–8.
13. Banerjee AK. 5'-Terminal Cap Structure in Eucaryotic Messenger Ribonucleic Acids. *Microbiol Rev.* 1980;44(2):175–205.
14. Wickens M. How the messenger got its tail: addition of poly(A) in the nucleus. *Trends Biochem Sci.* 1990;15(7):277–81.

15. Geall AJ, Mandl CW, Ulmer JB. RNA: The new revolution in nucleic acid vaccines. *Semin Immunol* [Internet]. 2013;25(2):152–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2013.05.001>
16. Jackson NAC, Kester KE, Casimiro D, Gurunathan S, DeRosa F. The promise of mRNA vaccines: a biotech and industrial perspective. *npj Vaccines* [Internet]. 2020;5(1):3–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41541-020-0159-8>
17. Lou G, Anderluzzi G, Schmidt ST, Woods S, Gallorini S, Brazzoli M, et al. Delivery of self-amplifying mRNA vaccines by cationic lipid nanoparticles: The impact of cationic lipid selection. *J Control Release* [Internet]. 2020;325(July):370–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.06.027>
18. Beissert T, Perkovic M, Vogel A, Erbar S, Walzer KC, Hempel T, et al. A Trans-amplifying RNA Vaccine Strategy for Induction of Potent Protective Immunity. *Mol Ther* [Internet]. 2019;28(1):119–28. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.09.009>
19. Ulmer JB, Geall AJ. Recent innovations in mRNA vaccines. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2016;41:18–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2016.05.008>
20. Rahman MM, Zhou N, Huang J. An overview on the development of mrna-based vaccines and their formulation strategies for improved antigen expression in vivo. *Vaccines*. 2021;9(3):1–20.
21. Fotin-Mleczek M, Duchardt KM, Lorenz C, Pfeiffer R, Ojkić-Zrna S, Probst J, et al. Messenger RNA-based vaccines with dual activity induce balanced TLR-7 dependent adaptive immune responses and provide antitumor activity. *J Immunother*. 2011;34(1):1–15.
22. Geall AJ, Verma A, Otten GR, Shaw CA, Hekele A, Banerjee K, et al. Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(36):14604–9.
23. Crommelin DJA, Anchordoquy TJ, Volkin DB, Jiskoot W. Addressing the Cold Reality of mRNA Vaccine Stability. 2020;(January).
24. Zeng C, Zhang C, Walker PG, Dong Y. Formulation and Delivery Technologies for mRNA Vaccines. 2020;
25. Ganesan P, Narayanasamy D. Lipid nanoparticles: Different preparation techniques, characterization, hurdles, and strategies for the production of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for oral drug delivery. *Sustain Chem Pharm* [Internet]. 2017;6(August):37–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2017.07.002>

26. Granados-Riveron JT, Aquino-Jarquín G. Engineering of the current nucleoside-modified mRNA-LNP vaccines against SARS-CoV-2. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2021;142(May):111953. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111953>
27. Østby-Deglum I, Dahl AA. How is an information programme for depressed patients perceived? *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2002;122(19):1870–183.
28. Hassett KJ, Higgins J, Woods A, Levy B, Xia Y, Hsiao CJ, et al. Impact of lipid nanoparticle size on mRNA vaccine immunogenicity. *J Control Release*. 2021;335:237–46.
29. Englezou PC, Sapet C, Démoulines T, Milona P, Ebensen T, Schulze K, et al. Self-Amplifying Replicon RNA Delivery to Dendritic Cells by Cationic Lipids. *Mol Ther - Nucleic Acids* [Internet]. 2018;12(September):118–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.04.019>
30. Cullis PR, Hope MJ. Lipid Nanoparticle Systems for Enabling Gene Therapies. *Mol Ther* [Internet]. 2017;25(7):1467–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.013>
31. Pandey M, Ojha D, Bansal S, Rode AB, Chawla G. From bench side to clinic: Potential and challenges of RNA vaccines and therapeutics in infectious diseases. *Mol Aspects Med* [Internet]. 2021;(February):101003. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.101003>
32. Schoenmaker L, Witzigmann D, Kulkarni JA, Verbeke R. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information. 2020;(January).
33. Kowalski PS, Rudra A, Miao L, Anderson DG. Delivering the Messenger: Advances in Technologies for Therapeutic mRNA Delivery. *Mol Ther* [Internet]. 2019;27(4):710–28. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.02.012>
34. Islam MA, Xu Y, Tao W, Ubellacker JM, Aum D, Lee GY, et al. Restoration of tumour-growth suppression in vivo via systemic nanoparticle-mediated delivery of PTEN mRNA. 2019;2(11):850–64.
35. Nie G, Li G, Wang L, Zhang X. Nanocomposites of polymer brush and inorganic nanoparticles: Preparation, characterization and application. *Polym Chem*. 2016;7(4):753–69.
36. Dong Y, Dorkin JR, Wang W, Chang PH, Webber MJ, Tang BC, et al. Poly(glycoamidoamine) Brushes Formulated Nanomaterials for Systemic siRNA

- and mRNA Delivery in Vivo. *Nano Lett.* 2016 Feb;16(2):842–8.
37. Kaczmarek JC, Patel AK, Kauffman KJ, Fenton OS, Webber MJ, Heartlein MW, et al. Polymer-Lipid Nanoparticles for Systemic Delivery of mRNA to the Lungs. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2016 Oct;55(44):13808–12.
 38. Li W, Joshi MD, Singhania S, Ramsey KH, Murthy AK. Peptide vaccine: Progress and challenges. *Vaccines.* 2014;2(3):515–36.
 39. Grau M, Walker PR, Derouazi M. Mechanistic insights into the efficacy of cell penetrating peptide-based cancer vaccines. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2018;75(16):2887–96. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2785-0>
 40. Udhayakumar VK, De Beuckelaer A, McCaffrey J, McCrudden CM, Kirschman JL, Vanover D, et al. Arginine-Rich Peptide-Based mRNA Nanocomplexes Efficiently Instigate Cytotoxic T Cell Immunity Dependent on the Amphipathic Organization of the Peptide. *Adv Healthc Mater.* 2017;6(13):1–13.
 41. Qiu Y, Man RCH, Liao Q, Kung KKK, Chow MYT, Lam JKW. Effective mRNA pulmonary delivery by dry powder formulation of PEGylated synthetic KL4 peptide. *J Control Release* [Internet]. 2019;314(September):102–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.10.026>
 42. Lundstrom K. Replicon RNA viral vectors as vaccines. *Vaccines.* 2016;4(4).
 43. Li W, Ma L, Guo LP, Wang XL, Zhang JW, Bu ZG, et al. West Nile virus infectious replicon particles generated using a packaging-restricted cell line is a safe reporter system. *Sci Rep.* 2017;7(1):1–10.
 44. Harvey TJ, Liu WJ, Wang XJ, Linedale R, Jacobs M, Davidson A, et al. Tetracycline-Inducible Packaging Cell Line for Production of Flavivirus Replicon Particles. *J Virol.* 2004;78(1):531–8.
 45. Vázquez-Calvo Á, Saiz JC, McCullough KC, Sobrino F, Martín-Acebes MA. Acid-dependent viral entry. *Virus Res* [Internet]. 2012;167(2):125–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2012.05.024>
 46. Morrison J PS. Chapter 19—viral vaccines: fighting viruses with vaccines. *Viral Pathogenesis: From Basics to Systems Biology: Third Edition.* 2016. 253–269 p.
 47. Gurpreet K, Singh SK. Review of nanoemulsion formulation and characterization techniques. *Indian J Pharm Sci.* 2018;80(5):781–9.
 48. Brito LA, Chan M, Shaw CA, Hekele A, Carsillo T, Schaefer M, et al. A cationic nanoemulsion for the delivery of next-generation RNA vaccines. *Mol Ther.* 2014;22(12):2118–29.
 49. Vesikari T, Forstén A, Herbinger KH, Cioppa G Della, Beygo J, Borkowski A, et al. Safety and immunogenicity of an MF59®-adjuvanted A/H5N1 pre-pandemic

- influenza vaccine in adults and the elderly. *Vaccine* [Internet]. 2012;30(7):1388–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.009>
50. Bogers WM, Oostermeijer H, Mooij P, Koopman G, Verschoor EJ, Davis D, et al. Potent immune responses in rhesus macaques induced by nonviral delivery of a self-amplifying RNA vaccine expressing HIV type 1 envelope with a cationic nanoemulsion. *J Infect Dis*. 2015;211(6):947–55.
 51. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(11):1061–9.
 52. Tsatsakis A, Calina D, Falzone L, Petrakis D, Mitrut R, Siokas V, et al. SARS-CoV-2 pathophysiology and its clinical implications: An integrative overview of the pharmacotherapeutic management of COVID-19. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2020;146(August):111769. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111769>
 53. Liu Q, Liu Z, Zhu J, Zhu Y, Li D, Gao Z, et al. Assessing the global tendency of COVID-19 outbreak. *medRxiv*. 2020;1–21.
 54. Azu OO, Olojede SO, Lawal SK, Oseni SO, Rennie CO, Offo U, et al. Novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-COV-2) infection: Microbiologic perspectives and anatomic considerations for sanctuary sites. *J Infect Public Health* [Internet]. 2021;14(9):1237–46. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.08.015>
 55. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2019;17(3):181–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
 56. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8.
 57. Ong SWX, Tan YK, Chia PY, Lee TH, Ng OT, Wong MSY, et al. Air, Surface Environmental, and Personal Protective Equipment Contamination by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a Symptomatic Patient. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(16):1610–2.
 58. Lirong Z, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* [Internet]. 2020;382(12):1177–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32182409/>
 59. Yeo C, Kaushal S, Yeo D. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal–oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *Lancet Gastroenterol Hepatol* [Internet].

- 2020;5(4):335–7. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30048-0](http://dx.doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30048-0)
60. Yan Bai M, Lingsheng Yao M, Tao Wei M, Fei Tian M, Dong-Yan Jin P, Lijuan Chen P, et al. Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;
 61. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (CoVID-19) from publicly reported confirmed cases: Estimation and application. *Ann Intern Med.* 2020;172(9):577–82.
 62. WHO steering group: Amal Barakat, Céline Barnadas, Silvia Bertagnolio, Caroline Brown, Lisa Carter, Sebastian Cognat J, Cunningham, Varja Grabovac, Francis Inbanathan, Kazunobu Kojima, Juliana Leite, Marco Marklewitz JMR, Karen Nahapetyan, Chris Oxenford, Boris Pavlin, Mark Perkins, Anne Perrocheau, Jose Rovira, Maria Van Kerkhove K von, Eije JZ. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. *World Heal Organ.* 2020;
 63. National Institutes of Health. Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Nih [Internet].* 2021;2019:1–243. Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
 64. Noor R. Developmental Status of the Potential Vaccines for the Mitigation of the COVID-19 Pandemic and a Focus on the Effectiveness of the Pfizer-BioNTech and Moderna mRNA Vaccines. *Curr Clin Microbiol Reports.* 2021;8(3):178–85.
 65. Pascolo S. Vaccines against covid-19: Priority to mrna-based formulations. *Cells.* 2021;10(10).
 66. Huang Q, Zeng J, Yan J. COVID-19 mRNA vaccines. *J Genet Genomics.* 2021;48(2,20 February 2021.):107–14.
 67. Granados-Riveron JT, Aquino-Jarquín G. Engineering of the current nucleoside-modified mRNA-LNP vaccines against SARS-CoV-2. *Biomed Pharmacother [Internet].* 2021;142(May):111953. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111953>
 68. Moderna COVID-19 Vaccine EUA Letter of Authorization [Internet]. [cited 2022 Feb 2]. Available from: <https://www.fda.gov/media/144636/download>
 69. Hassett KJ, Benenato KE, Jacquinet E, Lee A, Woods A, Yuzhakov O, et al. Optimization of Lipid Nanoparticles for Intramuscular Administration of mRNA Vaccines. *Mol Ther - Nucleic Acids [Internet].* 2019;15(April):1–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.01.013>
 70. Lamb YN. BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine: First Approval. *Drugs [Internet].* 2021;81(4):495–501. Available from:

- <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01480-7>
71. Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine FDA EUA Letter of Authorization [Internet]. [cited 2022 Feb 3]. Available from: <https://www.fda.gov/media/144412/download>
 72. Gerhardt A, Voigt E, Archer M, Reed S, Larson E, Van Hoesven N, et al. A flexible, thermostable nanostructured lipid carrier platform for RNA vaccine delivery. *Mol Ther - Methods Clin Dev* [Internet]. 2022;25(June):205–14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2022.03.009>
 73. Pogocki D, Schöneich C. Chemical stability of nucleic acid-derived drugs. *J Pharm Sci*. 2000;89(4):443–56.
 74. Hosangadi D, Martin EK, Watson M, Bruns R, Connell N. Supporting use of thermostable vaccines during public health emergencies: Considerations and recommendations for the future. *Vaccine* [Internet]. 2021;39(48):6972–4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.10.065>
 75. Group SA, Group SW, Biotech B, Biotech B, Covid- S, Covid- T, et al. Interim recommendations for use of the Moderna mRNA-1273 vaccine against COVID-19. *World Heal Organ*. 2021;(November):1–13.
 76. WHO. Interim Recommendations For Use Of The Pfizer–BioNTech COVID-19 vaccine, BNT162b2, Under Emergency Use Listing. *World Heal Organ* [Internet]. 2021;(January):1–7. Available from: [WHO/2019-nCoV/vaccines/SAGE_recommendation/BNT162b2/2021.1](https://www.who.int/publications/m/item/interim-recommendations-for-use-of-the-pfizer-biontech-covid-19-vaccine-bnt162b2-under-emergency-use-listing)
 77. Zhang N na, Li X feng, Deng Y qiang, Wang Y chun, Ying B, Qin C feng, et al. Article A Thermostable mRNA Vaccine against COVID-19 ll ll Article A Thermostable mRNA Vaccine against COVID-19. *Cell*. 2020;(January):1271–83.
 78. Stitz L, Vogel A, Schnee M, Voss D, Rauch S, Mutzke T, et al. A thermostable messenger RNA based vaccine against rabies. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(12):1–10.
 79. Berk Z. Freeze Drying (lyophilization) and Freeze Concentration. *Food Process Eng Technol*. 2009;511–23.
 80. REY L. Basic Principles of Lyophilization (Freeze-Drying) [Internet]. *Progress in Refrigeration Science and Technology*. PERGAMON PRESS LTD.; 1965. 67–77 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4831-9857-6.50020-0>
 81. Muramatsu H, Lam K, Bajusz C, Laczkó D, Karikó K, Schreiner P, et al. Lyophilization provides long-term stability for a lipid nanoparticle-formulated, nucleoside-modified mRNA vaccine. *Mol Ther* [Internet]. 2022;30(5):1941–51. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.02.001>

Capítulo II - Estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução

A atividade farmacêutica está em constante mudança, sendo desafiada todos os dias, seja pelos utentes, seja pelo contexto político ou económico, seja por desafios ainda maiores, como a situação pandémica, que atualmente enfrentamos.

Posto isto, é de salientar que o farmacêutico comunitário é o profissional de saúde mais próximo do utente, uma vez que este passou a estar no centro de toda a atividade farmacêutica, tendo a profissão farmacêutica expandido e alcançado uma grande diversidade. ⁽¹⁾

Para além da atividade do farmacêutico se ter expandido e diversificado, a área de eleição do farmacêutico, sempre foi, e continuará a ser a do medicamento, sendo este o fator diferenciador, face aos outros profissionais de saúde.

Posto isto, podemos dizer que o papel do farmacêutico é vasto e bastante completo, onde as suas principais áreas de intervenção são na promoção do uso racional dos medicamentos, sejam eles medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) ou medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM). Também são fundamentais na gestão e otimização da terapêutica periódica, na revisão da medicação, na adesão à terapêutica e na deteção e diminuição dos problemas relacionados com a medicação (PRM), podendo estes levar a resultados negativos da medicação (RNM). ⁽¹⁾

O estágio foi realizado na Farmácia Moderna (FM), e decorreu entre 22 de fevereiro e 2 de julho de 2021, perfazendo um total de 20 semanas. Este permitiu não só colocar em prática todo o conhecimento técnico-científico adquirido nestes 5 anos de aprendizagem, mas também adquirir novos conhecimentos no contexto da Farmácia Comunitária.

De outro modo, também permitiu experienciar todo o trabalho e todas as diferentes áreas de intervenção do farmacêutico numa Farmácia Comunitária, desde a gestão ao atendimento, passando pelo aconselhamento e monitorização de inúmeras tarefas.

Posto isto, esta experiência forneceu uma visão alargada de como é trabalhar numa equipe de profissionais, onde, sem dúvida, o foco é o utente, a sua saúde e bem-estar.

2. Organização da farmácia

2.1. Localização e caracterização da Farmácia Moderna

A FM, pertence ao grupo Videira Lopes, onde fazem parte outras três Farmácias, estando de acordo com o artigo nº15 do Decreto de Lei nº307/2007 de 31 de agosto. Esta localiza-se na Av. de São Miguel, Edifício 2-B, com o código postal 6300-864 Guarda.⁽²⁾

No exterior da farmácia encontra-se o símbolo “cruz verde” e a designação “Farmácia Moderna”, ambos indicativos da presença deste estabelecimento. Está também descrito o horário de funcionamento, sendo este das 8:30h às 22h, de segunda a sábado cumprindo assim o estabelecido pela Portaria nº 277/2012 de 12 de setembro de 2012. Também se encontram, no exterior da Farmácia, outras informações relevantes, tais como o nome da diretora técnica e a escala com a indicação dos turnos das farmácias do município que se encontram de serviço. Para além de tudo, ainda são apresentados alguns dos serviços prestados pela farmácia, tais como, a administração de vacinas e de medicamentos injetáveis, serviços de nutrição e de podologia, serviços de medicina tradicional chinesa, e por fim, a determinação de parâmetros bioquímicos, fisiológicos e físicos, nomeadamente, a determinação da pressão arterial, glicose, colesterol total, colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDL), triglicéridos e ácido úrico, sendo estes o mais determinados.⁽²⁾ Os serviços anteriormente mencionados são apresentados numa das três montras que a farmácia apresenta, com o objetivo de informar o utente acerca dos serviços que dispõe. A FM apresenta ainda um postigo, que confere maior segurança e privacidade aquando do atendimento ao público, sendo particularmente utilizado no serviço noturno. Através deste postigo é possível impedir o acesso público ao interior da farmácia após a hora de encerramento normal, mas ainda assim ter a capacidade de dispensar medicamentos à população.

As montras da FM encontram-se decoradas consoante a estação decorrente, ou então relacionadas com algum evento festivo e celebrativo, por exemplo, casos como a época natalícia e pascal. Estas montras são também compostas por publicidade alusiva a produtos de cosmética e parafarmácia sazonais, bem como promoções que possam estar a decorrer no interior.

2.2 Instalações

De acordo com as exigências do artigo nº29 do Decreto de Lei nº307/2007 de 31 de agosto, cada farmácia deve dispor de instalações que garantam a segurança, conservação e preparação de medicamentos, bem como a acessibilidade, comodidade e privacidade dos utentes e do respetivo pessoal. Para além do anteriormente referido, esta ainda deve dispor de uma sala de atendimento ao público, um armazém, um laboratório e instalações sanitárias.⁽²⁾

A FM é composta por 3 pisos distintos. No piso 0 encontra-se a zona de atendimento ao público e de exposição de produtos, um gabinete de atendimento ao utente, instalações sanitárias para uso dos utentes, um *Back-Office*/armazém, uma copa, onde está também instalado o equipamento de videovigilância e, por fim, instalações sanitárias para uso dos colaboradores. No piso 1 encontra-se uma porta de acesso ao exterior, uma montra e a zona de gestão e receção de encomendas. Por fim no piso 2 onde se encontra o gabinete da Diretora-técnica, o laboratório, uma zona de armazém de produtos não medicamentosos, bem como outros dois gabinetes. Como a FM faz parte de um grupo de farmácias, esta não tem escritório físico nas instalações da mesma. Nos pontos que se seguem serão descritas, com mais detalhe, cada uma destas áreas.

2.2.1. Área de atendimento, exposição de produtos e aconselhamento

Esta área de grande destaque, uma vez que é a maior em tamanho, mas também em diversidade. Esta possui 8 balcões de atendimento geral ao utente, outros dois de atendimento mais personalizado e direcionado para a dermocosmética, e ainda outro na zona da puericultura onde, normalmente, é feita medição da pressão arterial.

Ao entrar, podemos encontrar uma zona de exposição de calçado infantil e de adulto. No centro da farmácia, entre a entrada e os balcões de atendimento, temos duas zonas distintas: a primeira dedicada a todos os produtos de higiene e limpeza buco-dentária. A segunda é composta, neste momento, por todos os produtos para proteção solar das gamas disponíveis na farmácia e por uma zona dedicada à higiene íntima, sexualidade, desodorizantes e antitranspirantes, loções e cremes hidratantes para o corpo, e por fim uma zona dedicada aos desinfetantes de mãos e superfícies, bem como mascarar cirúrgicas, tanto para adulto como para criança. Ainda no centro da farmácia podemos encontrar um expositor com mascarar KN95 e cirúrgicas ambas de várias cores, e dois outros expositores com vários produtos, como águas, produtos de limpeza e hidratação corporal.

Por detrás dos balcões encontramos uma variedade de produtos, desde a secção de produtos capilares, nutrição clínica, homeopatia e fitoterapia, até a produtos destinados a uso veterinário. Entre estes estão outras gamas de produtos mais específicos, dedicados a perturbações dos vários sistemas do nosso corpo, tais como, perturbações gastrointestinais, perturbações do trato urinário, perturbações do sono, do apetite, problemas de alguma carência vitamínica ou mineral, tosse, congestão nasal, doença venosa crónica, rinite alérgica, dor e inflamação. Ainda nesta zona, podemos encontrar gavetas, onde são guardados alguns excedentes, ou produtos com pouca rotatividade, relativos a cada secção. Também aí encontram-se as pilulas contraceptivas, contraceção de emergência, e alguns medicamentos com uma maior rotatividade. A zona da

dermofarmácia e dermocosmética, que se encontra dividida por marcas e gamas. A zona de puericultura, dedicada ao bebé e à mãe com produtos de higiene, limpeza, nutrição e o cuidado de ambos. Uma zona dedicada a ortopedia, com calçado, produtos para pés e mãos, como também cintas lombares, meias de compressão, cadeiras de rodas, andarilhos e canadianas, entre outros produtos para o tratamento e prevenção de alguma lesão músculo-esquelética. Por fim, junto aos balcões, são colocados expositores que, normalmente, estão associados a campanhas promocionais e que desta forma serão mais facilmente acedidos pelo utente.

É também importante ressaltar, que dispomos de uma zona de estar, onde o utente pode aguardar a sua vez, sentado e confortável, visto que, a grande maioria dos utentes têm alguma dificuldade de locomoção, dispondo ainda de um aparelho de medição da tensão arterial eletrónico, onde a pessoa opera de forma independente.

2.2.2. Armazém e back-office

No mesmo piso da zona de atendimento, encontra-se a área de armazenamento e aprovisionamento de medicamentos. Nesta apresenta-se um compacto com gavetas de arrumação deslizantes, ordenadas por ordem alfabética da denominação comercial, onde, normalmente estão apenas medicamentos de marca, medicamentos de uso externo, retal e vaginal, medicamentos de uso veterinário, e também são arrumados os produtos destinados à medição da glicémia, como sensores, tiras e lancetas. No mesmo móvel e em gavetas distintas, são colocadas todas as reservas pagas, devidamente identificadas com o talão de reserva, com o número da reserva, o nome do utente, o produto reservado e a quantidade pedida. Junto a este móvel encontra-se um outro, onde são colocados todos aqueles produtos com maior rotatividade, mas que não estão expostos, ou pelas suas dimensões ou pelas suas características, não se enquadram noutro lugar, são exemplos, produtos de desinfeção e tratamento de feridas, como pensos, compressas, adesivos, álcool etílico a 70 e a 96% (V/V), soro fisiológico, emplastros medicamentosos, entre outros produtos. Todos os produtos que necessitem de conservação no frio, são colocados no frigorífico, que se encontra neste local, por ordem alfabética.

No mesmo piso, mas numa zona distinta e separada, temos o móvel onde se encontram os medicamentos genéricos, ordenados alfabeticamente. Do lado oposto, encontram-se os xaropes e os excedentes de produtos expostos, ou então produtos que, por falta de espaço, são guardados neste local. No corredor de acesso ao armazém, encontra-se um móvel com apenas os produtos cujo prazo de validade se encontra próximo do fim (intervalo de 3 meses).

2.2.3. Gabinetes de atendimento ao utente

Localizados no piso 2 da farmácia, estão dois gabinetes de atendimento personalizado, essencialmente reservados para as consultas de podologia e medicina tradicional chinesa. Um outro gabinete, localizado no piso 0, mesmo ao lado da zona de receituário, é usado nas consultas de nutrição, na medição de parâmetros fisiológicos como colesterol, glicémia, ácido úrico e triglicéridos, mas também na administração de medicamentos injetáveis e de vacinas. Nestes gabinetes, o objetivo é proporcionar um ambiente mais reservado, para que o utente se sinta confortável, permitindo ao farmacêutico abordá-lo de uma forma mais fácil.

2.2.4. Área de receção e gestão de encomendas

É nesta zona que são geridas, recebidas, analisadas e validadas todas as encomendas que chegam à farmácia. Após estas etapas, todos os produtos são armazenados no respetivo local habitual. Nesta zona, também, se encontram dois móveis: um destinado às reservas não pagas, arrumadas com o devido talão da reserva, com o número da mesma, o nome do utente, o nome do produto e a quantidade de pedida, e um outro, onde são colocados os produtos destinados ao envio para outras farmácias do grupo.

2.2.5. Laboratório

Esta divisão encontra-se no piso 2 da farmácia. O objetivo do laboratório, inicialmente, era a possibilidade de realizar medicamentos manipulados e preparações extemporâneas. No entanto, devido há falta de pedidos e ao fácil acesso destes medicamentos a partir de outras farmácias, levou a que, atualmente, sejam realizados muito poucos medicamentos manipulados neste espaço.

3. Recursos humanos

A FM é constituída pelos respetivos proprietários e pela equipa multidisciplinar por ela composta. Fazem parte integrante dessa equipa a Diretora técnica, 5 farmacêuticos e 6 técnicos de farmácia. Para Além destes profissionais, incluem-se ainda uma nutricionista, uma podologista e técnica de medicina tradicional chinesa, com o intuito de oferecerem, respetivamente, serviços de consultas de nutrição, de podologia, e consultas de medicina tradicional chinesa. Por fim, está também incluída nesta equipa uma funcionária de limpeza que assegura as condições de higiene da farmácia, sendo este serviço realizado diariamente.

Tendo por base o panorama legislativo, podemos dizer que a Farmácia Moderna vai ao encontro do estabelecido. De acordo com o artigo 23º do Decreto de Lei nº 307/2007, de 31 de agosto, com alterações apresentadas pelo Decreto de Lei nº 171/2012 de 1 de

agosto, a farmácia deve dispor de, pelo menos, um diretor técnico e de outro farmacêutico, sendo que os farmacêuticos devem, tendencialmente, ser os constituintes majoritários, visto que, na FM o número de técnicos de farmácia é maior do que o de farmacêuticos, sendo essa diferença não muito discrepante.⁽³⁾

De acordo com o artigo 24º do Decreto de Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, com modificações apresentadas pela Lei n.º 16/2013, de 8 de fevereiro, os farmacêuticos podem ter o auxílio de técnicos de farmácia ou de outros profissionais devidamente habilitados, como é o caso da nutricionista, do podologista e da técnica de medicina tradicional chinesa.⁽⁴⁾

Tendo em consideração e de acordo com o artigo 21º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, modificado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto é da competência do diretor técnico assumir a responsabilidade de todos os atos farmacêuticos praticados na farmácia, garantir que todos os utentes saiam da farmácia completamente esclarecidos, promover o uso racional de medicamentos, assegurar que os medicamentos sujeitos a receita médica apenas sejam dispensados a utentes que não possuam receita em situações devidamente justificadas, garantir que os medicamentos e demais produtos são fornecidos em bom estado de conservação, garantir a higiene e a segurança da farmácia, assegurar um bom aprovisionamento, zelar para que o pessoal mantenha o asseio e higiene constantes, verificar o cumprimento das regras deontológicas da atividade farmacêutica e assegurar o cumprimento dos princípios e deveres previstos neste diploma e na demais legislação reguladora da atividade farmacêutica. O diretor técnico é coadjuvado diariamente pelos farmacêuticos e técnicos de farmácia que nela trabalham, claro, sempre sobre a sua direção e responsabilidade.⁽³⁾

Por fim, existem algumas diferenças entre as funções exercidas pelos técnicos de farmácia e pelos farmacêuticos, uma vez que, o técnico de farmácia não pode assumir o cargo de diretor técnico de uma farmácia, esse apenas pode ser desempenhado por um farmacêutico. Para além disso, e no contexto da farmácia Moderna, apenas os farmacêuticos são responsáveis pelas encomendas diárias, verificação de stock de psicotrópicos e estupefacientes e verificação e envio do receituário mensal. Para além destas pequenas diferenças, ambos técnicos de farmácia e farmacêuticos desempenham iguais funções no que toca ao ato de dispensa, atendimento e de aconselhamento ao utente.

4. Documentação científica e suporte informático

A FM está equipada com o software informático SoftReis, que fornece ao farmacêutico ou técnico de farmácia informação mais rapidamente e diminui o tempo de procura do medicamento, permitindo também que o farmacêutico dedique mais tempo ao

atendimento. Este programa não só ajuda no atendimento, mas também possibilita a criação de uma ficha individualizada para cada produto com todas as informações relativas a movimentos de stock, vendas, compras, preços e informação científica detalhada para cada produto. Com a aquisição deste tipo de programas torna-se mais fácil a gestão de stocks, a verificação de algum produto que possa estar em falta, ou mesmo se esse mesmo produto tem um elevado ou baixo número de vendas.

Com o programa SoftReis existe ainda a possibilidade de criação de fichas para os utentes, no qual poderão conter dados do utente, possibilitando a realização de vendas a crédito, sejam elas vendas suspensas ou não. Para além disso pode conter outras informações relevantes acerca do utente que facilitem a intervenção e o aconselhamento farmacêutico.

No referente a informação científica, o farmacêutico no ato da dispensa de medicamentos, e para que tenha acesso a toda a informação relativa aos mesmos, como por exemplo, interações farmacológicas, posologia, contraindicações, indicações terapêuticas, entre outros, a farmácia é obrigada a ter um *Prontuário Terapêutico* atualizado e o *Resumo das Características dos Medicamentos*, de acordo com as Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (2015).⁽⁵⁾ Também todas as farmácias, e de acordo com o artigo 37º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, são obrigadas a dispor da Farmacopeia Portuguesa, seja em papel, em formato eletrónico ou online, a partir de um sítio da Internet que seja reconhecido pelo INFARMED. Estas ainda podem dispor de outros documentos, desde que indicados pelo mesmo.⁽²⁾

Ademais de toda a documentação científica referida acima, existe ainda na Farmácia Moderna o *Formulário Galénico Português*, o *Índice Nacional Terapêutico* e o *Simposium Terapêutico*.

Para terminar, é fundamental que o farmacêutico tenha uma formação organizada, regular e sempre atualizada, daí é de extrema importância o estudo de todas as fontes bibliográficas referidas, mas também a presença assídua em congressos, simpósios, cursos de formação científica e técnica, entre outros.

5. Aprovisionamento e armazenamento

5.1. Pedido de encomendas

A aquisição correta e pertinente de medicamentos é fulcral da gestão de encomendas/*stocks* de uma farmácia. Na FM cada medicamento e/ou produto farmacêutico tem um stock pré-definido, estando estabelecido, informaticamente, pelo programa SoftReis, um nível mínimo e máximo de stock. Estes níveis permitem evitar ruturas, assegurando, simultaneamente, que não haja acumulação de produtos com menor rotatividade. Os níveis são definidos mediante o consumo diário ou sazonal dos

medicamentos e/ou produtos farmacêuticos. No entanto, a gestão de stocks não é assim tão simples, uma vez que o responsável pelas encomendas deve ser dotado de grande ponderação e ser capaz de avaliar vários parâmetros, para que possa haver um aprovisionamento racional. A maioria dos produtos é encomendada mediante as necessidades diárias, sendo para isso imprescindível a escolha de fornecedores que disponham das melhores condições de entrega, disponibilidade, preço, facilidades de pagamento e condições de devolução, caso seja necessário.

A FM tem como fornecedores principais para as encomendas diárias a Cooprofar e a Alliance Healthcare. Para além destes, recorre-se também diretamente ao laboratório/fabricante quando se trata de encomendas de produtos sazonais ou não farmacêuticos, dermocosmética e genéricos, pois oferecem uma melhor relação preço-quantidade. A compra direta pode ser também realizada para produtos urgentes, que não se encontram disponíveis nos armazenistas.

O processamento da encomenda é então finalizado com o envio informático da mesma aos armazenistas, via software. Após finalizada, os produtos que a partir daí sejam necessários, podem ser encomendados via telefone ou via website a partir da área cliente. As encomendas aos laboratórios ou seus representantes também se podem fazer via telefone, fax e online ou então diretamente com os delegados de informação médica, que se deslocam com alguma frequência à farmácia.

5.2. Receção de encomendas

Por norma os distribuidores fazem a entrega de encomendas duas vezes por dia, uma por voltas 8:30h, e outra entre as 15:30h e as 17:00h. Cada encomenda vem acompanhada da respetiva fatura ou guia de remessa, em duplicado ou não, dependendo do fornecedor, devendo ser criteriosamente analisada. Devem conferir-se não só as quantidades recebidas efetivamente, mas também a integridade da embalagem, prazos de validade, preço de faturação, preço impresso na cartonagem (PIC) e preço de venda ao público (PVP). Após esta confirmação, dá-se a entrada dos produtos no stock da farmácia com a ajuda do software informático SoftReis, através da leitura ótica do código de barras de cada produto ou pela introdução do código nacional do produto (CNP). Se o stock de um produto estiver a zero, é imprescindível a introdução do seu prazo de validade. No caso dos MNSRM é necessária uma introdução manual do preço de venda, aplicando-se para isso diferentes margens, consoante o imposto sobre o valor acrescentado (IVA) do produto em questão.

Em todo este processo, é importante mencionar que se prioriza a receção dos produtos que necessitem de refrigeração para se manterem viáveis, e dos produtos que se

encontram reservados, para que a sua dispensa ao utente seja feita o mais rapidamente possível.

Dado por finalizada a receção das encomendas, as faturas e/ou guias de remessa são rubricadas e arquivadas e, posteriormente, conferidas pelo operador responsável. Quinzenalmente ou mensalmente o armazenista envia à farmácia um resumo de todos os produtos faturados durante aquele período, para posterior liquidação.

5.3. Armazenamento e controlo da temperatura e humidade

A disposição e armazenamento dos medicamentos e dos restantes produtos farmacêuticos influenciam fortemente a sua funcionalidade, sendo a arrumação dos mesmos essencial para uma dispensa mais eficaz e rápida.

Após rececionados, os medicamentos são armazenados tendo em conta a regra *first expire first out*, permitindo aos produtos com validade mais curta serem dispensados em primeiro lugar. Todos os produtos estão devidamente organizados no respetivo local de armazenamento por ordem alfabética do seu nome comercial ou substância ativa, por ordem crescente de dosagem e por laboratório, no caso dos medicamentos genéricos. Todas as condições de iluminação, temperatura, humidade e ventilação respeitam as exigências específicas dos medicamentos e produtos farmacêuticos. Para auxiliar a manutenção destas condições, semanalmente faz-se a leitura dos dados registados por quatro termohigrómetros, que estão colocados em diferentes áreas de disposição de produtos farmacêuticos: área de atendimento, nas duas áreas de armazenamento e frigorífico. Os dados fornecidos por cada um destes aparelhos são periodicamente analisados, registados e arquivados. Tal permite que, em caso de uma inspeção por parte do INFARMED à farmácia, seja demonstrado que todos os parâmetros, necessários à conservação dos produtos, se mantêm dentro do estipulado. ⁽⁵⁾

5.4. Controlo dos prazos de validade

A monitorização dos prazos de validade de todos os produtos é uma tarefa crucial no ambiente farmacêutico, quer do ponto de vista da farmácia, uma vez que um produto expirado já não pode ser mais vendido ao público, não se obtendo qualquer lucro, quer da perspectiva do próprio utente, já que, caso os produtos passem de validade, o seu consumo, por parte deste, possa ser prejudicial e levar a efeitos nocivos. O *software SoftReis* permite criar uma listagem de produtos cuja validade expire nos 6 meses seguintes. Esta lista é impressa mensalmente, permitindo um controlo apertado relativamente às validades.

Após obtenção desta lista, todos os produtos incluídos na mesma são observados em relação ao seu prazo de validade. Após esta comparação, se o prazo de validade entre o

que consta no produto e o que consta na listagem diferir, pode ser efetuada, posteriormente, a sua correção. Os produtos que se encontrem nesse intervalo dos 6 meses são colocados no móvel específico das validades, permitindo que a sua dispensa seja priorizada, relativamente aos mesmos produtos que tenham um prazo de validade mais prolongado. Se se verificar que o produto não será escoado até ao seu prazo de validade terminar, é feita uma nota de devolução ao fornecedor, podendo existir diferentes possibilidades decorrentes desta devolução: obtenção de uma nota de crédito, obtenção do mesmo produto com uma validade mais alargada ou obtenção de outro produto que apresente o mesmo valor.

5.5. Marcação de Preços

Aquando da receção de encomendas, verificam-se duas situações distintas, no que toca à marcação dos preços: os medicamentos sujeitos a receita médica, MSRM, apresentam-se com o PIC, e o seu PVP encontra-se fixado por decreto-lei, tendo em conta o artigo 103º do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, tal como o que acontece para os MNSRM participados; por outro lado, no que toca aos produtos de venda livre e aos MNSRM não participados, a marcação dos preços é feita no ato da receção da encomenda, tendo em conta o preço de venda à farmácia (PVF), o IVA do produto e a margem de comercialização da farmácia para aquele produto.⁽⁶⁾

5.6. Devoluções de Produtos

A devolução de produtos é uma tarefa frequentemente realizada na farmácia, por diversos motivos, sendo que essa devolução tem um prazo máximo de 3 dias para ser efetuada. Geralmente, as razões mais comuns para estas devoluções ocorrerem são: produtos danificados aquando do transporte, produtos cuja quantidade é superior à quantidade encomendada, produtos com prazos de validade reduzidos, sejam eles já expirados ou a expirar, recolha voluntária de lotes de produtos por recomendação do INFARMED ou do titular da Autorização de Introdução no Mercado (AIM), produtos pedidos por engano ou enviados à farmácia sem terem sido encomendados, produtos cujo preço faturado não corresponde ao correto ou produtos cuja embalagem se encontra incompleta.

Após a verificação de uma das situações acima descritas, e com a ajuda do software SoftReis, é emitida uma nota de devolução ao fornecedor, selecionando a secção “Fornecedores” e posteriormente “Devoluções a Fornecedores”, onde devem ser preenchidas algumas informações importantes, tais como a identificação do produto que se pretende devolver, o número da fatura, quantidade a devolver, o motivo da devolução,

o preço do produto, a data da devolução e a identificação do fornecedor. Deve atualizar-se a data e a hora, para que o transporte do produto a devolver seja feito no dia seguinte. Assim que a devolução seja confirmada e validada, a nota de devolução é impressa em triplicado, sendo que o original deve ser entregue ao fornecedor, o duplicado para o distribuidor que irá transportar o produto a devolver, e o triplicado é arquivado na farmácia que fez a devolução. Quer o original, quer o duplicado devem ser devidamente assinados e carimbados pelo profissional responsável pela devolução antes de serem colocados no contentor, juntamente com o produto a devolver. De seguida, a devolução poderá ser aceite ou não pelo fornecedor, sendo que, caso seja aceite, é emitida uma nota de crédito à farmácia ou é enviado um produto substituto, igual ou de igual valor ao devolvido, regularizando assim a devolução. Se, pelo contrário, o fornecedor não aceitar a devolução, o produto é devolvido à farmácia, sendo que, posteriormente tem de dar-se quebra desse mesmo produto, para que possa sair do stock. Por fim, o mesmo é colocado no contentor da VALORMED.

6. Dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde

Segundo o artigo 3º do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, um medicamento define-se como sendo “toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”. Também é importante fazer a distinção entre medicamento de referência (denominado, usualmente, como medicamento de marca) e medicamento genérico, uma vez que ambas podem ser opções terapêuticas e torna-se essencial informar os utentes das diferenças e/ou semelhanças entre estas duas possibilidades. Assim, um medicamento de referência define-se sendo, segundo o decreto-lei já mencionado, um “medicamento que foi autorizado com base em documentação completa, incluindo resultados de ensaios farmacêuticos, pré-clínicos e clínicos”. Em contrapartida, um medicamento genérico define-se como sendo um “medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade apropriados”.⁽⁶⁾ É de salientar, que normalmente o medicamento genérico apresenta um PVP mais baixo, relativamente ao PVP do medicamento de referência, o que pode ser determinante na escolha entre ambos medicamentos.

Também é de extrema importância diferenciar dispositivo médico de medicamento, visto que ambos se encontram disponíveis para dispensa ao utente, sendo muitas vezes

confundidos. Tendo por base a informação contida no site do INFARMED, entende-se por dispositivo médico todo o produto que tenha como objetivo a prevenção, o diagnóstico ou o tratamento, ou seja, igual ao medicamento, mas que não apresenta qualquer ação farmacológica, metabólica ou imunológica para atingir esse mesmo objetivo, sendo, neste aspeto, distinto do medicamento.⁽⁷⁾

6.1. Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica

Os MSRM, como o próprio nome sugere só podem ser cedidos mediante a apresentação de uma prescrição médica. Considerando o artigo 114º do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, estão sujeitos a receita médica todos os medicamentos que:

a) Possam constituir um risco para a saúde do doente, direta ou indiretamente, mesmo quando usados para o fim a que se destinam, caso sejam utilizados sem vigilância médica;

b) Possam constituir um risco, direto ou indireto, para a saúde, quando sejam utilizados com frequência em quantidades consideráveis para fins diferentes daquele a que se destinam;

c) Contenham substâncias, ou preparações à base dessas substâncias, cuja, atividade ou reações adversas seja, indispensável aprofundar;

d) Destinem-se a ser administrados por via parentérica ⁽⁶⁾

O farmacêutico, no ato da dispensa, deve validar a prescrição médica que é apresentada pelo utente, podendo esta apresentar diferentes formas de apresentação: uma prescrição eletrónica materializada, impressa em formato de papel, outra prescrição eletrónica, esta sim já desmaterializada, comumente designada por receita sem papel, onde pode ser facilmente acessível através de equipamentos eletrónicos, podendo, deste modo, ser enviada para o telefone do utente, via SMS, e por fim, a prescrição manual, sendo esta redigida à mão pelo médico prescriptor. Esta última tem sido cada vez menos utilizada, e apenas em determinados casos excecionais, como a falência do sistema informático, a inadaptação fundamentada do prescriptor, previamente confirmada e validada anualmente pela respetiva Ordem profissional, uma prescrição ao domicílio e em outras situações até um máximo de 40 receitas médicas por mês.⁽⁸⁾⁽⁹⁾

Durante a validação de uma prescrição médica, tanto o farmacêutico como o técnico de farmácia devem verificar diferentes aspetos, tendo em conta o tipo de prescrição que é apresentada. Se esta for uma prescrição eletrónica, a mesma deve ser validada se apresentar a numeração correspondente ao número único da receita médica que é atribuído pela Base de Dados Nacional de Prescrições (BDNP), a identificação do local de prescrição e do médico prescriptor, ambas as disponibilizadas pela BDNP, a

identificação do utente, a entidade financeira responsável pelo pagamento da comparticipação, que, em grande parte, corresponde ao Serviço Nacional de Saúde (SNS), a identificação do medicamento, que pode ser feita através da Denominação Comum Internacional (DCI) ou nome da substância ativa, forma farmacêutica, dosagem, dimensão da embalagem, posologia, número de embalagens, Código Nacional para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos (CNPEM) ou outro código oficial que permita a identificação do produto. Ainda assim, a prescrição pode ser feita pelo nome da marca do produto nos casos em que o medicamento genérico não é comparticipado ou exista apenas a marca, ou quando se trata de medicamentos que apenas podem ser prescritos para determinadas indicações terapêuticas, por motivos de propriedade industrial, ou então quando o prescriptor justifica a não substituição do medicamento que foi prescrito. Nestes casos, deverá então constar o nome comercial do medicamento ou do respetivo titular de AIM e o código do medicamento em dígitos e em código de barras, em vez do CNPEM. Por fim, o prescriptor deve ainda especificar a dose do medicamento e intervalo de administração, a duração do tratamento, e no caso de comparticipações especiais, sendo que, nestes casos, é obrigatória a menção à letra “O”, que indica que os utentes são abrangidos por outro regime especial de comparticipação, e também deve ser feita referência ao despacho associado à respetiva comparticipação especial e a data da prescrição.⁽⁹⁾

No que diz respeito à prescrição manual, além da obrigatoriedade da verificação da existência de todos os tópicos acima mencionados para a prescrição eletrónica, é necessário também validar outros aspetos, tais como, a identificação da exceção legal que levou à substituição da prescrição eletrónica pela prescrição manual, o local da prescrição, com respetiva vinheta do mesmo, se aplicável, a validade da prescrição, o número de embalagens, a identificação do médico prescriptor e respetiva assinatura e ainda apresentação de algumas particularidades, isto é, rasuras, caligrafias diferentes, utilização de canetas diferentes ou de lápis na prescrição são motivos para a não comparticipação das receitas. Se, porventura, a prescrição se encontrar rasurada, e para que esta seja válida para comparticipação por parte da entidade responsável, o médico prescriptor deverá rubricar exatamente ao lado dessa mesma rasura.⁽⁹⁾

6.1.1. Dispensa de MSRM especial

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, a receita médica especial inclui todos os medicamentos que, devido às suas propriedades farmacológicas, são passíveis de causar dependência e conseqüente abuso medicamentoso, bem como aqueles que possam ser utilizados para fins ilícitos e não terapêuticos. São incluídos neste tipo de prescrição médica os estupefacientes e psicotrópicos, por estes serem classes de fármacos

cujas características se incluem nas acima descritas, conferindo deste modo um potencial risco para a saúde do utente. De modo que, estas substâncias são alvo de um controlo bastante estrito por parte do INFARMED, com o intuito de assegurar a correta utilização destes medicamentos.⁽⁶⁾

6.1.1.1. Psicotrópicos e estupefacientes

A dispensa de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos requer especial atenção devido ao potencial abusivo intrínseco a estas moléculas. Estes medicamentos devem encontrar-se prescritos isoladamente na receita médica, ou seja, na prescrição médica destes medicamentos não podem constar outros que não apenas medicamentos estupefacientes ou psicotrópicos. Nestas situações, o Software *SoftReis* abre automaticamente uma janela, na qual devem ser colocados dados relativos ao utente e/ou adquirente, como o nome, data de nascimento, uma vez que, a dispensa deste tipo de MSRM é feita apenas a maiores de 18 anos, o número e a data do bilhete de identidade ou do cartão de cidadão, no caso de cidadãos estrangeiros, o número do passaporte.⁽⁹⁾

No caso de prescrições manuais ou materializadas destes medicamentos, o utente ou o seu representante deverão assinar o verso da receita. Posteriormente à dispensa, é emitido um documento de dispensa de psicotrópicos, ao qual deve ser anexada a cópia da receita respetiva, pois trata-se de uma receita manual, devendo este conjunto ficar arquivado num *dossier* específico e devidamente identificado, por um período de 3 anos. A farmácia envia para o INFARMED, as digitalizações das receitas manuais, até ao dia 8 do mês a seguir à dispensa.⁽⁹⁾

6.1.2. Vendas suspensas

Comumente, na farmácia verificam-se muitas situações em que os utentes solicitam com urgência determinados MSRM, que para os quais não possuem prescrição médica no momento da aquisição. Para que este possa ser cedido, aquilo que se estabelece é designado de venda suspensa. A venda suspensa permite que um MSRM possa ser dispensado ao utente em caso de urgência, quando este não apresenta uma prescrição médica que justifique essa mesma dispensa. No momento que o utente tem na sua posse a respetiva receita médica, deve apresentá-la na farmácia, o mais rapidamente possível, para que a sua situação possa ser regularizada. No *software* informático, *SoftReis*, no decorrer da dispensa, seleciona-se a opção “suspender a venda”, estando, previamente, associado a ficha de cliente e o medicamento a ser dispensado. É importante mencionar que este tipo de situações só deve ser realizado quando a farmácia tem acesso ao perfil farmacoterapêutico do utente. É importante também, verificar sempre se o MSRM urgente pode ser dispensado, tendo por base o histórico encontrado na ficha do utente.

Geralmente, este tipo de situações sucede com medicamentos usados para o controlo de doenças crónicas, como a Diabetes *Mellitus*, Hipertensão Arterial, Hipercolesterolemia, entre outras.

Na farmácia podem então existir dois tipos de vendas suspensas: as vendas suspensas a dinheiro e as vendas suspensas a crédito, sendo que, na primeira, o utente paga na totalidade o medicamento que lhe foi dispensado e, logo que apresente a respetiva prescrição médica é regularizada a venda suspensa e é-lhe devolvido o dinheiro referente à comparticipação do mesmo. Já as vendas suspensas a crédito, para que estas sejam realizadas, é necessário que, o utente em questão tenha um limite de crédito definido. Assim sendo, o utente leva o medicamento solicitado sem pagar nada pelo mesmo, ou seja, o valor deste fica associado à venda suspensa e, no momento da apresentação da prescrição médica na farmácia, com a intenção de regularizar a venda, este terá de pagar apenas a parte do medicamento no qual não é comparticipada, visto que, o restante valor já se encontra liquidado pela entidade financeira responsável. Esta última situação é normalmente feita sempre com o consentimento da Diretora técnica ou do farmacêutico responsável, e em situações onde o valor do MSRM não comparticipado é elevado, tornando-se complicado para o utente liquidar o valor total do medicamento a solicitar.

6.1.3. Planos de comparticipação

A comparticipação de medicamentos pode ser efetuada através de um regime geral ou de um regime especial, que se aplica a determinadas patologias ou grupos de doentes. No regime geral de comparticipação, o Estado paga uma percentagem do medicamento tendo em conta o escalão em que o mesmo se insere, e de acordo com o artigo 2º da portaria 195-D/2015, de 30 de junho, essa percentagem de comparticipação corresponde a 90% no escalão A, a 69% no escalão B, a 37% no escalão C e a 15% no escalão D. A divisão em escalões é feita consoante a classificação farmacoterapêutica do medicamento. Quando na receita vem referido o despacho que valida o regime especial de comparticipação, a comparticipação do estado no preço dos medicamentos por cada escalão é superior.⁽¹⁰⁾

Durante o período de estágio, deparei-me com vários planos de comparticipação, onde os mais habituais foram o plano 01, que se trata do regime habitual de comparticipação por parte do SNS, o plano 45, que se trata da comparticipação pelo sistema nacional de saúde acompanhado de despacho/portaria, o plano 48, este associado aos pensionistas, o plano 49, associado a pensionistas quando acompanhado de despacho/portaria e o plano 99 para todas as receitas eletrónicas sem erros. Com menos frequência, por vezes, surgiam planos de outras entidades, como por exemplo, a câmara municipal da Guarda, o SAMS (Sindicato dos Bancários do Sul e Ilhas), os lanifícios, EDP Sãvida e as

seguradoras. Nesses casos é necessário arquivar, juntamente com um registo da medicação dispensada ao utente, uma cópia do cartão da entidade/seguradora anexada à receita.

A portaria nº 287/2016, de 10 de novembro, define que, sempre que haja pelo menos um medicamento genérico no mercado é formado um grupo homogéneo, onde a este fica associado um preço de referência baseado na média dos 5 medicamentos com o preço mais baixo do mercado. Posto isto, sempre que exista um grupo homogéneo, o estado comparticipa 100% sobre esse preço de referência.⁽¹¹⁾ Assim sendo, sempre que o utente opte por um medicamento de preço superior ao preço de referência terá de pagar a diferença desse valor.

6.2. Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica

De acordo com o artigo nº115 do Decreto-Lei nº176/2006, de 30 de agosto, são considerados medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) todos aqueles que não preencham as condições previstas na classificação dos MSRMs indicados anteriormente. Para que possam ser dispensados, estes medicamentos podem ser prescritos por médicos ou aconselhados por farmacêuticos ou até mesmo solicitados pelo utente, para efeitos de automedicação. Como tal, não necessitam de prescrição médica para serem dispensados, não sendo também comparticipáveis pelo Estado Português.⁽⁶⁾

6.2.1. Automedicação

A automedicação está, a maior parte das vezes, associada aos MNSRM. Nos casos de automedicação, o utente normalmente dirige-se à farmácia com a intenção de solicitar um determinado MNSRM, ou para ser aconselhado por um farmacêutico, com vista à resolução de problemas ligeiros e, normalmente, de fácil resolução. Este aconselhamento pode nem sempre terminar na dispensa de um determinado produto, uma vez que existem situações mais ligeiras que podem ser facilmente solucionadas recorrendo apenas a medidas não farmacológicas.

De uma forma geral, a automedicação consiste na instauração de uma terapia farmacológica por iniciativa própria do utente, podendo levar, por consequência, à utilização de MNSRM de forma responsável. Normalmente, esta abordagem foca-se no alívio de queixas de saúde e de condições de menor gravidade, devendo ser acompanhada pelo aconselhamento opcional de um profissional de saúde.⁽¹²⁾⁽¹³⁾ Este deve orientar todo o processo, pois deve avaliar a necessidade ou não do MNSRM solicitado pelo utente e a adequação do mesmo face à situação em questão.

Assim, é dever do farmacêutico assegurar o uso racional do medicamento. O doente deve ser questionado acerca dos sintomas que apresenta, a sua duração e se o início dos

mesmos coincide com a toma de algum medicamento, e se já foi tomada alguma medida terapêutica para melhorar essa condição. Também a referência de patologias pré-existentes e a medicação que faz habitualmente são importantes, para que possam ser evitadas eventuais interações fármaco-fármaco ou fármaco-patologia, e também, possíveis alergias que o indivíduo possa apresentar. Se o farmacêutico considerar que os sintomas mencionados podem estar associados a uma patologia de maior gravidade, deverá referenciar o utente para uma consulta médica. Caso contrário, e sempre que haja necessidade para tal, o farmacêutico poderá selecionar um MNSRM que se adequa à situação clínica do utente, de forma a minimizar os seus sinais e sintomas. Esta forma de aconselhamento designa-se por cedência de medicamentos em indicação farmacêutica.⁽⁴⁾ O farmacêutico deve disponibilizar todas as informações que sejam essenciais para a correta utilização do medicamento, tais como a posologia, a duração do tratamento, algumas medidas não farmacológicas que podem complementar a terapêutica, modo de administração, cuidados a ter e possíveis efeitos adversos que podem decorrer da toma do medicamento. O INFARMED disponibiliza uma listagem de todas as situações passíveis de automedicação, onde estas devem apresentar um quadro sintomático ligeiro e de curta duração, como por exemplo casos de diarreia, obstipação, rinorreia e congestão nasal, dermatite da fralda, herpes labial, entre muitos outros.⁽¹³⁾ Apesar da condição que é apresentada, o farmacêutico deve sempre analisar de forma atenta a população com a qual está a lidar, uma vez que os idosos, grávidas, mulheres a amamentar, crianças ou doentes crónicos, estando estas populações enquadradas dentro do grupo das populações especiais, requerem uma maior precaução neste contexto.

6.3. Outros produtos de saúde

O farmacêutico deve ser um profissional com uma grande vastidão de conhecimentos, estes sempre em constante atualização, a fim de proporcionar um melhor aconselhamento de todos os produtos disponíveis para venda em farmácia comunitária. Estes encontram-se descritos no artigo 33º do Decreto-Lei nº 307/2007 de 31 de agosto, como medicamentos, substâncias medicamentosas, medicamentos e produtos veterinários, medicamentos e produtos homeopáticos, produtos naturais, dispositivos médicos, suplementos alimentares e produtos de alimentação especial, produtos fitofarmacêuticos, produtos cosméticos e de higiene corporal, artigos de puericultura e produtos de conforto.⁽²⁾

Durante o período de estágio, tive oportunidade de trazer ao de cima todo o conhecimento previamente adquirido ao nível de dermocosmética, que confesso que foi uma das áreas de maior interesse para mim na farmácia comunitária.

A FM trabalha com várias marcas/gamas de dermocosmética, nas quais destaco a SVR, Bioderma, La Roche Posay, Vichy, Caudalie, Filorga, Skinceuticals, Darphin, René Furterer e Cantabria Labs. Dada a grande dimensão física da farmácia e a diversidade de produtos, o período inicial de estágio foi fundamental para conhecer e explorar as gamas, tanto pela participação pequenas formações ou até mesmo pela análise produto a produto. Também a observação de aconselhamentos, por parte dos colaboradores, foi importante, para que possa aprender com todos e experienciar diversas situações.

Para além dos cosméticos, a FM, também apresenta uma elevada amostras de diferentes produtos, como por exemplo, suplementos alimentares e fitoterapia, nos quais destaco os produtos da Arkopharma e da ABoca, no qual aconselhei em enumeras situações, tais como, infeções urinárias, no qual suplementos com arando vermelho e *lactobacillus* podem aliviar sintomas e mesmo tratar infeções *minor* sem recurso a antibioterapia, para situações de transtornos do sono, com melatonina e extrato de passiflora e raiz de valeriana, situações de mialgias e fraqueza muscular, suplementos com colagénio e magnésio, eram os mais aconselhados para essas situações, entre muitas outras.

A homeopatia é uma área bastante explorada na FM, e tendo sempre em conta o caso apresentado, estes produtos são aconselhados para diversas situações, como por exemplo tosse, distúrbios do sono, recuperação e prevenção de estados gripais, e depois em eventos mais específicas que requerem um aconselhamento mais personalizado. Desde já é de referir que uma das Farmacêuticas da FM tem conhecimento especializado em homeopatia, sendo o aconselhamento destes produtos mais direcionados para a mesma.

A puericultura e produtos dedicados ao bebé e à mãe, também são produtos de grande procura, e mesmo com a baixa natalidade registada na zona do interior, não houve diminuição da procura de produtos e de aconselhamento farmacêutico sobretudo em situações de prevenção de estrias e marcas por parte da mãe, como por produtos de banho e hidratação para bebés com pele atópica, e claro, situações que requerem uma maior atenção por parte do farmacêutico, como a dermatite da fralda e crosta-láctea.

Também os produtos de higiene oral desempenham uma grande parte dos produtos que a FM tem ao dispor do utente, e viste que, o conhecimento que possuía era reduzido, tive desde logo de aprender mais sobre cada produto e de que modo poderia ser aconselhado. Situações como sensibilidade dentária, o uso correto de escovilhões e de colutórios, como em outras situações mais específicas como ortodontia e próteses dentárias eram as mais passíveis de aconselhamento por parte dos farmacêuticos.

A FM apresenta igualmente uma área dedicada aos produtos de uso veterinário. Estes produtos são dispensados para várias condições, nas quais destaco os desparasitantes externos e internos, as pilulas anticoncepcionais e até mesmo produtos para higiene oral

do animal. Para o uso de muitos destes produtos é necessário saber o peso do animal, se coabita com outros animais e se o mesmo sofre de alguma patologia, para que o aconselhamento seja o mais correto e completo.

Além das áreas já referidas anteriormente, também os produtos ortopédicos, como cintas, meias medicinais, calçado, entre outros, eram produtos com bastante procura por parte do utente, no qual devo acrescentar que foi enriquecedor a aprendizagem acerca destes produtos, uma vez que o meu conhecimento dos mesmos era reduzido.

Por fim, é importante referir que também a dispensa e aconselhamento de produtos, como o autoteste de deteção do antígeno do vírus SARS-CoV-2 foram importantes em situações de sintomatologia semelhante à encontrada nesta infeção. Também era solicitado para situações de ausência do país ou mesmo por segurança em situações de visita por algum familiar que não resida em território nacional.

7. Interação farmacêutico-utente-medicamento

A farmácia comunitária é uma das principais portas de entrada no Sistema de Saúde, tendo o farmacêutico uma maior predisposição para estabelecer uma relação de empatia e de confiança com o utente, permitindo ao profissional de saúde manter um acompanhamento e seguimento relativo a toda a farmacoterapia e historial do utente. Assim sendo, tal como é mencionado no Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, a atividade farmacêutica centra-se, no seu todo, no utente.⁽¹⁴⁾

Antes de começar no atendimento ao público, houve uma preparação prévia que consistiu na observação detalhada dos atendimentos realizados por todos os membros da equipa. Uma observação concentrada e minuciosa da postura, metodologia e atitude, são fundamentais para uma correta aprendizagem. Durante este período, que teve a duração de essencialmente mês e meio, aprendi o funcionamento do software informático *SoftReis*, sendo este bastante intuitivo e fácil de trabalhar. Também ao observar toda a equipa, deparei que cada um tem uma abordagem própria, sempre adequada ao utente em particular, existindo uma grande cooperação e entajuda por parte de todos os profissionais. No entanto, quando transitei para o atendimento, este exigiu uma maior concentração e conhecimento científico, mas também, uma postura correta e linguagem apropriada a cada situação.

Durante o meu estágio curricular, houve situações em que dispensei MSRM sem a apresentação prévia da receita médica, sempre após a confirmação que se tratava de situações pontuais urgentes, em que os utentes não possuíam receita, para levantar a medicação habitual para o tratamento de doenças crónicas. Em prol de uma melhor rastreabilidade destas situações particulares, em que se justifica a dispensa, é essencial que haja diálogo, entre o profissional e o utente, considerando sempre os riscos para a

saúde do mesmo se este suspender a terapêutica. É importante também verificar o histórico da ficha de cliente, para averiguar se realmente se trata da terapêutica habitual e quando foi a última vez que o utente se deslocou à farmácia para comprar a medicação. Esta informação está em constante atualização, uma vez que o software *SoftReis* guarda e atualiza toda a informação relativa à medicação do utente em questão. Nos casos em que se justificava esta dispensa, realizei uma venda suspensa que ficava associada à ficha do cliente até que este a regularizasse com a respetiva receita médica. Posto isto, vou apresentar alguns casos práticos que surgiram durante o meu estágio curricular.

7.1. Caso clínico nº1

Acompanhada pela sua mãe, o utente X chega à farmácia com queixas de tosse. De imediato foi questionado à mãe, visto se tratar de uma utente em idade pediátrica, acerca do tipo de tosse apresentado, se era seca ou com expetoração. No caso em questão, a tosse apresentada era uma tosse seca. Para além disso, é importante questionar também, a duração da tosse, a existência ou não de outros sintomas, se apresenta outros problemas de saúde ou alergias, e se o mesmo toma medicação de forma regular.

Para a tosse seca existem alguns produtos eficazes, nos quais destaco os antitússicos, como o dextrometorfano, a oxolamina e a levodropropizina. No entanto, tratando-se de uma criança de 3 anos, no qual não está recomendado o uso de antitússicos, e havendo outras alternativas mais seguras e igualmente eficazes no combate à tosse, podem ser usados demulcentes com o glicerol, o mel e xaropes com sacarose, que diminuem a tosse de uma forma indireta, ao proporcionar um revestimento protetor nos receptores sensoriais da mucosa faríngea. Nestas situações ainda se poderá recorrer ao uso de medicamentos homeopáticos, sendo que o xarope para a tosse pode ser usado em idade pediátrica.

Uma vez que se trata de uma criança aparentemente saudável, sem quais quer comorbilidades ou outros sintomas a apontar, dispensei o Grintuss pediátrico pois, para mim, era a opção que melhor se enquadrava no caso apresentado, visto que, este xarope é à base de mel, tendo este um efeito protetor da mucosa. Este xarope pode ser dado a partir de 1 ano de idade, sendo este seguro para este caso em particular. Relativamente às indicações de administração do suplemento alimentar, deve ser indicada a quantidade de xarope, que neste caso, o recomendado seria 5 mL de duas a quatro vezes por dia, sendo a última toma antes de dormir, para que a sua ação possa ser exercida durante a noite.

Também devem ser comunicadas algumas medidas não farmacológicas que poderão contribuir para diminuição do desconforto, como por exemplo, beber muita água, que

irá contribuir para hidratar a mucosa, e limpar cuidadosamente o nariz várias vezes por dia, e sobretudo nas crianças utilizar uma solução fisiológica.

7.2. Caso Clínico nº2

A utente Y chegou à farmácia com queixas de dor ao urinar (disúria), do aumento da frequência urinária (polaquiúria), e queixa-se que na noite anterior se levantou várias vezes para urinar (noctúria). A utente ainda informou de que os sintomas apareceram há dois dias e que não fez qualquer tipo de tratamento farmacológico. Perante estes sintomas, e depois de conferenciar com a farmacêutica que me estava a supervisionar, concluímos que a causa mais provável, para os sintomas apresentados pela utente, poderia ser a de uma infeção do trato urinário. De seguida, informei a utente, que na farmácia Moderna temos disponível um teste de vários parâmetros que são indicativos de uma possível infeção do trato urinário, se esta realmente estiver presente. Informei a utente que era um teste relativamente simples e que este poderia ser realizado na hora, se o desejasse. Assim, a utente, com o seu consentimento informado, decidiu realizar o teste Combur. De seguida, procedi à realização do teste, com a ajuda de uma farmacêutica, visto que seria a primeira vez que o iria realizar. No final da realização do teste são então interpretados os resultados obtidos, que no caso da utente Y estavam de acordo com o padrão, não indicando, em princípio, uma infeção urinária. No entanto, eu aconselhei a toma de um suplemento alimentar à base de probióticos e arando vermelho, uma vez que poderá ajudar nos sintomas e no aparecimento de uma eventual infeção. Importante reforçar também as medidas não farmacológicas, como a ingestão de muitos líquidos e a higiene íntima, nomeadamente, a limpeza correta de toda a zona íntima, usando produtos específicos. Informei ainda que, se os sintomas persistissem ou se surgissem novos sintomas, que deveria ser vista por um médico.

8. Preparação de medicamentos

8.1. Medicamentos manipulados

A farmácia, durante muito tempo, foi considerada o local preferido para a produção de medicamentos, porém, com o desenvolvimento da indústria farmacêutica tem havido uma diferenciação nas formas farmacêuticas e dosagens disponíveis para cada substância ativa, o que levou à diminuição da prescrição de manipulados por parte dos clínicos, que por consequência, a sua produção decresceu drasticamente.

Na FM não são preparados medicamentos manipulados. Deste modo quando são necessários medicamentos manipulados, estes são pedidos a outra farmácia, nomeadamente à farmácia Couto, garantindo assim aos utentes da FM o acesso a estes medicamentos.

Ao longo do meu estágio não tive oportunidade de preparar nenhum medicamento manipulado, no entanto foi-me esclarecido, que cada matéria-prima que entra na farmácia faz-se acompanhar de um boletim de análise, no qual, este se deve encontrar em conformidade com a Farmacopeia Portuguesa.

8.2. Preparação extemporânea

Existem uma variedade de medicamentos, os quais requerem uma preparação extemporânea, uma vez que possam ocorrer problemas de estabilidade física e/ou química, afetando assim a sua conservação. As preparações extemporâneas que eu realizei eram, na sua maioria, suspensões de antibióticos destinados a uso pediátrico, seguindo sempre as instruções do laboratório, da embalagem ou do folheto informativo. No âmbito deste tipo de preparações, é importante informar os utentes acerca de condições especiais de conservação, como refrigeração entre 2 a 8°C, caso estas venham descritas no folheto ou na embalagem. Também é importante frisar que a grande maioria são suspensões e que estas, antes de serem administradas, devem ser bem agitadas, para que possa ser garantida a uniformidade de dosagem em cada administração.

8.3. Preparação individualizada da medicação

A FM faz a preparação individualizada para o Lar do Amial, localizado na Menoita, no conselho da Guarda.

A preparação individualizada tem por base uma *pillbox*, contendo 28 compartimentos organizados em 7 linhas, correspondentes aos dias da semana, e 4 colunas que representam as diversas alturas do dia, identificadas com pictogramas alusivos, no entanto também podem ser identificados com palavras como jejum, pequeno-almoço, almoço, lanche, jantar e deitar. Em cada *pillbox* está registado o nome do utente, número de telefone, data de nascimento, nome da farmácia, contacto telefónico, identificação do farmacêutico que preparou e nome do médico assistente. Para cada utente está preenchida uma tabela terapêutica que se encontra arquivada no local próprio e inclui o nome, número de cliente, CNP, DCI, lote, validade, dosagem, posologia, forma do comprimido/cápsula, cor, observações e médico prescritor. Na duração do estágio foi-me explicado como se procede à preparação individualizada, desde a colocação dos medicamentos nos compartimentos, até ao encerramento das *pillbox*.

9. Serviços Prestados

A FM presta aos seus utentes uma grande diversidade de serviços, desde a medição de parâmetros bioquímicos como o colesterol total, os triglicéridos, o colesterol HDL, a glicémia e ácido úrico, como também a tensão arterial, o peso, a administração de vacinas

e medicamentos injetáveis e ainda a realização do teste Combur. Para além disso, a FM também tem à disposição consultas de nutrição, de podologia, de medicina tradicional chinesa e, ocasionalmente, consultas de dermatocósmética e tricologia. O meu papel como estagiário e futuro farmacêutico foi identificar, no decorrer do atendimento, situações que pudessem vir a beneficiar destes serviços, sendo feito o correto encaminhamento para os mesmos. É de ressaltar que todos os serviços prestados são realizados num ambiente tranquilo e adequado, onde estão reunidas todas as condições de privacidade e segurança.

Durante o estágio procedi à medição da tensão arterial, a realização do Combur test e determinação de glicémia, colesterol e triglicéridos. Os parâmetros bioquímicos são determinados com recurso ao aparelho Callegari™ Clini5, que se baseia na espectrofotometria e, por isso é bastante preciso. O princípio do Combur test é simples, uma vez que consiste numa tira de teste que avalia vários parâmetros que possam estar alterados aquando de uma infeção do trato urinário. Essa tira é então colocada na amostra de urina do utente, no qual cada parâmetro terá uma cor correspondente ao nível deste presente na urina, semelhante a uma tira de medição do pH.

No seguimento de cada medição, e perante os resultados obtidos fiz um aconselhamento personalizado, no qual aconselhei medidas não farmacológicas, como a mudança da alimentação e a prática regular de exercício físico, mas também reforcei a importância da adesão à terapêutica, sobretudo em utentes com patologias crónicas.

10. Ações de formação

Durante o meu estágio curricular na FM, participei e assisti a várias formações, algumas das quais de vários produtos farmacêuticos, como medicamentos, cosméticos ou dispositivos médicos. Como futuro farmacêutico sei que importante é apostar na formação, pois produtos novos surgem todos os dias, e mesmo que esse não seja o caso a informação científica está em constante atualização, nunca permanecendo estática. Por sugestão da farmácia, participei e assisti, tanto por via online, como presencialmente, a várias ações de formação, nas quais destaco uma formação acerca de fitoterapia, no qual achei muito educativa e cativante, uma outra sobre cosmética direcionada para o acne e outra para a rosácea, e ainda outra formação sobre proteção solar, muito importante visto que parte do meu estágio decorreu no verão, sendo esta a época alta tanto de procura como de aconselhamento do uso dos mesmos. Destaco também outra palestra acerca de nutrição clínica, sendo que o conhecimento que eu tinha, sobre o mesmo, era relativamente pouco e bastante incompleto. Todo o conhecimento adquirido com estas palestras e ações de formação foram importantes, não só para um melhor

direcionamento e aconselhamento do utente para estes produtos, mas também para consolidar conhecimento apreendido durante estes 5 anos de formação.

11. Contabilidade e gestão

11.1. Processamento do receituário e faturação

Diariamente são recebidas em ambiente de farmácia comunitária inúmeras receitas, que, para que possam ser compartilhadas pela entidade financeira responsável (geralmente o SNS), devem ser validadas pelo farmacêutico. Esta passa pela observação da receita, de forma a garantir que a mesma apresenta todos os aspetos obrigatórios, para que esta possa receber a participação por parte do Estado Português.

Nos casos de uma receita manual materializada, deve verificar-se se se encontra escrito o número da receita, a identificação do médico prescriptor através da apresentação do seu código e a sua rubrica, o nome do utente e o seu número, a identificação dos medicamentos a dispensar (por DCI ou pela marca comercial), como também a sua quantidade, a respetiva forma farmacêutica, posologia e duração do tratamento.

Já na receita manual deve constar, também, a exceção que levou o médico prescriptor a optar pela receita manual, ao invés da receita eletrónica. O local da prescrição é de preenchimento opcional. Para estas prescrições, também há que verificar a quantidade de medicamentos prescritos, dado que só podem ser prescritos, no máximo, 4 medicamentos diferentes, sendo que, de cada medicamento, só podem prescrever-se no máximo 2 embalagens. Contudo, para os medicamentos de dose unitária, excepcionalmente, podem ser prescritas 4 embalagens do mesmo medicamento. Posteriormente à verificação de todos estes pontos-chave e, após a dispensa dos medicamentos ao utente, é impresso, no verso da receita, um conjunto de números constituído pelo número da receita, o lote e a respetiva série, bem como a identificação da farmácia, identificação dos medicamentos dispensados compartilhados, a sua quantidade, forma farmacêutica, dosagem e tamanho da embalagem, PVP, preço de referência, valor pago pelo utente e valor da participação, data e código do operador responsável pela dispensa e a identificação do organismo responsável pela participação.

Tudo isto, permite a que todo o processo de faturação seja agilizado, visto que, as receitas manuais são agrupadas por lotes e por planos de participação, onde cada lote de receitas pode ter, no máximo, 30 receitas. Quando esse valor é ultrapassado, cria-se um segundo lote e quando um lote se encontra completo, é emitido o Verbete de Identificação do Lote, que é devidamente assinado e carimbado, ficando anexado ao conjunto das 30 receitas que constituem esse mesmo lote. A seguir à impressão no verso da receita, deve conferir-se o número da receita, e se este coincide com o do verso.

Também deve ser confirmado o organismo responsável pela participação, organizando-se depois as receitas nos respetivos lotes, por ordem numérica. Além de todas as informações supracitadas, o verso deve estar ainda assinado pelo farmacêutico e pelo utente, carimbado e com a respetiva data.

Uma vez por mês, no máximo até dia 10 de cada mês, o receituário previamente conferido, deve ser enviado para o Centro de Controlo e Monitorização do SNS (CCM-SNS), para que as receitas sejam novamente conferidas e para que a farmácia receba a percentagem da participação pelo respetivo organismo. Sempre que um determinado documento é identificado como devolvido, implica que este tem de ser corrigido e refaturado. Nestas situações, a farmácia deverá proceder à emissão da nota de crédito respetiva ou nota de débito regularizadora, referente aos erros e diferenças identificados pelo CCM-SNS, até dia 10 do seguinte mês. Após o fecho dos lotes, é emitida a Relação Resumo de Lotes para cada entidade de participação. Esta documentação, juntamente com as receitas médicas, as faturas e as notas de débito/crédito, ambas em duplicado, e os Verbetes de Identificação dos Lotes, devem ser enviados em formato papel para o CCM-SNS para efeitos de faturação. No caso de tal não se verificar ou se se verificar um desrespeito relativamente às normas aplicadas, será consequência a não aceitação ou a devolução à farmácia destes mesmos documentos acima mencionados, para que possam ser corrigidos. Após essa correção ter sido efetuada, as receitas médicas podem ser colocadas nos respetivos lotes do mês seguinte, para que possam ser novamente conferidas. ⁽¹⁵⁾

12. VALORMED

A VALORMED é uma sociedade, constituída no ano de 1999, sem fins lucrativos à qual está atribuída a responsabilidade da gestão dos resíduos de medicamentos e embalagens vazias fora de uso, com origem doméstica, através do SIGREM (sistema integrado de gestão de resíduos de embalagens e medicamentos). Esta sociedade surgiu da colaboração entre as associações representativas das empresas da indústria farmacêutica, distribuidores farmacêuticos e farmácias comunitárias em face da sua consciencialização para a especificidade do medicamento enquanto resíduo. ⁽¹⁶⁾

A FM aderiu ao programa VALORMED, e ao longo do meu estágio contribuí para a recolha, sensibilização para esta temática, fecho das caixas e impressão do talão, para posterior recolha pela entidade competente.

13. COVID-19

COVID-19 é o nome oficial, atribuído pela Organização Mundial de Saúde (OMS), à doença provocada pelo novo coronavírus, SARS-CoV-2, que pode causar uma infeção

respiratória grave semelhante a uma pneumonia. Este vírus foi identificado pela primeira vez em humanos, no final de 2019, na cidade chinesa de Wuhan, tendo havido disseminação internacional. Os sinais e sintomas descritos da COVID-19 são, essencialmente, tosse, dificuldade respiratória e febre. A transmissão deste novo coronavírus é feita através de gotículas que uma pessoa infetada transmite pela boca ou nariz quando fala, tosse ou espirra (e não utiliza as regras de etiqueta respiratória) podendo estas entrar diretamente para a boca ou nariz de uma pessoa que está muito próxima (a menos de 2 metros de distância). Esta também pode ser transmitida através das mãos, que tocam nas superfícies contaminadas com as gotículas expelidas pelas pessoas infetadas e que depois são levadas à cara, à boca ou ao nariz inadvertidamente, sem ter sido realizada a higienização das mãos.⁽¹⁷⁾

13.1 Regras e funcionamento

Devido à situação pandémica vivida no período da realização do meu estágio curricular em farmácia comunitária, a FM, juntamente com todas as farmácias comunitárias, implementaram várias medidas de limpeza, desinfeção e de distanciamento social, das quais se destacam o uso obrigatório de máscara, a desinfeção frequente das mãos e das superfícies como bacadas, terminais de multibanco, teclados entre outros objetos a cada hora, ou entre cada utilização e a desinfeção uma vez por dia de zonas como as áreas de espera, de atendimento e casas de banho. A farmácia também deve disponibilizar solução antisséptica de base alcoólica, em sítios como a entrada ou ao lado de dispensadores de senhas, sempre apelando ao seu uso, através de posters. Os colaboradores da farmácia devem ainda evitar o contacto com objetos pertencentes aos utentes, nomeadamente telemóveis. A farmácia ainda deve disponibilizar informação acerca da transmissão, sintomas e cuidados a ter durante a pandemia provocada pelo novo coronavírus, seja esta na forma de folhetos, pósteres ou mesmo por via oral durante um atendimento ou esclarecimento. ⁽¹⁷⁾ É importante salientar que esta informação esteve e está em constante atualização, sendo fundamental o farmacêutico dispor da informação o mais atualizada possível, daí a importância de uma constante aprendizagem, por parte dos profissionais de saúde acerca do SARS-CoV-2.

Como medida de preventiva e de contenção perante a pandemia, na FM foram implementados 3 turnos, diminuindo assim os contactos entre colaboradores. Esses 3 turnos eram compostos pelo turno da manhã, das 8:30h às 16h, com uma hora de almoço, onde este estava encarregue de fazer toda a abertura da farmácia. Depois o turno intermédio das 9h às 18h, com uma hora de almoço. E por fim, o turno da tarde que era das 13h às 20h da noite, em que inicialmente coincidia com o horário de fecho, mas que

mais tarde com o alívio das restrições aos horários de funcionamento passou a ser até às 22h.

Com o início do meu estágio curricular, também eu fui inserido num dos grupos no qual a rotatividade era feita semanalmente. Este sistema foi aplicado antes do meu estágio se iniciar, uma vez que na FM trabalham 12 profissionais, no qual seria impossível de cumprir qualquer regra de distanciamento social imposta pela Direção Geral da Saúde. Importante referenciar que no mesmo período de estágio, também duas alunas do curso de técnico de farmácia do Instituto Politécnico da Guarda estagiaram na FM, no qual cada estagiário tinha o seu próprio grupo e turno, com rotatividade de horário semanalmente, e de grupo mensalmente.

De um modo geral, todas as regras foram cumpridas de forma eficaz, visto não ter havido casos positivos de COVID-19 no período em que estive na farmácia, importante também referir alguns dos profissionais já tinham tido e recuperado da infeção e mais tarde, farmacêuticos e técnicos começaram a ser vacinados contra o SARS-CoV-2.

14. Conclusão

No decorrer destes 5 anos curriculares, é-nos apresentada uma abordagem teórica de várias patologias e de diversos tratamentos, no entanto, a aprendizagem prática não se resume apenas à componente laboratorial, mas também a um conjunto de *skills* e aprendizagens que são adquiridas em ambiente profissional. Como tal, este estágio foi uma importante fonte de conhecimento e de aperfeiçoamento, pois tive a oportunidade de acompanhar e executar procedimentos comuns numa farmácia comunitária, desde a encomenda de produtos até à sua dispensa, destacando a aprendizagem adquirida em gestão e faturação, uma vez que são áreas de extrema importância no domínio farmacêutico. A interação com os utentes, o aconselhamento e acompanhamento clínico foram cruciais para o aperfeiçoamento de diferentes formas de comunicação e abordagem, uma vez que são estas pequenas *skills* que nos tornam em melhores profissionais de saúde.

Era confrontado com distintas situações, das quais tive oportunidade de aplicar as bases adquiridas ao longo deste percurso académico. Foi através do estágio que percebi a importância do papel do farmacêutico enquanto prestador de serviços e cuidados de saúde na comunidade. Também o contato com o público e o aconselhamento dado por parte dos farmacêuticos é fundamental na promoção da saúde contribuindo para a melhoria da saúde pública, uma melhor qualidade de vida e uma melhor preservação do meio.

Infelizmente, a pandemia provocada pelo novo coronavírus veio mudar a forma como os farmacêuticos comunitários interage com os seus utentes, uma vez que a farmácia é um

espaço de saúde e de comunicação, onde as barreiras físicas impostas limitam o contacto como os mesmos. No entanto, o farmacêutico é dotado de uma grande capacidade de se adaptar, procurando novas ferramentas que permitam a manutenção do contacto com a comunidade, especialmente em casos de utentes mais fragilizados.

Foi sem sombra de dúvida uma das experiências mais gratificantes e enriquecedoras, já que me fez compreender melhor enquanto profissional de saúde, enquanto pessoa e enquanto membro integrante da sociedade.

15. Referências bibliográficas

- (1) - Ordem dos Farmacêuticos. A Farmácia Comunitária. Acedido a 16 de março de 2020, em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areasprofissionais/farmaciacomunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
- (2) - Decreto-Lei nº 307/2007, de 31 de agosto de 2007. Regime jurídico das farmácias de oficina. Diário da República.
- (3) - Decreto-Lei nº 171/2012, de 1 de agosto de 2012.
- (4) - Lei nº 16/2013, de 8 de fevereiro de 2013. Terceira alteração ao Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, que estabelece o regime jurídico das farmácias de oficina. Diário da República.
- (5) - Ordem dos Farmacêuticos. Boas Práticas para a Farmácia Comunitária. Norma geral sobre as infraestruturas e equipamentos, de 29 de abril de 2015.
- (6) - Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto de 2006. Estatuto do Medicamento. Diário da República.
- (7) - - INFARMED. Dispositivos médicos. Acedido a 25 de abril de 2020, em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos>
- (8) - Portaria nº 224/2015, de 27 de julho de 2015.
- (9) - INFARMED. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. Versão 6.0. 10 de outubro de 2019.
- (10) - Portaria nº 195-D/2015, de 30 de junho de 2015.
- (11) - Portaria nº 287/2016, 10 de novembro de 2016.
- (12) - Despacho nº 17690/2007, de 23 de julho de 2007.
- (13) - Ordem dos Farmacêuticos. Boas Práticas para a Farmácia Comunitária. Norma específica sobre o uso responsável do medicamento, de 10 de maio de 2018.
- (14) - Ordem dos Farmacêuticos. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.
- (15) - SPMS. (julho de 2021) Manual de Relacionamento das farmácias com o Centro de Controlo e Monitorização do SNS.
- (16) - VALORMED. Acedido a 7 de junho de 2020, em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
- (17) – Norma nº 003/2020 de 16 de março de 2020, com atualização a 22 de março de 2020. Infeção por SARS-CoV-2 (COVID-19) - Farmácia comunitárias.