

**Caracterização e avaliação das propriedades  
regenerativas do mel com própolis  
Experiência Profissionalizante na vertente de  
Farmácia Comunitária, Hospitalar e Investigação**

**Alexandra Marques Afonso**

Relatório para obtenção do Grau de Mestre em  
**Ciências Farmacêuticas**  
(Mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutora Ana Paula Coelho Duarte

**fevereiro 2020**



# Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço à minha orientadora professora doutora Ana Paula Duarte, ao Ângelo Luís e à Joana Gonçalves por todo o empenho e dedicação que sempre demonstraram ao longo de todo o meu trabalho, sem eles este não seria possível.

Agradeço a toda a equipa da Farmácia Holon Covilhã por me terem acolhido tão amavelmente, à Dra. Patrícia Pais por todas as horas de paciência, ao Eugénio por todos os momentos de alegria. À Dra. Raquel Bento e ao Dr. Cristiano Alves um muito obrigada por estarem sempre presentes nos últimos sete anos incluindo no meu estágio, sem vocês não teria sido o mesmo. Deixo ainda um agradecimento especial à minha orientadora de estágio a Dra. Patrícia Amaral por ter sido incansável.

A toda a equipa dos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira agradeço a simpatia e disponibilidade demonstrada durante o meu estágio.

Aos meus colegas e amigos um grande obrigada, não só por me terem ajudado a concluir esta dissertação, mas por terem feito parte da minha vida durante todos estes anos. À Carolina Silva por ser a melhor terapeuta que poderia desejar, por ser uma presença constante nos bons e maus momentos, por todos os anos, obrigada. À Marta Diogo por ter sido a melhor colega de casa que poderia pedir, não tenho como agradecer seis anos de amizade. À Nádia Rocha por ser a melhor adição à família, por todos os conselhos, idas ao ginásio e músicas inspiradoras. À Cláudia Fonseca por ser sempre uma fonte de motivação e um modelo a seguir. Ao Gonçalo Paulo e ao Gonçalo Almeida por terem acreditado em mim e me terem ajudado a crescer a nível associativo e pessoal. Agradeço ainda ao Miguel Vaz por ter sido sempre uma fonte de inspiração, ao André, à Vanessa, ao João Faria e à Joana por se preocuparem sempre comigo. A todos, obrigada.

Agradeço ao meu irmão por uma vida de apoio e carinho, por me ter incentivado a ingressar neste curso e por ter inspirado o tema da minha dissertação e a minha paixão por apicultura. Aos meus pais por todos os sacrifícios que fizeram para que eu pudesse concluir esta etapa da minha vida. Um grande agradecimento à minha mãe pelas três chamadas diárias e todas as horas de paciência, sem ti teria desistido.

Por último, ao meu namorado Alexandre por nunca ter desistido de mim nestes momentos finais, por toda a paciência, carinho, dedicação e amor. Sei que não sou fácil

num dia normal, muito menos durante a realização de uma dissertação de mestrado. Do fundo do meu coração, obrigada por acreditares em mim quando nem eu própria acreditei.

*"You never do things the easy way, do you?" she said.*

*"There's an easy way?" I asked."*

- Patrick Rothfuss, *The Wise Man's Fear*.

# Resumo

A presente dissertação encontra-se subdividida em três capítulos que abordam cada uma das etapas da unidade curricular “Estágio” do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

O primeiro capítulo aborda a componente de investigação, desenvolvida no Centro de Investigação de Ciências da Saúde (CICS), da Universidade da Beira Interior. Este foca-se na verificação da atividade regenerativa de amostras de mel com extrato de própolis em fibroblastos humanos da derme, seguido de uma análise de um possível sinergismo entre as propriedades bioativas de diferentes misturas de mel com extrato de própolis. Ao longo do capítulo, as características fitoquímicas e biológicas das amostras são determinadas e descritas e os resultados e conclusões apresentados.

Neste sentido, os compostos fenólicos foram determinados através do método clássico de *Folin-Ciocalteu*. A determinação dos flavonoides foi efetuada por um método colorimétrico que usa o cloreto de alumínio. Procedeu-se de seguida à determinação da atividade antioxidante por dois métodos com princípios e mecanismos distintos - o método do DPPH baseado na sequestração de radicais livres e o sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico que se baseia na atividade anti-peroxidação lipídica. Recorreram-se a dois métodos para avaliar a atividade anti-inflamatória e a viabilidade celular - um método baseado na desnaturação proteica e o método MTT, respectivamente. Por fim para avaliar a capacidade cicatrizante foi utilizado um ensaio de cicatrização - scratch wound healing assay.

O segundo capítulo descreve o estágio em Farmácia Comunitária realizado na Farmácia Holon Covilhã entre 16 de setembro de 2019 e 29 de novembro de 2019, sob orientação da Dra. Patrícia Amaral. Neste capítulo são abordadas as atividades realizadas que contribuíram para a minha experiência durante o estágio, assim como ilustradas as competências e funções dos farmacêuticos.

Por último o terceiro capítulo refere-se ao estágio em Farmácia Hospitalar realizado no Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira, no período de 4 de dezembro de 2019 a 24 de janeiro de 2020 sob orientação da Dra. Olímpia Fonseca. Neste capítulo são

descritas as competências adquiridas assim como o funcionamento dos serviços farmacêuticos

## **Palavras-chave**

Mel; própolis; fenóis; flavonoides; antioxidante; anti-inflamatória; fibroblastos; cicatrização; Farmácia Comunitária; Farmácia Hospitalar.

# Abstract

This dissertation is subdivided into three chapters that focus on the different stages of professional experience needed to obtain a master's degree in Pharmaceutical Sciences, based on laboratory research, hospital pharmacy and community pharmacy.

The first chapter describes the research project conducted at the Health Sciences Research Centre at University of Beira Interior. This project aims to check the regenerative activity of the honey with propolis extract samples in human dermal fibroblasts, followed by an analysis of a possible synergism between different mixtures of honey and propolis extract. Along the chapter, the phytochemical and biological characteristics of the samples are determined and described and the results and conclusions presented.

The phenolic compounds were determined with the Folin-Ciocalteu classic method. The flavonoids determination was made with a colorimetric method which uses aluminium chloride. Then, the antioxidant activity was assessed by two methods with distinct principles and mechanisms - the DPPH method based on the free radical scavenging and the  $\beta$ -carotene/linoleic acid system based on the lipidic anti-peroxidation activity. Two methods were used to evaluate the anti-inflammatory activity and cellular viability - one based on protein denaturation and a MTT method, respectively. Lastly, a scratch wound healing assay was used to evaluate the healing capacity.

The second chapter refers to the internship in Community Pharmacy held at Holon Pharmacy Covilhã from September 16th to November 29th, 2019 under the guidance of Dr. Patrícia Amaral. In this chapter the tasks performed, which added to my professional experience during my internship, are described while showing what the role and skills of a pharmacist are.

Lastly, the third chapter refers to the internship at the Hospital Pharmacy which took place at the Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira from December 4th, 2019 to January 24th, 2020, under the guidance of Dr. Olímpia Fonseca. This chapter describes the skills acquired as well as the operation of the pharmaceutical services.

## **Keywords**

Honey; propolis; phenolics; flavonoids; antioxidant; anti-inflammatory; fibroblasts; wound heal

# Índice

|  |    |
|--|----|
| Capítulo 1 – Investigação.....   | 1  |
| 1. Introdução.....   | 1  |
| 1.1. O mel.....  | 1  |
| 1.2. O própolis.....   | 2  |
| 1.3. Compostos fenólicos e flavonoides.....  | 4  |
| 1.3.1. Determinação dos fenóis totais.....   | 5  |
| 1.3.2. Determinação dos flavonoides.....   | 6  |
| 1.4. Atividades biológicas do mel e do própolis.....                                       | 6  |
| 1.5. Atividade antioxidante.....   | 6  |
| 1.5.1. Determinação da atividade antioxidante.....   | 8  |
| 1.6. Atividade anti-inflamatória.....  | 9  |
| 1.6.1. Determinação da atividade anti-inflamatória.....                                    | 11 |
| 1.7. Propriedades cicatrizantes.....   | 12 |
| 1.7.1. Determinação da viabilidade celular.....  | 14 |
| 1.7.2. Avaliação da capacidade de cicatrização in vitro - Scratch Wound Healing Assay..... | 14 |
| 2. Objetivos.....  | 15 |
| 3. Materiais e Métodos.....  | 17 |
| 3.1. Recolha e preparação das amostras.....  | 17 |
| 3.1.1. Preparação das amostras de mel.....   | 17 |
| 3.1.2. Preparação dos extratos de própolis.....  | 18 |
| 3.1.3. Preparação de amostras de mel com própolis.....                                     | 18 |
| 3.1.4. Diluição das amostras.....  | 19 |
| 3.2. Caracterização das amostras.....  | 19 |
| 3.2.1. Caracterização de compostos por FTIR:.....  | 19 |
| 3.2.2. Determinação dos fenóis totais.....   | 19 |
| 3.2.3. Determinação de flavonoides.....  | 20 |
| 3.3. Determinação da atividade antioxidante.....   | 21 |
| 3.3.1. Método do DPPH.....   | 21 |
| 3.3.2. Sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.....                                      | 22 |
| 3.3.3. Determinação da atividade anti-inflamatória.....                                    | 22 |
| 3.4. Cultura celular.....  | 23 |
| 3.4.1. Meio de cultura e outros compostos.....   | 24 |

|   |    |
|---|----|
| 3.4.2. Manutenção das culturas celulares e da área de trabalho .....                          | 24 |
| 3.4.2.1. Preparação dos meios de cultura.....   | 25 |
| 3.4.2.2. Descongelamento de células .....   | 26 |
| 3.4.2.3. Tripsinização .....  | 26 |
| 3.4.2.4. Criopreservação.....   | 27 |
| 3.4.2.5. Contagem de células.....   | 27 |
| 3.4.3. Preparação das soluções a testar .....   | 28 |
| 3.4.4. Ensaio de viabilidade celular .....  | 28 |
| 3.4.5. Ensaio de cicatrização in vitro - Scratch Wound Healing Assay.....                     | 30 |
| 4. Resultados .....   | 31 |
| 4.1. Caracterização fitoquímica .....   | 31 |
| 4.1.1. Caracterização dos compostos por FTIR .....  | 31 |
| 4.1.2. Determinação dos fenóis totais .....   | 33 |
| 4.1.3. Determinação de flavonoides .....  | 34 |
| 4.2. Caracterização biológica.....  | 36 |
| 4.2.1. Atividade antioxidante.....  | 36 |
| 4.2.2. Atividade anti-inflamatória.....   | 39 |
| 4.2.3. Atividade cicatrizante.....  | 41 |
| 4.3. Determinação da viabilidade celular.....   | 41 |
| 4.3.1. Determinação da capacidade de cicatrização in vitro - Scratch Wound Healing Assay..... | 43 |
| 5. Discussão.....   | 51 |
| 6. Conclusão .....  | 57 |
| 7. Bibliografia .....   | 59 |
| Capítulo 2 – Estágio em Farmácia Comunitária.....   | 63 |
| 1. Introdução .....   | 63 |
| 2. Grupo Holon.....   | 63 |
| 3. A Farmácia Holon Covilhã .....   | 64 |
| 3.1. Localização e horário .....  | 64 |
| 3.2. O espaço exterior.....   | 65 |
| 3.3. O espaço interior .....  | 65 |
| 3.4. Recursos humanos .....   | 67 |
| 3.5. Sistemas informáticos .....  | 68 |
| 3.6. Documentos científicos e fontes de informação .....                                      | 69 |
| 4. Armazenamento e aprovisionamento .....   | 70 |
| 4.1. Encomendas .....   | 70 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2. Receção de encomendas .....   | 71  |
| 4.3. Reclamações e devoluções .....  | 72  |
| 4.4. Marcação de preços e margens legais.....  | 73  |
| 4.5. Armazenamento.....  | 74  |
| 4.6. Gestão de prazos de validade.....   | 75  |
| 4.7. Controlo de temperatura e humidade.....   | 75  |
| 5. Interação farmacêutico-utente .....   | 76  |
| 6. Dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde.....                                    | 77  |
| 6.1. Medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM).....  | 78  |
| 6.1.1. Regimes de comparticipação .....  | 80  |
| 6.2. Medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) .....                                  | 81  |
| 6.3. Medicamentos sujeitos a legislação especial .....   | 82  |
| 6.3.1. Medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (MEP).....                                 | 82  |
| 6.3.2. Dispensa de produtos ao abrigo de protocolo específico.....                             | 83  |
| 7. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde .....                                 | 83  |
| 7.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene.....                                       | 83  |
| 7.2. Produtos para alimentação especial e dietética .....                                      | 84  |
| 7.3. Fitoterapia e suplementos alimentares.....  | 85  |
| 7.4. Produtos e medicamentos de uso veterinário (MUV) .....                                    | 86  |
| 7.5. Dispositivos médicos.....   | 86  |
| 8. Medicamentos manipulados e preparações extemporâneas.....                                   | 87  |
| 9. Outros cuidados de saúde prestados na farmácia .....  | 88  |
| 9.1. Serviço check saúde.....  | 88  |
| 9.2. Serviço de preparação individualizada de medicação (PIM) .....                            | 89  |
| 9.3. Serviço de administração de vacinas e injetáveis .....                                    | 90  |
| 9.4. Serviço de consulta farmacêutica .....  | 91  |
| 9.5. Serviço de nutrição, podologia, pé diabético, dermofarmácia e reabilitação auditiva ..... | 91  |
| 10. Farmacovigilância .....  | 92  |
| 11. Reciclagem de medicamentos.....  | 92  |
| 12. Receituário e faturação .....  | 93  |
| 13. Projetos na comunidade.....  | 94  |
| 14. Conclusão .....  | 95  |
| 15. Bibliografia .....   | 97  |
| Capítulo 3 – Estágio em Farmácia Hospitalar.....   | 101 |
| 1. Introdução.....   | 101 |

|   |     |
|---|-----|
| 1.1. Definição e competências dos serviços farmacêuticos hospitalares .....   | 101 |
| 1.2. Caracterização do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira .....  | 102 |
| 1.3. Organização dos serviços farmacêuticos e recursos humanos .....  | 102 |
| 2. Gestão dos serviços farmacêuticos: .....   | 104 |
| 2.1. Seleção e aquisição .....  | 105 |
| 2.1.1. Autorização de Utilização Excepcional (AUE) .....  | 106 |
| 2.1.2. Receção e conferência de produtos adquiridos .....   | 108 |
| 2.2. Armazenamento .....  | 109 |
| 2.2.1. Controlo de validades .....  | 112 |
| 2.2.2. Contagem de stock .....  | 114 |
| 2.2.3. Recolha de lotes ordenada .....  | 115 |
| 3. Distribuição .....   | 116 |
| 3.1. Sistema de distribuição tradicional .....  | 116 |
| 3.2. Sistema de distribuição por reposição por stocks nivelados.....  | 117 |
| 3.2.1. Sistema de distribuição semiautomática: Pyxis™.....  | 118 |
| 3.2.2. Sistema de distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU) .....   | 119 |
| 3.3. Distribuição de medicamentos em regime de ambulatório e medicamentos sujeitos a circuitos especiais de distribuição..... | 122 |
| 3.3.1. Setor de ambulatório .....   | 122 |
| 3.3.2. Distribuição de medicamentos em regime de ambulatório .....  | 123 |
| 3.4. Distribuição de medicamentos sujeitos a controlo especial .....  | 126 |
| 3.4.1. Estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas .....   | 126 |
| 3.4.2. Medicamentos hemoderivados .....   | 127 |
| 3.4.3. Medicamentos extra-formulário (FHNM) .....   | 128 |
| 3.4.4. Antibióticos de reserva.....   | 129 |
| 3.4.5. Desinfetantes e antissépticos .....  | 129 |
| 3.4.6. Eritropoietinas .....  | 130 |
| 3.4.7. Gases medicinais .....   | 130 |
| 4. Farmacotecnia.....   | 131 |
| 4.1. Preparação de nutrição parentérica .....   | 132 |
| 4.2. Reconstituição de fármacos citotóxicos .....   | 136 |
| 4.2.1. Procedimento em caso de derrame de citotóxicos .....   | 139 |
| 4.3. Controlo microbiológico.....   | 140 |
| 4.4. Preparação de formas farmacêuticas não estéreis .....  | 141 |
| 4.5. Produção de água purificada.....   | 143 |
| 4.6. Reembalagem de medicamentos.....   | 144 |

|  |     |
|--|-----|
| 5. Informação de medicamentos .....  | 146 |
| 6. Farmacovigilância.....  | 147 |
| 7. Participação do farmacêutico em ensaios clínicos.....   | 148 |
| 8. Farmacocinética clínica .....   | 150 |
| 9. Visita médica com acompanhamento farmacêutico.....  | 151 |
| 10. Comissões técnicas.....  | 152 |
| 10.1. Comissão de Farmácia e Terapêutica .....   | 152 |
| 10.2. Comissão de Ética para a Saúde .....   | 153 |
| 10.3. Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infecções e Resistências aos Antibióticos (GCL-PPCIRA) ..... | 154 |
| 11. Informação e documentação .....  | 155 |
| 12. Considerações finais e conclusões.....   | 156 |
| 13. Bibliografia .....   | 157 |
| Anexo I – Certificado de “Formação Profissional de Atendimento Holon Nível I” .....  | 161 |
| Anexo II – Circular Informativa INFARMED: N.º 143/CD/550.20.001.....   | 162 |
| Anexo III - Bolsas de alimentação parentérica disponíveis no CHUCB.....  | 163 |
| Anexo IV - Protocolos preparados pelos Serviços Farmacêuticos do CHUCB de 30 de dezembro de 2019 a 10 de janeiro de 2020. ....       | 164 |



# Lista de Figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1: Estrutura básica de um flavonoide.   | 5  |
| Figura 2. Estrutura química da galangina e crisina.  | 10 |
| Figura 3. Estrutura química da quercetina, ácido salicílico, ácido cafeico e éster fenil-<br>etílico do ácido cafeico. | 11 |
| Figura 4: Curva de calibração de fenóis totais.  | 20 |
| Figura 5: Curva de calibração de determinação de flavonoides.  | 21 |
| Figura 6: Cultura celular de NHDF em microscópio de contraste de fase.   | 23 |
| Figura 7: Disposição das amostras na microplaca no ensaio de MTT.  | 29 |
| Figura 8: Sobreposição dos espectros de FTIR das amostras de mel.  | 31 |
| Figura 9: Sobreposição dos espectros de FTIR das amostras de própolis e extratos de<br>própolis.                       | 32 |
| Figura 10: Sobreposição dos espectros de FTIR das amostras de mel, própolis e extratos<br>de própolis.                 | 32 |
| Figura 11: Concentração de fenóis totais nas diferentes amostras.  | 34 |
| Figura 12: Concentração de flavonoides totais nas diferentes amostras.   | 35 |
| Figura 13: Percentagem de Inibição nas diferentes amostras obtidas pelo método do<br>DPPH.                             | 37 |
| Figura 14: Percentagem de Inibição nas diferentes amostras obtidas pelo sistema $\beta$ -<br>caroteno/ácido linoleico. | 39 |
| Figura 15: Percentagem de Inibição nas diferentes amostras.  | 40 |
| Figura 16. Viabilidade Celular Relativa (%VCR) às 24h (barra cinza escura) e às 48h<br>(barra cinza clara)             | 42 |
| Figura 17. Estimativa da distância entre as margens da lesão nas amostras de mel.                                      | 48 |
| Figura 18. Estimativa da distância entre as margens da lesão nos extratos de própolis.                                 | 48 |
| Figura 19. Estimativa da distância entre as margens da lesão nas misturas.   | 49 |
| Figura 20: Organização dos Recursos Humanos na Farmácia Holon Covilhã.   | 68 |



## Lista de Tabelas

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1: Fenóis totais (g GAE/100 g amostra).   | 33  |
| Tabela 2: Equivalentes de Quercetina (g QE/100 g Amostra).   | 35  |
| Tabela 3: Percentagem de Inibição (%/100 g amostra) obtidas pelo Método do DPPH  | 37  |
| Tabela 4: Percentagem de Inibição (%/100 g amostra) obtida pelo Sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.                   | 38  |
| Tabela 5: Percentagem de Inibição (%/100 g amostra) da atividade anti-inflamatória.  | 40  |
| Tabela 6: Viabilidade celular relativa (% VCR).  | 41  |
| Tabela 8. Organização dos recursos humanos nos Serviços Farmacêuticos do CHUCB   | 104 |
| Tabela 9. Patologias com enquadramento legal para a cedência de medicamentos.  | 124 |
| Tabela 10. Patologias sem enquadramento legal, cuja cedência de medicamentos é efetuada nos Serviços Farmacêuticos do CHUCB. | 124 |



## Lista de Acrónimos

|                       |  |
|-----------------------|--|
| 97 X                  | Organismo de Receitas Eletrónicas Sem Erros  |
| ANF                   | Associação Nacional das Farmácias  |
| AUE                   | Autorização de Utilização Excepcional  |
| BSA                   | Sérum de albumina bovina   |
| CAPE                  | Éster fenetil-etílico do ácido cafeico   |
| CCF                   | Centro de Conferência de Faturas   |
| CCI                   | Comissão de Controlo de Infeção  |
| CEIC                  | Comissão de Ética para a Investigação Clínica  |
| CES                   | Comissão de Ética para a Saúde   |
| CFT                   | Comissão de Farmácia e Terapêutica   |
| CHUCB                 | Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira  |
| COX-1                 | Ciclo-oxigenase-1  |
| COX-2                 | Ciclo-oxigenase-2  |
| CFLH                  | Câmara de Fluxo de ar Laminar Horizontal   |
| CFLV                  | Câmara de Fluxo de ar Laminar Vertical   |
| CTT                   | Correios de Portugal   |
| DCI                   | Denominação Comum Internacional  |
| DIDDU                 | Distribuição Individual Diária em Dose Unitária  |
| DMSO                  | Sulfóxido de Dimetilo  |
| EDTA                  | Ácido Etilenodiamino Tetra-acético   |
| EP                    | Extrato de Própolis  |
| FBS                   | Soro Bovino Fetal  |
| FHNM                  | Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos   |
| FNM                   | Formulário Nacional de Medicamentos  |
| GAE                   | Equivalente de Ácido Gálico  |
| GCL-PPCIRA            | Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistências aos Antibióticos |
| FTIR                  | Espectroscopia de Infravermelhos Transformada de <i>Fourier</i>  |
| HTS                   | Triagem de alto rendimento   |
| IACS                  | Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde  |
| I $\kappa$ B $\alpha$ | Inibidor da enzima $\kappa$ B  |

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| IL-1 $\beta$                    | Interleucina-1 $\beta$  |
| iNOS                            | Óxido-nítrico sintase induzível                                 |
| M                               | Mel   |
| MEP                             | Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos                    |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | Carbonato de Sódio  |
| NADPH                           | Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato                       |
| NF- $\kappa$ B                  | Fator nuclear $\kappa$ B  |
| NO                              | Óxido nítrico   |
| nm                              | Nanómetros  |
| OF                              | Ordem dos Farmacêuticos   |
| P                               | Própolis  |
| PBS                             | Tampão Fosfato Salino   |
| PGE <sub>2</sub>                | Prostaglandina E <sub>2</sub>                                   |
| PIM                             | Preparação Individual da Medicação                              |
| PNPCI                           | Plano Nacional de Prevenção e Controlo da Infecção              |
| Pyxis™                          | Sistema de distribuição semiautomática                          |
| QE                              | Equivalente de quercetina                                       |
| RAM                             | Reação Adversa a Medicamentos                                   |
| rpm                             | Rotações por minuto   |
| RPMI 1640                       | Roswell Park Memorial Institute 1640                            |
| RPMI-C                          | Meio RPMI 1640 suplementado                                     |
| SIATS                           | Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde |
| SC                              | Serviços Clínicos   |
| SGICM                           | Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento          |
| SLH                             | Serviço de Logística Hospitalar                                 |
| SF                              | Serviços Farmacêuticos  |
| SNS                             | Sistema Nacional de Saúde                                       |
| SPMS                            | Serviços Partilhados do Ministério da Saúde                     |
| TGF- $\beta$                    | Fator de crescimento transformante $\beta$                      |
| TNF                             | Fator de necrose tumoral  |
| TNF- $\alpha$ IL-6              | Fator de necrose tumoral $\alpha$ e interleucina-6              |
| UAVC                            | Unidade de Acidentes Vasculares Cerebrais                       |
| UCI                             | Unidade de Cuidados Intensivos                                  |
| VMER                            | Viatura Médica de Emergência e Reanimação                       |
| VE                              | Vigilância Epidemiológica                                       |

# Capítulo 1 – Investigação

## 1. Introdução

### 1.1.O mel

O mel é um composto natural produzido pelas abelhas, maioritariamente *Apis melífera*, a partir de néctar, pólen e seiva de múltiplas plantas. O néctar, o pólen e a seiva são armazenados em células de cera, construídas pelas abelhas, onde irão ser misturados com água e enzimas digestivas e processados para formar o mel. As abelhas promovem depois a evaporação da água para que ocorra a concentração dos açúcares [1].

O mel constitui parte da dieta das abelhas pois contém hidratos de carbono essenciais ao seu metabolismo [1]. Este é constituído por vários açúcares, maioritariamente glucose e frutose, flavonoides e compostos fenólicos [2]–[6]. Apresenta ainda pequenas quantidades de minerais, vitaminas, proteínas e enzimas. A sua composição, cor e sabor variam consoante as espécies vegetais utilizadas na sua produção e o ambiente externo ao qual a colmeia se encontra exposta [3]–[6].

Este produto tem sido utilizado na medicina tradicional por inúmeras culturas ao longo de milhares de anos, maioritariamente no tratamento de queimaduras e lesões cutâneas infetadas [5], [7]. Atualmente tem sido explorado o potencial do mel no tratamento de certos tipos de cancro, da asma, das cataratas, de doenças inflamatórias gastrointestinais e de lesões cutâneas crónicas e infetadas [3], [4].

O mecanismo de ação do mel ao nível celular e as subseqüentes ações terapêuticas, derivam das suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias [2], [3], [7]. O mel apresenta ainda a capacidade de estimular o sistema imunitário, a proliferação celular e o desbridamento autolítico o que contribui significativamente para o processo de regeneração de lesões cutâneas [7].

A sua capacidade antibacteriana, antifúngica, e antiviral deriva do pH ácido, da elevada concentração de açúcares, do peróxido de hidrogénio e da presença de lisozimas, flavonoides e compostos fenólicos que previnem o desenvolvimento da maioria dos microrganismos [2], [3], [5]. Contudo, isto não significa que o mel seja completamente estéril, na realidade existem microrganismos capazes de proliferar

neste ambiente tais como *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ou *Clostridium botulinum* que apresentam potencial patogénico para o ser humano [5].

O potencial antioxidante do mel deriva da presença de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, tais como, a glucose oxidase, catalase, ácido ascórbico, carotenoides e ácidos orgânicos, os quais têm a capacidade de reduzir o *stress* oxidativo [3]. Os principais responsáveis pela atividade antioxidante do mel são os compostos fenólicos, nomeadamente o ácido gálico. Estes compostos inibem a citotoxicidade provocada pelo TNF- $\alpha$ , diminuem o número de células inflamatórias, estimulam os linfócitos B e T e modulam a atividade dos monócitos. O mel é ainda rico em flavonoides que estimulam a sequestração de radicais livres [7].

A ação antioxidante e anti-inflamatória associada aos compostos presentes no mel ajudam a reduzir a inflamação e a minimizar ou prevenir cicatrizes hipertróficas. O mel consegue ainda reduzir a concentração de prostaglandinas plasmáticas, reduzindo assim o edema e dor associados à inflamação [7].

## **1.2.O própolis**

O própolis é uma substância resinosa produzida pelas abelhas (*Apis mellifera*) proveniente da recolha de secreções resinosas e rebentos de plantas e da sua mistura com pólen e enzimas salivares. Este é utilizado pelas abelhas como selante natural e antisséptico, bem como para embalsamento de organismos estranhos que invadam a colmeia. [2], [5], [8]–[11].

O própolis é constituído por mais de 300 compostos, apresentando cerca de 50% de resinas, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de outros compostos orgânicos. Dentro dos compostos orgânicos podemos destacar os compostos fenólicos, como os flavonoides, terpenos, beta-esteroides, cetonas, aldeídos aromáticos e álcoois [5], [9]–[11]. Adicionalmente contem vários glúcidos, minerais, vitaminas, ácidos gordos e enzimas [12].

Tal como ocorre com o mel a composição do própolis varia consideravelmente dependendo da origem geográfica, espécies vegetais utilizadas na sua produção, estação do ano e estado de saúde geral da colmeia e, conseqüentemente, observam-se variações na sua atividade biológica [2], [5], [8], [10], [11]. A sua cor pode variar de

um tom verde a avermelhado ou castanho escuro dependendo da área geográfica e variedades botânicas [9], [10], [13].

A utilização de própolis na medicina tradicional remonta às grandes sociedades greco-romanas onde era utilizado como desinfetante cutâneo e bucal e existem relatos da sua utilização durante a segunda Guerra Mundial, no tratamento de lesões cutâneas. No antigo Egito era comumente utilizado no processo de mumificação e na Pérsia foi descrito no tratamento de eczemas, mialgias e reumatismo [9]–[12]. Atualmente é reconhecida a sua atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, hépato-protetora, anestésica local, imuno estimuladora e citostática [8], [10].

A atividade antimicrobiana mencionada deriva da presença de compostos fenólicos, flavonoides e compostos aromáticos que tornam o própolis numa substância bactericida, com capacidade para interromper a divisão celular e síntese proteica das bactérias e destruir a parede celular das mesmas, tem ainda a capacidade de impedir a entrada de certos vírus nas células, e alterar a replicação viral [9]–[11].

O própolis apresenta elevada atividade antioxidante devido aos compostos fenólicos que têm a capacidade de doar iões de hidrogénio aos radicais livres, protegendo as células das reações de oxidação. Os compostos fenólicos têm ainda a capacidade de penetrar a epiderme e a derme, impedindo o *stress* oxidativo produzido por radiações e diminuindo os seus efeitos nefastos nos lípidos, ácidos nucleicos e proteínas [10].

O própolis, relativamente ao mel, apresenta quantidades relativas superiores de compostos fenólicos o que poderá sugerir uma maior atividade antioxidante e antimicrobiana [2].

A presença de flavonoides confere ao própolis propriedades anti-inflamatórias, que impedem a produção de leucotrienos e prostaglandinas pelos glóbulos brancos e retardam a atividade da mieloperoxidase, ornitina descarboxilase, tirosina-cinase e NADPH-oxidase [10].

É extraído comercialmente utilizando solventes como etanol, metanol, clorofórmio, éter e acetona, mas a utilização de etanol parece apresentar melhores resultados [10], [13].

### **1.3.Compostos fenólicos e flavonoides**

Os polifenóis são uma classe heterogénea de compostos químicos que pode ser dividida em flavonoides e não-flavonoides. Estes compostos são normalmente resultantes do metabolismo secundário de plantas e caracterizam-se pela presença de múltiplos grupos fenólicos, numa estrutura mais ou menos complexa [6].

Os compostos fenólicos contêm um anel fenólico e pelo menos um ácido carboxílico orgânico e podem ser divididos de acordo com a sua estrutura [6].

Estes compostos são encontrados numa grande variedade de plantas e, tendo em conta que o mel e o própolis são produzidos a partir de néctar e seiva de plantas, é expectável que o seu conteúdo em compostos fenólicos seja elevado [6].

Os flavonoides são um subgrupo de compostos fenólicos e representam uma das classes de compostos químicos de origem vegetal com maior importância e diversidade, os quais estão presentes em raízes, folhas, flores e frutos das plantas [14].

Os flavonoides podem ser divididos de acordo com o grau de oxidação do anel C (Figura 1) em flavonóis, flavonas, flavanóis, flavanonas, antocianidinas, chalconas e isoflavonas. Existem outros grupos de compostos fenólicos com importância, nomeadamente os ácidos fenólicos [6].

O mecanismo de ação mais proeminente dos flavonoides é a sua capacidade antioxidante, mais concretamente, a sua capacidade de sequestração de radicais livres. Devido aos seus grupos hidroxilos altamente reativos os flavonoides ao serem oxidados pelos radicais originam um radical menos reativo e estável [14].

Os flavonoides possuem ainda efeitos anti-inflamatórios na medida em que conseguem inibir enzimas como a ciclooxigenase e lipoxigenase, apesar de o mecanismo inibitório não ser bem claro, levando à redução da libertação de ácido araquidónico. Os flavonoides tem ainda a capacidade de inibir a biossíntese de eicosanoides, como as prostaglandinas que estão envolvidas em vários processos de resposta imunológica [14].

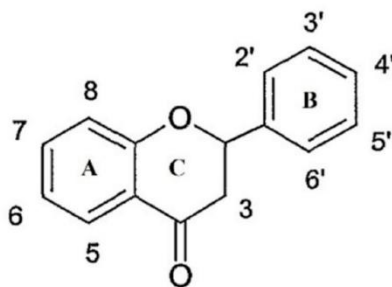


Figura 1: Estrutura básica de um flavonoide.

(adaptado de Cianciosi *et al.*) [6]

### 1.3.1. Determinação dos fenóis totais

A quantificação espectrofotométrica dos compostos fenólicos totais pode ser realizada por vários métodos, no entanto o método clássico colorimétrico do reagente de *Folin-Ciocalteu* é o mais extensivamente utilizado. Por este motivo esta técnica foi selecionada para ser aplicada neste trabalho, usando soluções metanólicas das amostras de acordo com Luís *et al.* 2014 [15].

Este método utiliza o reagente *Folin-Ciocalteu* que é composto por uma mistura de ácido fosfomolibdico e ácido fosfotúngstico, comumente designado de ácido fosfomolibdicotúngstico. Neste reagente o molibdénio e o tungsténio encontram-se num estado de oxidação que resulta numa coloração amarela. Na presença de compostos redutores tais como os compostos fenólicos e em meio alcalino o estado de oxidação do molibdénio e tungsténio altera-se e forma-se uma coloração azul que permite a medição colorimétrica e a determinação da concentração dos compostos redutores [16].

O pigmento azul possui um pico de absorção máxima a 765nm que poderá ser analisado espectrofotometricamente. Os picos dependerão do tipo de amostras, do pH e da composição quantitativa das misturas de fenóis [16].

Este método é muitas vezes utilizado para determinar fenóis totais, no entanto apresenta limitações de quantificação uma vez que não é específico para compostos fenólicos e poderá quantificar outros compostos com capacidade redutora do reagente *Folin-Ciocalteu* [16].

### **1.3.2.Determinação dos flavonoides**

A determinação dos flavonoides pode ser difícil de realizar pois a maioria dos métodos quantifica outros compostos, o que pode interferir no doseamento dos flavonoides. Podem ser utilizados vários métodos colorimétricos, espectrofotométricos ou cromatográficos [17].

Um dos métodos utilizado para quantificação dos flavonoides é um método que usa o cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ), o qual foi usado neste trabalho segundo o protocolo proposto por Luís *et al.* 2014 [15].

Neste método, o catião do alumínio em solução metanólica forma complexos estáveis com os flavonoides, ocorrendo a formação de complexos de alumínio-flavonoide. Este complexo absorve a um comprimento de onda superior ao de outras substância fenólicas, diminuindo o grau de interferência e aumentando a precisão da determinação. A solução adquire cor amarela intensa e pode ser realizada a análise colorimétrica a aproximadamente 415-420 nm [17].

## **1.4.Atividades biológicas do mel e do própolis**

### **1.5.Atividade antioxidante**

A atividade antioxidante de algumas substâncias apresenta elevada importância no contexto da saúde, uma vez que, contribui para a diminuição do *stress* oxidativo e consequentemente diminui a progressão de determinadas patologias, como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, cancro, diabetes e aterosclerose [5], [12].

Os radicais livres e outros agentes oxidativos são extremamente importantes no mecanismo de ação de alguns processos biológicos e podem induzir danos oxidativos em biomoléculas essenciais ao bom funcionamento celular como os glúcidos, as proteínas, os lípidos e os ácidos nucleicos, podendo induzir a morte das células afetadas [5], [12], [13].

Os tecidos dos organismos vivos possuem agentes e mecanismos protetores contra o *stress* oxidativo, possuindo maioritariamente sistemas enzimáticos como a superóxido dismutase, catalase, peroxidase. Algumas moléculas de baixo peso molecular como o tocoferol, ácido ascórbico e polifenóis têm a capacidade de diminuir os efeitos nefastos sobre as células [5].

Alguns dos mecanismos que potenciam a atividade antioxidante baseiam-se na sequestração de radicais livres, doação de átomos de hidrogénio, quelação de iões metálicos e na capacidade de algumas substâncias agirem como substrato para os radicais [5].

Os compostos fenólicos e flavonoides são caracterizados por possuírem uma elevada atividade antioxidante, que se deve na grande maioria à estrutura destes compostos. Estes são capazes de inibir a atividade de certas enzimas, que inibem por sua vez a produção de radicais livres de oxigénio, de potenciar a sequestração dos radicais e interromper reações que originam peroxidação lipídica, de quelar iões metálicos de ferro e cobre, que estão normalmente envolvidos no processo de criação de radicais, ou de potenciarem a ação dos outros antioxidantes [5], [12].

Em lesões crónicas os neutrófilos e macrófagos libertam elevados níveis de radicais livres de oxigénio. A exposição prolongada do tecido a estes radicais causa dano celular e pode aumentar o tempo necessário para uma correta cicatrização. Por este motivo, a aplicação de compostos antioxidantes pode diminuir o tempo necessário para a ocorrência da mesma [7].

O mel contém vários compostos que exibem atividade antioxidante, como é o caso de certos aminoácidos, proteínas, carotenos, compostos fenólicos, flavonoides, ácido ascórbico e ácidos orgânicos. É ainda possível que os vários compostos manifestem um efeito sinérgico [5], [18].

O mel contém antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos e por este motivo consegue atuar em diferentes níveis celulares como um antioxidante natural ideal. Esta atividade a nível celular pode reduzir reações oxidativas por inibição da formação de radicais livres de cobre e ferro, e consequentemente reduzir o processo inflamatório [7].

Os compostos fenólicos são os compostos com maior potencial antioxidante no mel, nomeadamente o ácido gálico. Tem sido sugerido que outros ácidos orgânicos presentes no mel, como o ácido cítrico, málico e gluconato, contribuem para a ação antioxidante por quelarem metais e assim aumentarem o efeito dos flavonoides [5], [18].

O seu mecanismo de ação pode advir da capacidade para reduzir e quelar iões férricos que catalisam a peroxidação lipídica. Os flavonoides presentes no mel também têm a

capacidade de sequestração de radicais livres de oxigênio, radicais de peróxil, alquil peróxido, hidroxilo e superóxido [7]. Mel de cor mais escura apresenta concentrações superiores de fenóis totais, e conseqüentemente maior conteúdo antioxidante [7].

O própolis também apresenta uma forte atividade antioxidante, em grande parte devido ao seu conteúdo em ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, esteroides, aldeídos e cetonas [5].

Os compostos fenólicos têm a capacidade de conseguirem doar elétrons de hidrogênio aos radicais livres e proteger as células das reações de oxidação [10]. Os polifenóis presentes no própolis podem facilitar a re-epitelização da pele quando existem elevados níveis de radicais livres, como é o caso das lesões crônicas. Ao inibir a formação destes radicais o própolis providencia uma proteção, por retardar a ativação do NF- $\kappa$ B, inibir a síntese de eicosanoides, reduzir a expressão de várias citocinas inflamatórias e inibir o dano oxidativo celular [7].

O própolis tem ainda a capacidade de extinguir os radicais livres na epiderme [13]. A vanilina e os ácidos fenólicos presentes nesta substância têm a capacidade de penetrar a epiderme e a derme e proteger estas camadas contra os radicais livres provocados por radiação [10].

#### **1.5.1.Determinação da atividade antioxidante**

A atividade antioxidante pode ser determinada por diferentes métodos com princípios de reação e mecanismos diferentes. Esta atividade pode variar dependendo do método de determinação utilizado, por esse motivo, neste trabalho foram utilizados dois métodos distintos, que avaliam dois mecanismos antioxidantes diferentes.

Um dos métodos mais usados baseia-se na sequestração de radicais livres, o método do DPPH, o qual foi usado neste trabalho de acordo com Luís *et al.* 2018 [19]. Este método faz uso da capacidade de sequestração do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) que reage com substâncias dadoras de hidrogênio. Na presença de antioxidantes ou espécies de radicais livres o DPPH, de cor púrpura, sofre uma redução e transforma-se em difenilpicril-hidrazina, de cor amarela [20].

A coloração púrpura do DPPH origina picos de absorção a 515-517 nm, ao se dar a reação e a solução se tornar amarela existe um decréscimo da absorvância, ou seja, na presença de compostos antioxidantes ou radicais a absorvância diminui [20].

A partir dos valores obtidos é possível determinar a percentagem de atividade antioxidante ou capacidade sequestradora de radicais livres. Esta percentagem corresponde à percentagem de DPPH que foi consumida pelo antioxidante, ou seja, quanto maior o consumo de DPPH maior será a atividade antioxidante [19].

Outro método usado neste trabalho, de acordo com o procedimento descrito por Luís *et al.* 2018 [19], baseia-se na atividade anti-peroxidação lipídica usando o sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Este método é baseado na descoloração que o  $\beta$ -caroteno sofre na presença do radical livre do ácido linoleico, que pode ser constatada por métodos espectralfotométricos. O radical livre peróxido do ácido linoleico reage com as moléculas insaturadas do  $\beta$ -caroteno levando a que as ligações duplas sejam oxidadas, levando assim a que o  $\beta$ -caroteno perca a coloração laranja [21].

Os antioxidantes presentes nas soluções de teste têm o potencial de prevenir a degradação do  $\beta$ -caroteno por reagirem com o radical livre peróxido do ácido linoleico ( $\text{LOO}\cdot$ ) [21].

Em suma, caso a solução a testar contenha compostos antioxidantes a solução manterá uma coloração laranja, caso não contenha poder antioxidante a solução perderá esta tonalidade e a absorvância registada será inferior a 470 nm [21].

## **1.6. Atividade anti-inflamatória**

A inflamação é a resposta biológica do tecido vascular para eliminar estímulos nocivos tais como microrganismos e corpos estranhos. A inflamação é normalmente responsável pela sensação de dor e edema em lesões [5], [7], [22].

Durante o processo inflamatório o tecido lesado liberta diversos mediadores. Estes mediadores podem ser aminas vasoativas (histamina e serotonina), eicosanoides (metabolitos do ácido araquidónico, prostaglandinas e leucotrienos), fatores de agregação plaquetar, citocinas (interleucinas e TNF), quininas (bradicinina) e radicais livres de oxigénio [5], [23].

As propriedades anti-inflamatórias do mel e própolis são normalmente atribuídas à presença de flavonoides que inibem o processo inflamatório. Dentro dos flavonoides a galangina (Figura 2) tem particular interesse por ter a capacidade de inibir a enzima

ciclooxigenase-2 (COX-2) que catalisa a transformação do ácido araquidônico em prostaglandinas associadas ao processo inflamatório. A galangina inibe ainda a atividade da lipo-oxigenase, limitando a ação da poligalacturonase e reduzindo a expressão da isoforma induzível da COX-2 [5].

Tanto o mel como o própolis apresentam crisina (Figura 2), uma substância com potencial anti-inflamatório, cujo mecanismo de ação se relaciona com a supressão da atividade da COX-2 e da óxido-nítrico sintase induzível (iNOS) [5].

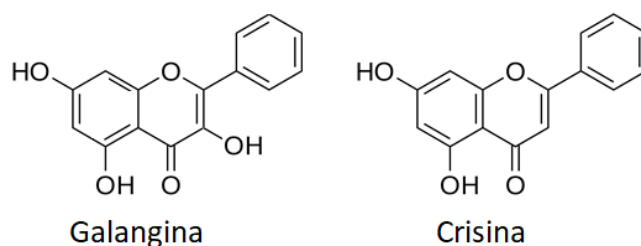


Figura 2. Estrutura química da galangina e crisina.  
(adaptado de Cianciosi *et al.*)[6]

O mel consegue reduzir os efeitos dos radicais livres nas células, prevenindo alterações estruturais nos lípidos, proteínas e ácidos nucleicos, o que por sua vez previne a necrose tecidual. O mel tem ainda capacidade de estimular os monócitos a libertar citocinas inflamatórias, incluindo TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  e NO que podem induzir os fibroblastos a sintetizar colagénio. Estas citocinas iniciam e amplificam o processo inflamatório [7].

Por outro lado, os compostos fenólicos presentes no mel que apresentam atividade anti-inflamatória diminuem a severidade da inflamação, desenvolvendo-se assim uma fase inflamatória equilibrada. Durante a fase inflamatória o mel tem ainda a capacidade de estimular neutrófilos, macrófagos e a fagocitose [7].

O própolis apresenta potencial anti-inflamatório nas fases agudas e crónicas da inflamação, principalmente devido ao elevado conteúdo em polifenóis [12]. Este produto contém na sua composição várias substâncias com potencial anti-inflamatório, incluindo o ácido cafeico, a quercetina, o ácido salicílico (Figura 3) e galangina, que suprimem a síntese de prostaglandinas e leucotrienos, a atividade da mieloperoxidase, NADPH-oxidase, ornitina decarboxilase e proteína tirosina-quinase [23].

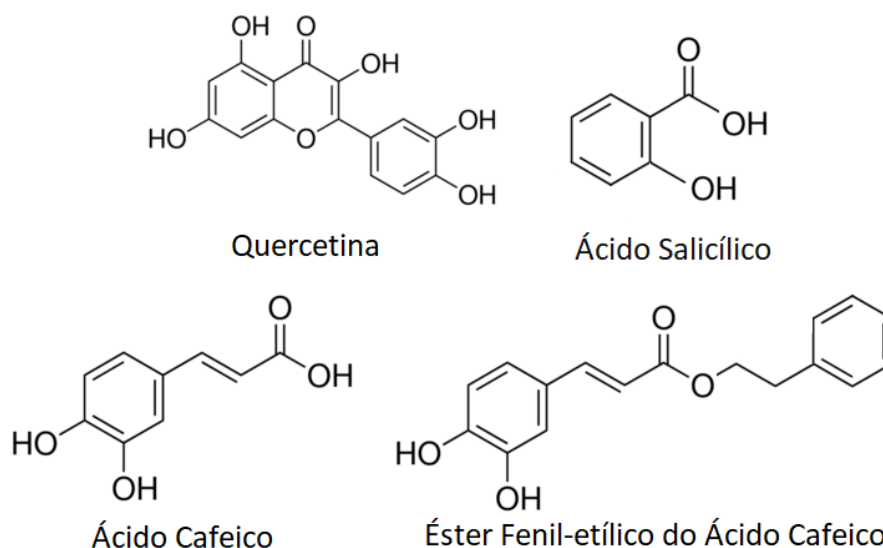


Figura 3. Estrutura química da quercetina, ácido salicílico, ácido cafeico e éster fenil-etílico do ácido cafeico.

(adaptado de Viuda-Martos *et al.* e Cianciosi *et al.*)[5], [6]

A galangina e quercetina presentes no própolis previnem a ativação da cicloxigenase e lipoxigenase e reduzem os níveis de prostaglandina E2 (PGE<sub>2</sub>) e expressão da COX-2. O própolis suprime a fosforilação do inibidor da proteína de ligação  $\kappa$ B (I $\kappa$ B $\alpha$ ) e ativador de proteína-1, mas não tem a capacidade de afetar a degradação do I $\kappa$ B $\alpha$ . Este é ainda capaz de bloquear a ativação do fator nuclear  $\kappa$ B (NF-  $\kappa$ B) [23].

O éster fenetil-etílico do ácido cafeico (CAPE), um dos componentes bioativos do própolis, é responsável pela inibição da produção de citoquinas e quimioquinas, proliferação de linfócitos T e produção de linfoquinas [23]. Este composto consegue inibir a liberação de ácido araquidônico da membrana celular o que leva à supressão da atividade da COX-1 e COX-2 e inibição da ativação do gene para a expressão da COX-2 [5].

### 1.6.1.Determinação da atividade anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória pode ser determinada por métodos indiretos que avaliem propriedades intrínsecas associadas ao processo inflamatório. Para a determinação da atividade anti-inflamatória neste trabalho utilizou-se um método *in vitro* de anti-desnaturação ou estabilização que se baseia na suposição de que a desnaturação proteica é uma das causas de inflamação [24].

Para tal foi usada uma solução de S rum de Albumina Bovina (BSA) que ao ser aquecida sofreu um processo de desnatura o [24]. No caso das amostras demonstrarem a capacidade de inibir a desnatura o de proteínas poderá ser indicativo de apresentarem atividade anti-inflamatória por inibi o de desnatura o proteica [24].

## **1.7. Propriedades cicatrizantes**

A cicatriza o   um processo complexo que ocorre em quase todos os tecidos após exposi o a um estímulo destrutivo e que envolve a intera o entre múltiplas células, a matriz extracelular, fatores envolvidos na resposta inflamatória e revasculariza o. Este processo pode ser dividido em três fases, a inflama o, a prolifera o e a remodela o [7], [22], [25]. Pode ser desencadeada por compostos químicos ou biológicos, incluindo enzimas pr -inflamatórias, citocinas e compostos de baixo peso molecular como os eicosanoides [5].

A fase inflamatória dura aproximadamente 4 dias e   caracterizada pela acumula o de plaquetas no local da lesão, seguida da migra o de células do sistema imunitário, neutrófilos e macrófagos [22]. Esta fase ocorre imediatamente após a lesão no tecido para preven o de hemorragia e perda de fluidos, remo o de tecido morto ou desvitalizado e para preven o de infe o. A hemóstase   atingida pela forma o do tampão plaquetário, seguido da matriz de fibrina que se converte no suporte para a infiltra o de células [25].

A segunda fase, a fase proliferativa, ocorre 2 a 10 dias após a lesão e   caracterizada pela migra o e prolifera o de vários tipos de células. Inicialmente ocorre a migra o dos queratinócitos sobre a derme lesionada, seguida de angi nese e por fim, os fibroblastos são atraídos das margens da lesão ou da medula óssea e estimulados pelos macrófagos, observando-se a diferencia o de alguns fibroblastos em miofibroblastos. Os fibroblastos e miofibroblastos interagem e produzem matriz extracelular maioritariamente composta por colagénio tipo III [22], [25].

A última fase, a fase de remodela o ou matura o, inicia-se 2 a 3 semanas após a lesão e pode durar até mais de 1 ano. Durante esta fase os processos anteriores diminuem e cessam devido   apoptose ou migra o das células endoteliais, macrófagos e miofibroblastos, formando-se uma matriz acelular. Após 6 a 12 meses a matriz sofre remodela o e o colagénio tipo III   transformado em colagénio tipo I, devido às

metaloproteinases secretadas por fibroblastos, macrófagos e células endoteliais, o que fortalece o tecido remodelado [22], [25].

O mel promove a cicatrização por redução do edema, inflamação e dor consequente, por facilitar a síntese de colagénio, a angiogénese, estimular o desenvolvimento de fibroblastos e células epiteliais, promover a granulação e por prevenir a formação de tecido cicatricial e queloides [7].

O mel tem a capacidade de estimular a angiogénese, devido ao seu pH ácido que provoca a libertação de oxigénio da hemoglobina, estimulando a granulação, formação de tecido e regeneração tecidular. Por outro lado, o mel acelera a contração da lesão por estimulação dos fibroblastos e miofibroblastos e por potenciar a deposição de colagénio [7].

O peróxido de hidrogénio presente no mel pode estimular o crescimento e proliferação de fibroblastos em cultura, sendo que os compostos fenólicos apresentam um efeito protetor contra os efeitos nefastos do peróxido de hidrogénio [7].

O própolis apresenta várias propriedades que em conjunto potenciam a cicatrização, tais como a sua capacidade antimicrobiana, adstringência, anestésica, antioxidante e anti-inflamatória [13].

Alguns estudos têm demonstrado uma aceleração da cicatrização aquando da aplicação tópica de própolis, por estimulação da síntese e libertação de glicosaminoglicano, o qual é necessário para a formação de tecido de granulação no leito da lesão, crescimento tecidular e encerramento da ferida [23].

O tratamento com própolis estimula o aumento dos componentes da matriz extracelular durante a fase inicial da cicatrização, seguido de uma redução das moléculas da matriz. Considera-se que o efeito biológico advém da habilidade de estimular a expressão do fator de crescimento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) que participa nas fases iniciais de hemóstase e inflamação [13].

A existência excessiva de mastócitos pode ser prejudicial ao processo regenerativo, aumentando a formação de tecido cicatricial e inflamação. A aplicação tópica de própolis tem o potencial para diminuir o número de mastócitos, devido ao éster fenil-etílico do ácido cafeico e outros compostos presentes no própolis [23].

### **1.7.1.Determinação da viabilidade celular**

O método do Brometo de 3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), foi o primeiro ensaio para verificação da viabilidade celular em placas com 96 poços adaptado a HTS (high throughput screening). Este método é bastante sensível e fácil de realizar e pode ser utilizado para avaliar a viabilidade e proliferação celular [26]. Por este motivo foi o método aplicado neste trabalho.

O princípio deste método baseia-se no facto de as células viáveis com metabolismo ativo terem a capacidade para converter MTT num composto de cor roxa, o formazano, o qual possui um pico de absorvância perto dos 570 nm. Quando as células morrem estas perdem a capacidade de conversão e como tal a formação de cor roxa serve como indicador da viabilidade celular [26]. A quantidade de formazano será proporcional ao número de células viáveis, e é medido por verificação das alterações de absorvância a 570 nm, utilizando um espectrofotómetro com leitura de placas [26].

Se os valores das absorvância das amostras forem inferiores aos valores do controlo isto indica que ocorreu uma redução da taxa e proliferação celular e redução da viabilidade. Pelo contrário, se os valores das absorvâncias das amostras forem superiores aos valores de controlo isto indica que ocorreu um aumento da viabilidade celular e da proliferação celular.

### **1.7.2.Avaliação da capacidade de cicatrização *in vitro* - *Scratch Wound Healing Assay***

Para avaliação da capacidade cicatrizante é usado o ensaio de cicatrização *Scratch Wound Healing Assay*, o qual é um ensaio simples comumente utilizado para medir a migração celular, que pretende mimetizar *in vitro* as condições apresentadas *in vivo*, aquando de uma lesão numa camada celular [27].

Para realizar este ensaio deverá existir uma camada de células confluentes na qual seja realizada uma zona de separação com a ponta de uma micropipeta que simula uma lesão. Depois a cultura celular deverá ser observada ao microscópio ao longo do tempo para verificar o tempo decorrido até obter novamente 90% de confluência [28].

Ao adicionar os compostos em estudo ao meio de cultura, depois de realizada a zona de separação, poderá ser analisada a capacidade dos compostos de favorecerem a migração celular, ou seja, a capacidade de cicatrização [28].

## **2.Objetivos**

Este trabalho de investigação teve como objetivos principais a verificação da atividade regenerativa de amostras de mel com própolis em fibroblastos humanos da derme e a análise de um possível sinergismo entre as propriedades bioativas de diferentes misturas de mel com extrato de própolis.

Para tal foram avaliadas as características fitoquímicas e biológicas das amostras de mel de cores diferentes, produzidas em épocas do ano diferentes e recorrendo consequentemente a espécies vegetais distintas, das amostras de extrato de própolis e das misturas de mel com extrato de própolis a diferentes concentrações.



## **3. Materiais e Métodos**

### **3.1. Recolha e preparação das amostras**

Amostras de mel multifloral e própolis foram recolhidas de uma colmeia *Langstroth* numa zona florestal montanhosa do concelho do Sabugal, distrito da Guarda, Portugal (40°23'33.5"N 7°03'45.4"W).

Foram recolhidos três quadros completamente cheios de mel e operculados, dois deles provenientes de alças distintas e um quadro do ninho da mesma colmeia, com o propósito de recolher exemplares com diferentes composições, mantendo a homogeneidade de produção e o desenvolvimento das mesmas.

Três amostras de própolis foram recolhidas da mesma colmeia, por raspagem das alças previamente referidas e ninho.

A recolha foi realizada utilizando o mínimo possível de fumigação para evitar excesso de resíduos de cinza e comprometimento das amostras.

As amostras de mel e de própolis foram acondicionadas individualmente em recipientes apropriados e numeradas de um a três, correspondendo o número 1 à amostra recolhida na zona do ninho, o número 2 à amostra da alça intermédia e o número 3 à amostra retirada na alça superior.

#### **3.1.1. Preparação das amostras de mel**

Em ambiente estéril procedeu-se ao corte do favo de mel em secções mais pequenas, e à remoção do mel do quadro correspondente, recorrendo a um bisturi esterilizado aquecido.

De seguida, o mel foi espremido por técnica manual sem desoperculação para um recipiente apropriado. Depois de totalmente espremido, o mel foi filtrado recorrendo a um crivo de malha mais grossa seguido de uma filtração por um crivo de malha mais fina. Este processo foi repetido até que não se verificassem resíduos de cera. O mesmo procedimento foi aplicado a todas as amostras. Depois de concluído o processo de filtração, o mel foi acondicionado em recipientes de vidro com tampa metálica esterilizados.

As amostras foram designadas como Mel 1 (M1) de cor castanho escuro, Mel 2 (M2) de cor avermelhada, Mel 3 (M3) de cor amarela, Própolis 1 (P1), Própolis 2 (P2) e Própolis 3 (P3).

### **3.1.2.Preparação dos extratos de própolis**

O protocolo utilizado para realizar a extração das amostras de própolis baseou-se no S.M. Osés *et al.* 2016 [2].

As diferentes amostras de própolis foram trituradas num almofariz de porcelana e a 14 g de cada amostra de própolis triturado adicionaram-se 100 mL de etanol a 90%. Estas misturas permaneceram durante 48 h a temperatura ambiente, sob agitação magnética.

Após 48 h procedeu-se a uma filtração com papel de filtro Whatman n.º 40, e transferência para balões de fundo redondo que foram sujeitos a um sistema de evaporação rotativa a 45°C. Para garantir a completa evaporação do solvente, os balões de fundo redondo foram colocados numa estufa durante 24 h a 30°C. Os extratos foram armazenados a -20°C até à sua utilização.

As amostras foram designadas como Extrato de Própolis 1 (EP1), Extrato de Própolis 2 (EP2) e Extrato de Própolis 3 (EP3).

### **3.1.3.Preparação de amostras de mel com própolis**

Cada extrato de própolis obtido pelo método anterior foi adicionado ao M1 a 0,3% e 0,5%. A decisão de utilizar o M1 baseou-se no facto desta amostra ter revelado melhores resultados em termos de concentração de compostos fenólicos e flavonoides, assim como níveis superiores de atividade antioxidante e anti-inflamatória [7].

Cada mistura foi preparada pesando a quantidade correspondente de mel e de extrato de própolis para obter 100 g de mistura. As misturas foram agitadas até homogeneização completa e armazenadas a -20°C até posterior utilização. As amostras foram nomeadas como Mel 1 seguido do Extrato de Própolis correspondente e a percentagem adicionada resultando em Mel 1-Extrato de Própolis 1 (M1EP1), Mel 1-Extrato de Própolis 2 (M1EP2), Mel 1-Extrato de Própolis 3 (M1EP3) a 0,3% ou 0,5%.

### **3.1.4. Diluição das amostras**

As amostras foram diluídas em metanol para obter uma concentração final de 100 mg/mL para as amostras de mel e 2,5mg/mL para os extratos de própolis. As misturas de mel com extrato de própolis foram diluídas em metanol de forma a obter uma concentração de mel de 100 mg/mL.

## **3.2. Caracterização das amostras**

### **3.2.1. Caracterização de compostos por FTIR:**

A Espectroscopia de Infravermelhos Transformada de Fourier (FTIR) é uma análise quantitativa de misturas de compostos que permite a visualização de picos a determinados comprimentos de onda. Esta metodologia é habitualmente utilizada para caracterizar os grupos funcionais presentes em amostras [29].

Neste trabalho foi realizada uma Espectroscopia de FTIR às diferentes amostras de mel, de própolis e de extratos de própolis. Os espectros de FTIR foram obtidos no intervalo de número de onda de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 600  $\text{cm}^{-1}$  utilizando o equipamento *Nicolet iS10 smart iTR Basic (Thermo Fisher Scientific)*, com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 64 scans para cada amostra.

As diferentes amostras foram colocadas no aparelho, uma de cada vez, sendo o aparelho limpo adequadamente entre cada leitura. Depois de cada leitura o aparelho gerou um espectro por cada amostra. Os espectros das diferentes amostras foram sobrepostos para criar grupos de espectros [30].

### **3.2.2. Determinação dos fenóis totais**

A quantificação dos fenóis totais foi realizada utilizando o método colorimétrico do reagente de *Folin-Ciocalteu* em soluções metanólicas de cada amostra ou ácido gálico tendo por referência o artigo Luís *et al.* 2014 [15]. O ensaio foi realizado em triplicado para cada amostra.

A 50  $\mu\text{L}$  de cada amostra diluída ou de ácido gálico foram adicionados 450  $\mu\text{L}$  de água, 2,5 mL de Reagente *Folin-Ciocalteu* 0,2 N diluído em água. Passados 5 min adicionaram-se 2 mL de carbonato de cálcio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  aquoso a 75 g/L). Como solução branco foi utilizado metanol em substituição da amostra ou do ácido gálico. As misturas foram incubadas durante 90 min a 30°C e de seguida as absorvâncias foram medidas utilizando um espectrofotómetro (765 nm).

Foi realizada uma curva de calibração utilizando soluções de ácido gálico em metanol a 500, 350, 300, 250, 200, 150, 100 e 50mg/L (Figura 4). Utilizando a curva de calibração, os valores de compostos fenólicos foram determinados sendo expressos como equivalentes de ácido gálico (mg GAE/100 g de amostra).

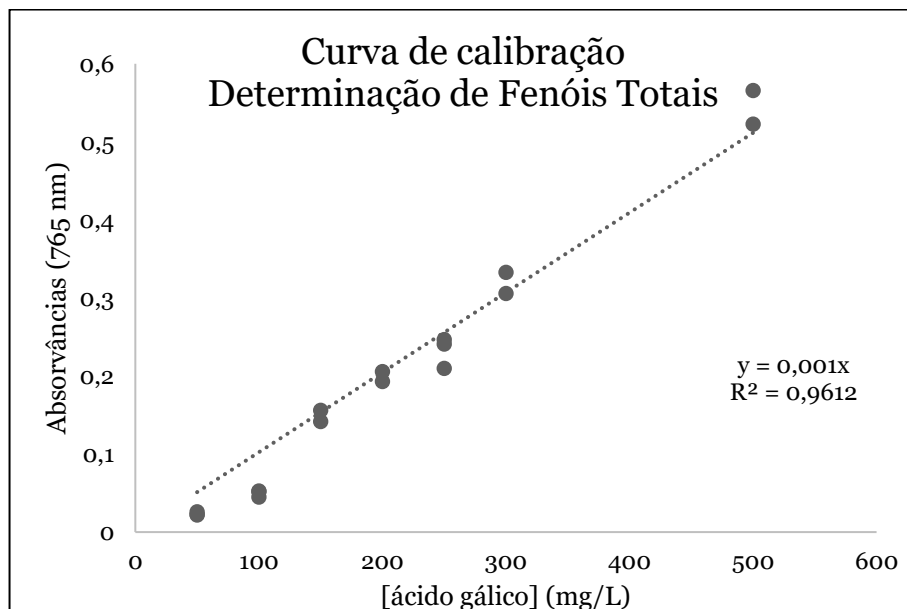


Figura 4: Curva de calibração de fenóis totais.

### 3.2.3. Determinação de flavonoides

A determinação de flavonoides foi realizada pelo método colorimétrico utilizando o cloreto de alumínio. Uma solução de quercetina foi utilizada como padrão. As determinações foram realizadas em triplicado tendo por referência o artigo Luís *et al.* 2014 [15].

Foram utilizadas as amostras de mel e extrato de própolis previamente diluídas em metanol. Na preparação da solução branco foi utilizado metanol em detrimento de amostra diluída ou quercetina. A 500  $\mu$ L de cada amostra ou quercetina foram adicionados 1,5 mL de metanol, 0,1 mL de cloreto de alumínio a 10% (m/v), 0,1 mL de acetato de potássio 1 M e 2,8 mL de água destilada. As soluções foram mantidas à temperatura ambiente durante 30 min procedendo-se de seguida à leitura espectrofotométrica das absorvâncias de cada solução a 415 nm.

Realizou-se uma curva de calibração utilizando soluções de quercetina em metanol 200, 175, 150, 100, 75, 50, 25, 12,5 mg/L (Figura 5). Utilizando a curva de calibração

calculou-se a concentração de flavonoides expressa como equivalentes de quercetina (mg QE/100 g de amostra).

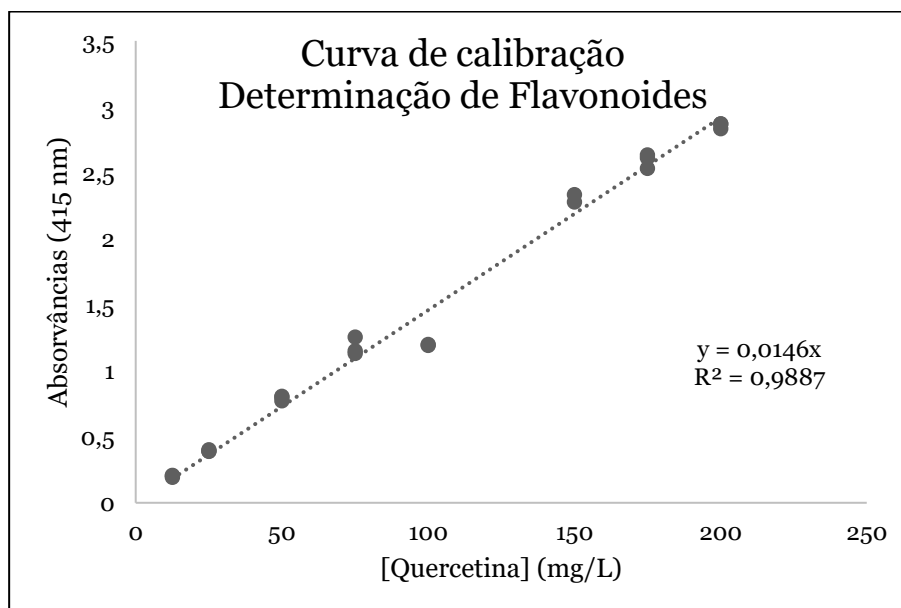


Figura 5: Curva de calibração de determinação de flavonoides.

### 3.3. Determinação da atividade antioxidante

#### 3.3.1. Método do DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi realizada utilizando o método de sequestração dos radicais livres de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Este método foi aplicado a cada amostra e respectivo controlo em triplicado e teve como referência o artigo Luís *et al.* 2018 [19].

Foram utilizadas as amostras de mel e própolis previamente diluídas em metanol. Foram adicionados 100  $\mu$ L de cada amostra a 3,9 mL de uma solução metanólica de DPPH a 0,1 mM. As soluções foram agitadas e de seguida mantidas à temperatura ambiente durante 30 min. De seguida foi realizada a medição das absorvâncias a 517 nm utilizando um espectrofotómetro UV-Vis. A percentagem de inibição (% Inibição ou %I) foi determinada para cada amostra utilizando a equação 1, onde  $Abs_{amostra}$  corresponde à absorvância da amostra,  $Abs_{controlo}$  corresponde à absorvância do control.

$$\% \text{ Inibição} = \left( \frac{Abs_{controlo} - Abs_{amostra}}{Abs_{controlo}} \right) \times 100$$

Equação 1: Cálculo da percentagem de inibição pelo Método do DDPH

### 3.3.2. Sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico

O sistema  $\beta$ -caroteno foi utilizado para determinação da atividade antioxidante, uma vez que este método permite avaliar de forma indireta a inibição da peroxidação lipídica. Este método teve como referência o artigo Luís *et al.* 2018 [18].

Foi preparada uma solução de  $\beta$ -caroteno em clorofórmio (20 mg/mL), e a 500  $\mu$ L desta solução foram adicionados 40  $\mu$ L de ácido linoleico, 400  $\mu$ L de Tween 40 e 1 mL de clorofórmio. O clorofórmio da solução foi depois evaporado sob vácuo a 45°C, e adicionaram-se 100 mL de água destilada saturada com oxigénio de forma a obter uma emulsão. Em tubos de ensaio adicionaram-se 5 mL desta emulsão a 300  $\mu$ L de cada amostra. Os tubos foram agitados e colocados num banho a 50°C durante 60 min. Os ensaios foram realizados em triplicado.

Por fim, as absorvâncias das amostras foram medidas a 470 nm utilizando um espectrofotómetro. Para calcular a percentagem de inibição recorreu-se à equação 2, onde  $Abs_{amostra}$  corresponde à absorvância da amostra,  $Abs_{controlo}$  corresponde à absorvância do controlo,  $t=0min$  corresponde ao tempo zero e  $t=60 min$  corresponde ao tempo após o banho a 50°C.

$$\% \text{ Inibição} = \left( \frac{Abs_{amostra\ t=60min} - Abs_{controlo\ t=60min}}{Abs_{controlo\ t=0min} - Abs_{controlo\ t=60min}} \right) \times 100$$

Equação 2: Cálculo da percentagem de inibição pelo sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

### 3.3.3. Determinação da atividade anti-inflamatória

A determinação da atividade anti-inflamatória baseou-se no protocolo descrito por Luís *et al.* 2019 [31].

Uma BSA a 1% (m/v) foi preparada em tampão fosfato salino (PBS), sendo o pH da solução ajustado a 6,8 utilizando ácido acético glacial. Em tubos de ensaio foram misturados 100  $\mu$ L das amostras com 900  $\mu$ L de solução de BSA. Foi utilizado o ácido acetilsalicílico dissolvido em água como controlo positivo e o controlo negativo consistiu em água destilada. Os tubos de ensaio foram inicialmente pré-aquecidos a 37°C durante 10 min, seguidos de uma incubação a 72°C durante 10 min. Depois de incubados, os tubos foram arrefecidos num banho de gelo durante 10 min. Os ensaios foram realizados em triplicado.

Foram transferidas alíquotas (100 µL) das misturas reacionais para uma placa de 96-wells e a medição das absorvâncias a 620 nm foi realizada utilizando um leitor de microplacas. A percentagem de inibição da desnaturação proteica foi calculada recorrendo equação 3, onde  $Abs_{amostra}$  corresponde à absorvância da amostra e  $Abs_{controlo}$  corresponde à absorvância do controlo negativo.

$$\% \text{ Inibição} = 100 - \left( \frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controlo}} \right) \times 100$$

Equação 3: Cálculo da percentagem de inibição de desnaturação proteica.

### 3.4. Cultura celular

A linha celular NHDF (*Normal Human Dermal Fibroblasts, ATCC*) é constituída por fibroblastos provenientes da derme de um adulto humano saudável. Estes podem ser utilizados em estudos de regeneração de tecidos.

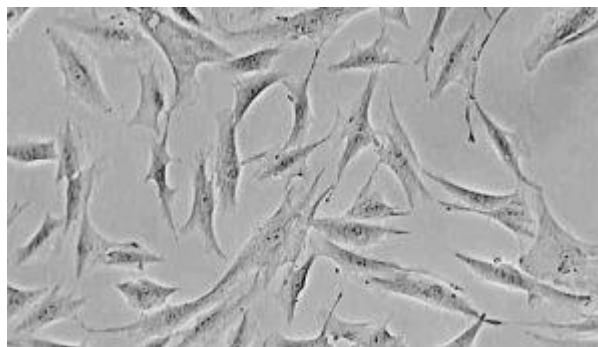


Figura 6: Cultura celular de NHDF em microscópio de contraste de fase.  
(Obtida de: [www.promocell.com/normal-human-dermal-fibroblasts-nhdf/](http://www.promocell.com/normal-human-dermal-fibroblasts-nhdf/))

Neste trabalho, as células NHDF foram utilizadas entre as passagens 27 e 32, mantidas em meio RPMI-C (meio RPMI suplementado com 10% de FBS e 1% de mistura de antibióticos) e colocadas numa incubadora (NuAire DHD AutoFlow 5510) a 37°C sob atmosfera húmida com 5% de CO<sub>2</sub>.

O meio foi removido e renovado sempre que se manifestava uma alteração significativa da cor do mesmo, de um tom rosa vivo para um tom alaranjado, indicativo de que o meio se encontrava gasto, recorrendo a uma lavagem das células com PBS 1X (0,2mL/cm<sup>2</sup>). Ao atingirem 90% de confluência as células foram tripsinizadas e procedeu-se à realização de múltiplas subculturas para execução de ensaios ou para criopreservação.

### 3.4.1. Meio de cultura e outros compostos

Reagentes utilizados na cultura:

- Água *Milli-Q, Millipore*
- Antibiótico-Antimicótico
- Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT), *Sigma Aldrich* (Portugal)
- HEPES, *Sigma Aldrich* (Portugal)
- L-Glutamina, *Sigma Aldrich* (Portugal)
- Meio de cultura RPMI 1640, *Sigma Aldrich* (Portugal);
- Mistura de Antibióticos (Estreptomicina-Penicilina-Anfotericina B)
- Piruvato de sódio, *Sigma Aldrich* (Portugal)
- Soro bovino fetal (FBS), *Biochrom* (Portugal)
- Soro bovino fetal tratado com carvão ativado
- Tampão fosfato salino (PBS)
- 0,025 % Tripsina em PBS/EDTA, *Sigma Aldrich* (Portugal);
- 0,4 % *Trypan blue*, *Merk* (Alemanha)

Equipamentos

- Câmara de fluxo laminar *NUAIRE Class II*
- Centrífuga *Minispin Plus Eppendorf*
- Centrífuga *Sigma 3K18C*
- Estufa *NUAIRE DHD Autoflow CO2 Air-Jacketed incubator*
- Hemocitómetro ou câmara de *Neubauer*
- Leitor espectrofotométrico de microplacas *EZ Read 400*
- Microscópio ótico composto *Olympus CK40*

### 3.4.2. Manutenção das culturas celulares e da área de trabalho

Antes de se iniciar o trabalho na câmara de fluxo laminar, deve ser garantida a esterilidade da mesma. Assim, a lâmpada UV foi ligada cerca de 15 min antes de cada utilização. De seguida, a luz interior e o fluxo vertical foram ligados e, posteriormente, o vidro subido até ao limite indicado. Decorridos alguns minutos, toda a superfície no interior da câmara foi limpa, sendo a mesma borrifada com etanol 70%.

Todo o material dentro da sala de cultura deve ser manipulado com luvas e todas as soluções utilizadas devem ser pré-aquecidas a 37°C num banho.

Durante o manuseamento das culturas celulares houve sempre o cuidado de não manipular qualquer objeto sobre as soluções, frascos de cultura ou outros frascos que se encontrassem abertos. Foi ainda garantido que todas as tampas se encontravam voltadas para baixo na superfície esterilizada da câmara. Estes cuidados ajudam a garantir que não ocorrem contaminações.

Terminada a manipulação, todo o material utilizado foi descartado nos contentores apropriados. Sempre que o sistema de aspiração automático por vácuo foi utilizado este foi lavado com uma solução de lixívia e despejado no reservatório de resíduos adequado. Finalmente, foi limpa toda a área interior da câmara com etanol a 70%, fechada e desligada.

#### **3.4.2.1.Preparação dos meios de cultura**

A composição do meio de cultura é fundamental para a manutenção e crescimento de culturas celulares. Este deve conter constituintes fundamentais para o crescimento celular como água, hidratos de carbono, lípidos, aminoácidos, sais inorgânicos podendo ainda ser suplementados com Soro Bovino Fetal (FBS) que contém albumina, fatores de crescimento e de adesão e transportadores.

O meio utilizado neste trabalho foi o RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute*) da *Sigma Aldrich*. O meio foi preparado a partir de meio liofilizado por adição em água Milli-Q sob agitação mecânica sem aquecimento. Após a dissolução completa foram adicionadas 2 g de bicarbonato de sódio e procedeu-se à transferência para um balão de fundo redondo de 1 L, aferido com água Milli-Q.

Recorrendo a uma câmara de fluxo laminar e técnica asséptica, o meio foi suplementado com 2 mM de L-glutamina, 1 mM de piruvato de sódio, 10 mM de HEPES, 10% de Soro Bovino Fetal (FBS) e 1% de antibiótico-antimicótico e filtrado recorrendo a uma unidade de filtração estéril sob vácuo. O meio foi acondicionado devidamente fechado em câmara frigorífica a 4°C nos intervalos de utilização.

### **3.4.2.2.Descongelamento de células**

As alíquotas de células utilizadas, contendo  $1 \times 10^6$  células cada uma, encontravam-se criopreservadas em azoto líquido ( $-180^\circ\text{C}$ ), em meio RPMI-C com 10% de DMSO, sendo que o primeiro passo a executar foi a sua recolha do banco de células onde estavam armazenadas.

O meio RPMI-C foi aquecido em banho termostatzado a  $37^\circ\text{C}$  antes de se iniciar o procedimento em câmara de fluxo laminar sob técnica assética.

Procedeu-se à preparação de um tubo de *falcon* com 4 mL de meio a  $37^\circ\text{C}$  e, de seguida, foi descongelada a alíquota à temperatura ambiente durante alguns minutos. Assim que foi possível removê-la do criotubo, a alíquota foi transferida para o tubo de *falcon* previamente preparado. O tubo de *falcon* foi centrifugado a 900 rotações por minuto (rpm) durante 4 min, procedendo-se de seguida à aspiração do sobrenadante que continha DMSO, tóxico à temperatura ambiente para as células, e ressuspensão cuidadosa do *pellet* em 2 mL de meio RPMI-C.

A suspensão de células foi transferida para um frasco de cultura de  $75\text{ cm}^2$  e adicionaram-se 13mL de meio completo, perfazendo um total de 15 mL ( $0,2\text{ mL/cm}^2$ ). O frasco foi colocado na incubadora e monitorizado diariamente recorrendo a um microscópio ótico até ser necessário renovar o meio ou atingir 90 % de confluência.

### **3.4.2.3.Tripsinização**

A tripsinização consiste na utilização de tripsina para dissociar células em crescimento aderidas ao material de cultura.

Após confirmação de 90% de confluência das células aderidas por observação microscópica, procedeu-se à remoção cuidadosa do meio gasto, seguido de lavagem das células aderidas com PBS 1X ( $0,2\text{ mL/cm}^2$ ) e aspiração cuidadosa deste reagente.

As culturas foram sujeitas ao efeito de 0,025% Tripsina em PBS/EDTA ( $0,13\text{ mL/cm}^2$ ), durante aproximadamente 1 a 2 min em incubadora para que a enzima atuasse, e observadas ao microscópio para garantir que a dissociação tinha ocorrido de forma correta e completa. Findo este tempo foi adicionado o dobro do volume de meio RPMI-C ( $0,2\text{ mL/cm}^2$ ) para neutralizar a tripsina e interromper o processo.

A suspensão celular foi centrifugada durante 4 min a 900 rpm. De seguida o sobrenadante foi recolhido e descartado e o *pellet* foi ressuspensionado em 2 mL de meio RPMI-C. A suspensão de células foi transferida para um frasco de cultura de 125cm<sup>2</sup>, perfazendo um volume final de 25 mL com meio RPMI-C, ou para *multiwell* no caso dos ensaios.

#### **3.4.2.4. Criopreservação**

A criopreservação é a técnica experimental que permite o congelamento de células, mantendo a viabilidade celular, durante períodos relativamente longos.

No caso do armazenamento das subculturas, procedeu-se à tripsinização tal como descrito acima com a suspensão do *pellet* em meio RPMI-C. Depois disso, procedeu-se à contagem das células e retirou-se o volume correspondente a  $1 \times 10^6$  células que foi pipetado para um criotubo, perfazendo-se o volume de 1 mL com RPMI-C, com 10% de DMSO.

Cada tubo foi identificado com a designação da linha celular, o número da passagem, sigla do utilizador e data e armazenado a -20°C durante 2 a 4 horas, com transferência para câmara a -80°C durante 2 a 3 dias e por fim procedeu-se ao armazenamento em azoto líquido a -180°C.

#### **3.4.2.5. Contagem de células**

A contagem de células foi executada antes de iniciar o armazenamento ou a utilização das subculturas em ensaios para avaliar a densidade celular estimada em cada frasco de criopreservação ou poço de *multiwell* respetivamente.

Foi utilizado uma câmara de *Neubauer*, a qual foi limpa antes e depois de cada utilização para evitar a visualização de células aderidas de contagens prévias. Sobre a placa de vidro foi colocada uma lamela de vidro que cobrisse a zona central e a câmara foi reservada até utilização.

Foi utilizada uma solução de *trypan blue* (0,4%) tendo por base o preceito de que este reagente não consegue penetrar a membrana celular de células viáveis, mas consegue penetrar a de células mortas, e que ao serem observadas ao microscópio as células mortas estarão pigmentadas de azul escuro, permitindo assim a contagem de células viáveis.

Depois do processo de tripsinização da subcultura, centrifugação e ressuspensão do *pellet* como supramencionado, procedeu-se à pipetagem de 10  $\mu$ L da suspensão celular para um *ependorf* e adição de 10  $\mu$ L de *trypan blue* (0,4%). A suspensão foi homogeneizada recorrendo a movimentos “*up and down*” executados com micropipeta. De seguida, 10  $\mu$ L desta solução foram cuidadosamente introduzidos na câmara de *Neubauer* garantindo que esta ficasse cheia e sem bolhas de ar entre a câmara e a lamela de vidro.

Depois de preparada, a câmara foi observada ao microscópio utilizando uma objetiva de 10x focada, tendo sido contadas apenas as células viáveis recorrendo a um contador analógico e contando apenas uma vez as células que se encontrassem em mais do que um quadrado, seguindo um padrão de zigzag. Para determinar a concentração de células presente na amostra foi aplicada a seguinte razão: n<sup>o</sup> de células = média das células nos quadrantes  $\times 10^4 \times 2 \times$  volume de ressuspensão das células.

### **3.4.3. Preparação das soluções a testar**

Para cada amostra de mel, extrato de própolis e mel com extrato própolis procedeu-se à preparação de 20 mL de soluções por diluição com meio RPMI-C, com concentração de 100 mg/mL para o mel, 0,3% e 0,5% para os extratos de própolis e 100 mg/mL de mel com extrato de própolis a 0,3 e 0,5%. As soluções foram armazenadas a 4°C até à sua utilização. As soluções foram preparadas por pesagem das diferentes substâncias nas proporções adequadas e posterior adição do meio RPMI-C em condições asséticas.

### **3.4.4. Ensaio de viabilidade celular**

Este ensaio foi realizado segundo o protocolo descrito no artigo Luís *et al.* 2014 [15]. Foram realizadas subculturas de células em 2 microplacas, contendo 96 poços, com uma concentração celular de  $5 \times 10^5$ , com meio RPMI-C e incubadas até que se verificou a adesão das células à base do poço.

Assim que se verificaram as condições de adesão e viabilidade celular, o meio RPMI-C foi removido e descartado de cada poço. Depois disto, foi adicionado a cada poço 200  $\mu$ L de amostra em solução ao respetivo poço, tal como descrito na Figura 7.

As placas foram incubadas a 37°C em atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 e 48 horas. Após o período de exposição das células ao composto, aspirou-se o meio de cultura e foi efetuada uma lavagem com PBS 1X pré-aquecido a 37 °C. Na ausência de

luz, foram adicionados a cada poço 200 µL de uma solução de MTT (0,5 mg/mL) previamente preparada. As placas foram novamente incubadas a 37°C em atmosfera húmida com 5% de CO<sub>2</sub>, protegidas da luz, até se verificar a formação de cristais de formazano (cerca de 4 horas).

Depois disto, a solução de MTT foi removida e os cristais de formazano foram dissolvidos em 200µL de DMSO, tendo sido efetuada imediatamente a leitura da absorvância a 570 nm, com recurso a um leitor de microplacas espectrofotométrico.

A experiência foi realizada em quadruplicado e a extensão de morte celular foi expressa como Percentagem de Viabilidade Celular Relativa (% VCR) calculada a partir das absorvâncias obtidas nos ensaios de MTT em comparação com as células de controlo, do seguinte modo:

$$\% VCR = \left( \frac{\text{média das absorvâncias após incubação com a amostra}}{\text{média das absorvâncias dos controlos}} \right) \times 100.$$

Equação 4: Cálculo da percentagem viabilidade celular relativa.

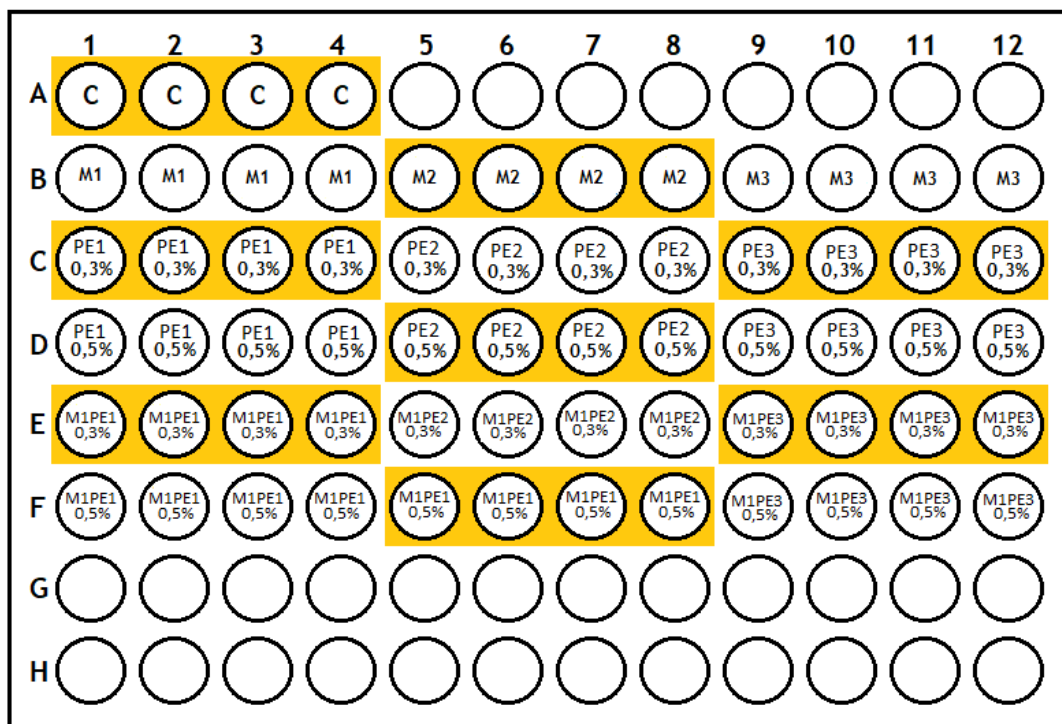


Figura 7: Disposição das amostras na microplaca no ensaio de MTT.

### **3.4.5. Ensaio de cicatrização in vitro - Scratch Wound Healing Assay**

Para efetuar os ensaios foram realizadas subculturas de células em microplacas de 12 poços, com uma densidade celular de  $1 \times 10^4$ , com meio RPMI-C e incubadas até estarem aderidas e confluentes.

Depois de se verificar a confluência das células procedeu-se à remoção do meio RPMI-C e com a ponta de uma micropipeta realizou-se uma abertura linear na monocamada de células no centro da placa. Esta abertura pretende mimetizar um corte na camada celular. Procedeu-se de seguida a uma lavagem com PBS para remover eventuais células lisadas e resíduos.

Depois disto, adicionou-se 1,5 mL das diferentes soluções ao respetivo poço, sendo que aos poços de controlo apenas foi adicionada a mesma quantidade de meio RPMI-C. Decorridas 2 h, 24 h e 36 h procedeu-se à visualização microscópica dos diferentes poços e registo fotográfico.

## 4. Resultados

### 4.1. Caracterização fitoquímica

#### 4.1.1. Caracterização dos compostos por FTIR

As amostras de mel e própolis foram inicialmente caracterizadas por FTIR. Da aplicação desta técnica resultaram os espectros a seguir apresentados como sobreposições, observados entre 4000 e 600  $\text{cm}^{-1}$ , que são concordantes com os espectros apresentados na literatura [30].

Nos espectros de amostras de mel (Figura 8) é possível verificar bandas correspondentes à presença de água a cerca de 3300  $\text{cm}^{-1}$  e 1650  $\text{cm}^{-1}$ , onde é possível denotar uma deformação característica de grupos hidroxilo (OH). A aproximadamente 2900  $\text{cm}^{-1}$  pode ser observada uma banda que corresponderá a ácidos carboxílicos e compostos com grupos amina ( $\text{NH}_3$ ) que pode ser considerada como uma banda correspondente a aminoácidos livres. Os picos formados entre os 1450  $\text{cm}^{-1}$  e 750  $\text{cm}^{-1}$  correspondem a ácidos orgânicos e aos açúcares presentes no mel, tais como a sucrose, glucose e frutose. Em termos de composição qualitativa as três amostras de mel demonstraram ser semelhantes.

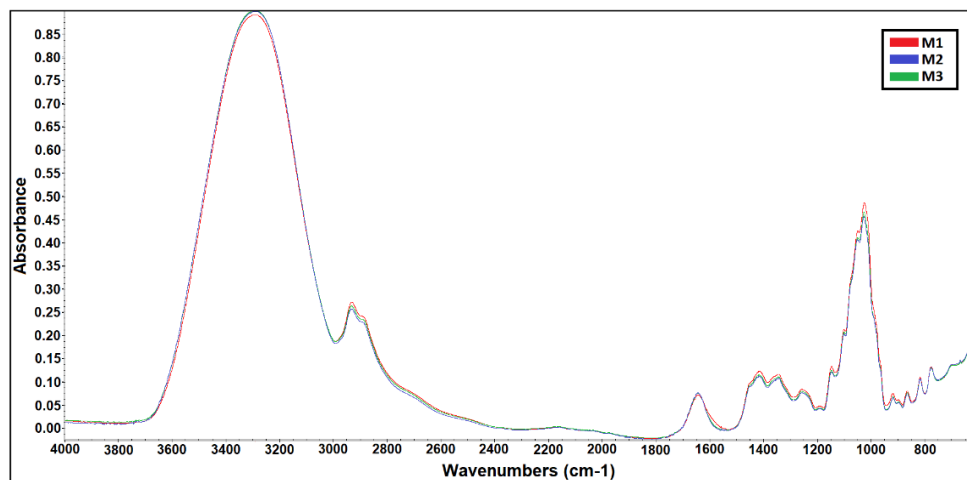


Figura 8: Sobreposição dos espectros de FTIR das amostras de mel.

Os espectros de FTIR obtidos para as amostras de própolis e de extratos de própolis (Figura 9) apresentam-se concordantes com os espectros apresentados na literatura [32].

Ambos os espectros apresentaram uma banda menos pronunciada do que no mel, mas que poderá ser de igual modo relativa a moléculas de água a 3400  $\text{cm}^{-1}$ . Na zona dos

2900 e 2850  $\text{cm}^{-1}$  é possível verificar picos bastante acentuados que correspondem a cadeias alifáticas e, provavelmente, etanol. Os picos observados entre 1600 e 1650  $\text{cm}^{-1}$  poderão estar relacionados com a presença de flavonoides, aminoácidos e ácido cafeico. Entre 1400 e 1550  $\text{cm}^{-1}$  podem ser observados picos que poderão, também, ser relacionados com flavonoides e outros compostos com anéis aromáticos na sua estrutura. O pico que se destaca a cerca de 1150  $\text{cm}^{-1}$  poderá corresponder a hidroxiflavonoides.

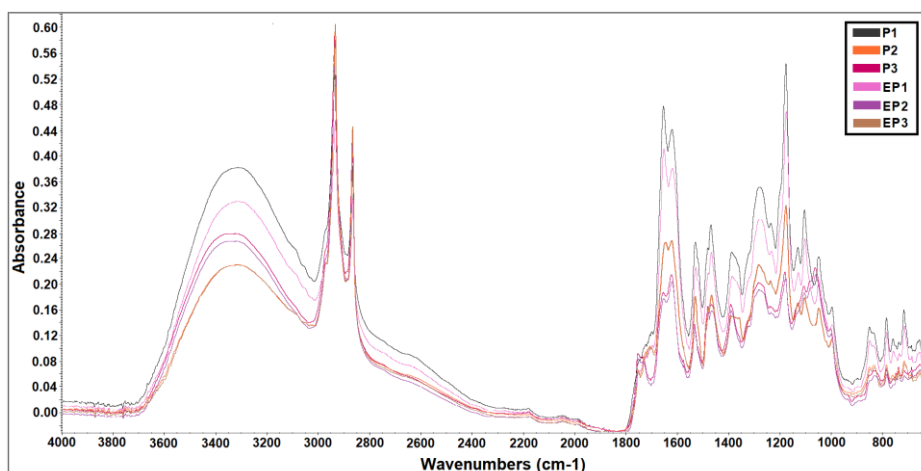


Figura 9: Sobreposição dos espectros de FTIR das amostras de própolis e extratos de própolis.

Ao comparar os espectros de amostras de mel com amostras de própolis e extratos de própolis (Figura 10) é possível inferir que o conteúdo de água nas amostras de mel é muito superior ao das amostras de própolis, assim como o conteúdo de açúcares. É ainda possível denotar que o própolis e os extratos de própolis apresentam muitos compostos contendo anéis aromáticos, entre os quais se destacam os flavonoides.

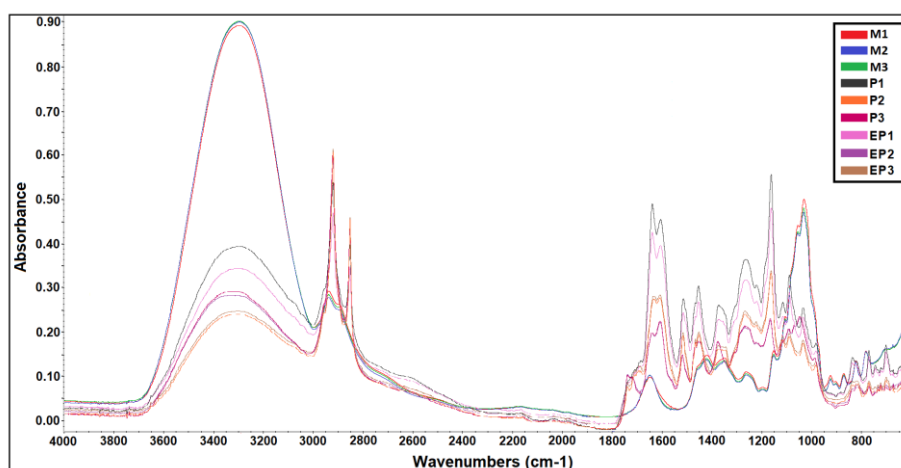


Figura 10: Sobreposição dos espectros de FTIR das amostras de mel, própolis e extratos de própolis.

#### 4.1.2.Determinação dos fenóis totais

Neste trabalho foram determinados os fenóis totais presentes nas diferentes amostras de mel, própolis e nas preparações de mel com própolis. Na tabela 1 encontram-se registados os valores obtidos para cada amostra em estudo apresentados sob a forma de Média  $\pm$  Desvio Padrão.

O conteúdo de fenóis totais variou entre 0,029 e 0,107 g GAE/100 g nas amostras de Mel, 21,747 e 28,947 g GAE/100 g nas amostras de Extrato de Própolis e entre 1,219 e 3,506 g GAE/100 g nas diferentes misturas.

A amostra de mel que apresenta uma maior concentração de fenóis totais é a de M1, verificando-se que a amostra de M3 é, pelo contrário, a amostra de mel com menor concentração destes compostos. Comparando os extratos de própolis, aquele que apresenta maior concentração é o EP1 apesar de a diferença entre este e o EP2 ser bastante reduzida. Ao adicionar Extrato de Própolis à amostra de M1 verifica-se que um aumento da percentagem de Extrato de Própolis resulta sempre num aumento da concentração destes compostos, sendo que a amostra que apresenta maior conteúdo será a M1EP3 a 0,5%. Os dados foram dispostos na figura 11 para facilitar a sua compreensão.

Tabela 1: Fenóis totais (g GAE/100 g amostra).

| <b>Amostras</b>     | <b>Fenóis totais<br/>(g GAE/100 g amostra<br/>Média <math>\pm</math> Desvio Padrão)</b> |
|---------------------|---|
| <b>M1</b>           | 0,107 $\pm$ 0,016   |
| <b>M2</b>           | 0,046 $\pm$ 0,005   |
| <b>M3</b>           | 0,029 $\pm$ 0,003   |
| <b>EP1</b>          | 28,947 $\pm$ 1,329  |
| <b>EP2</b>          | 21,747 $\pm$ 1,062  |
| <b>EP3</b>          | 28,667 $\pm$ 0,774  |
| <b>M1EP1 (0,3%)</b> | 2,394 $\pm$ 0,227   |
| <b>M1EP1 (0,5%)</b> | 3,324 $\pm$ 0,044   |
| <b>M1EP2 (0,3%)</b> | 1,219 $\pm$ 0,049   |
| <b>M1EP2 (0,5%)</b> | 1,750 $\pm$ 0,076   |
| <b>M1EP3 (0,3%)</b> | 1,969 $\pm$ 0,071   |
| <b>M1EP3 (0,5%)</b> | 3,506 $\pm$ 0,257   |

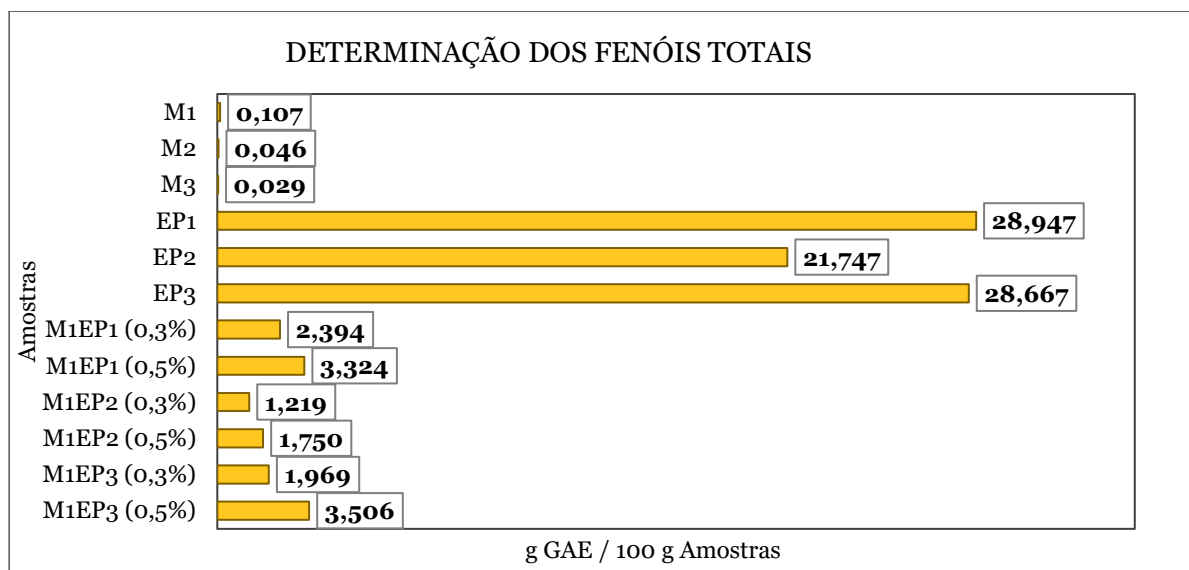


Figura 11: Concentração de fenóis totais nas diferentes amostras.

#### 4.1.3. Determinação de flavonoides

Os flavonoides assumem um papel bastante diversificado na atividade biológica, possuindo características antioxidantes e capacidade para sequestrar radicais livres. Estes compostos possuem ainda efeitos anti-inflamatórios influenciando vários processos de inflamação [14]. Na tabela 2 resumem-se os resultados obtidos na determinação de flavonoides apresentados sob a forma de Média  $\pm$  Desvio Padrão.

O conteúdo de flavonoides variou entre 0,000 e 0,007 g QE/100 g nas amostras de Mel, 1,786 e 5,494 g Q/100 g nas amostras de Extrato de Própolis e entre 0,054 e 0,452 g QE/100 g nas diferentes misturas.

A única amostra de Mel que contém na sua composição flavonoides é a de M1, verificando-se que as amostras de M2 e M3 não apresentam concentrações detetáveis destes compostos. Comparando os Extratos de Própolis, aquele que apresenta maior concentração é o EP1, sendo que a concentração apresentada pelo EP2 é bastante reduzida. Ao adicionar Extrato de Própolis à amostra de M1 verifica-se que um aumento da percentagem de Extrato de Própolis na amostra resulta num aumento da concentração destes compostos, sendo que a amostra que apresenta maior conteúdo em flavonoides é a de M1EP1 a 0,5%. Os dados foram dispostos na figura 12 para facilitar a sua compreensão.

Tabela 2: Equivalentes de Quercetina (g QE/100 g Amostra).

| <b>Amostras</b>     | <b>Flavonoides<br/>(g QE/100 g amostra<br/>Média ± Desvio Padrão)</b> |
|---------------------|---|
| <b>M1</b>           | 0,007 ± 0,001   |
| <b>M2</b>           | 0,000 ± 0,000   |
| <b>M3</b>           | 0,000 ± 0,000   |
| <b>EP1</b>          | 5,494 ± 0,335   |
| <b>EP2</b>          | 1,786 ± 0,029   |
| <b>EP3</b>          | 4,280 ± 0,123   |
| <b>M1EP1 (0,3%)</b> | 0,290 ± 0,007   |
| <b>M1EP1 (0,5%)</b> | 0,452 ± 0,012   |
| <b>M1EP2 (0,3%)</b> | 0,115 ± 0,005   |
| <b>M1EP2 (0,5%)</b> | 0,199 ± 0,018   |
| <b>M1EP3 (0,3%)</b> | 0,054 ± 0,011   |
| <b>M1EP3 (0,5%)</b> | 0,308 ± 0,006   |

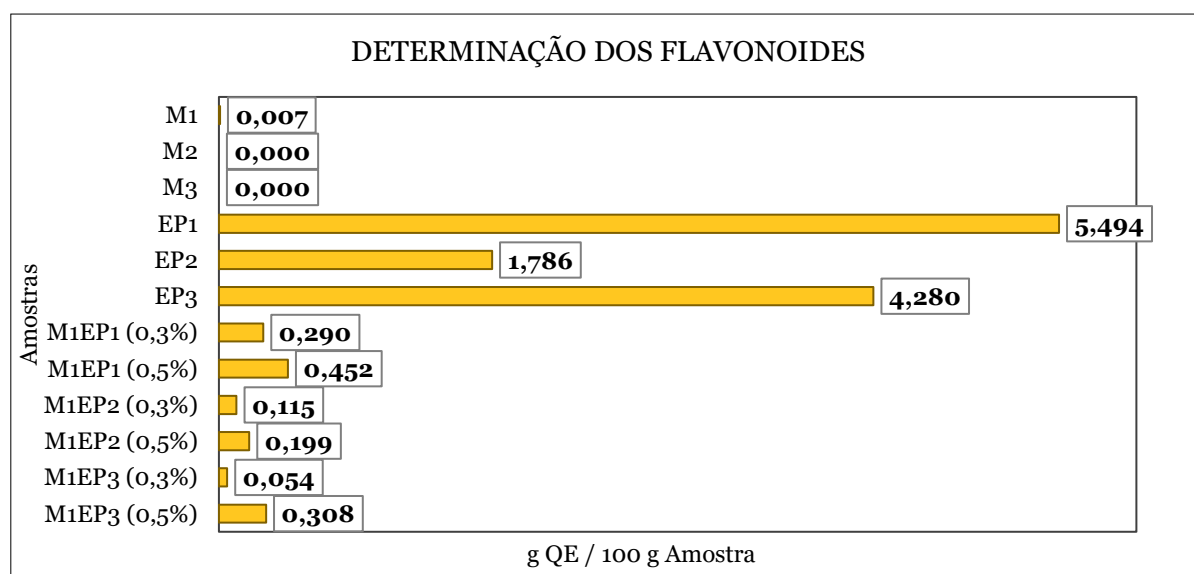


Figura 12: Concentração de flavonoides totais nas diferentes amostras.

## **4.2.Caracterização biológica**

### **4.2.1.Atividade antioxidante**

Para determinar a atividade antioxidante podem ser utilizados diversos métodos. Neste trabalho foi utilizado o método do DPPH para quantificar a atividade antioxidante das amostras, nomeadamente a capacidade de sequestrar radicais livres. Posteriormente foi utilizado o sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico que permite avaliar de forma indireta a capacidade de as amostras inibirem a peroxidação lipídica.

Para cada uma das amostras foi calculada a Percentagem de Inibição. Esta percentagem corresponde à percentagem de DPPH que foi consumida pelo antioxidante, ou seja, quanto maior o consumo de DPPH maior será a atividade antioxidante e maior a Percentagem de Inibição [19]. Na tabela 3 encontram-se registados os valores obtidos para cada amostra em estudo apresentados sob a forma de Média  $\pm$  Desvio Padrão.

A percentagem de inibição determinada por este método variou entre 0,000 e 0,431%/100 g nas amostras de Mel, 92,012 e 93,245 %/100 g nas amostras de Extrato de Própolis e entre 7,912 e 8,396 %/100 g nas diferentes misturas.

A amostra de Mel que apresenta uma Percentagem de Inibição superior é a de M1, verificando-se que a amostra de M3 não apresenta inibição relevante e a de M2 demonstra uma percentagem bastante inferior à de M1.

Os Extratos de Própolis apresentam valores de Percentagem de Inibição muito semelhantes entre si, sendo que o EP3 é aquele que apresenta uma maior percentagem. Comparativamente ao Mel, os Extratos de Própolis apresentam uma percentagem de inibição extremamente superior, atingido percentagens muito próximas de 100%. Ao adicionar extrato de própolis à amostra de M1 verifica-se que todas as misturas apresentam um grande aumento de Percentagem de Inibição, não se verificando grandes diferenças entre a adição de Extrato de Própolis a 0,3% ou a 0,5%. A amostra que apresenta maior Percentagem de Inibição é a de M1EP3 a 0,5%. Os dados foram dispostos na figura 13 para facilitar a sua compreensão.

Tabela 3: Percentagem de Inibição (%/100 g amostra) obtidas pelo Método do DPPH

| Amostras            | % de Inibição<br>(%/100g de amostra<br>Média ± Desvio Padrão) |
|---------------------|---|
|                     | <b>M1</b>   |
| <b>M2</b>           | 0,133 ± 0,019   |
| <b>M3</b>           | 0,000 ± 0,000   |
| <b>EP1</b>          | 92,506 ± 1,249  |
| <b>EP2</b>          | 92,012 ± 0,258  |
| <b>EP3</b>          | 93,245 ± 0,687  |
| <b>M1EP1 (0,3%)</b> | 8,271 ± 0,044   |
| <b>M1EP1 (0,5%)</b> | 8,119 ± 0,040   |
| <b>M1EP2 (0,3%)</b> | 7,912 ± 0,097   |
| <b>M1EP2 (0,5%)</b> | 8,154 ± 0,158   |
| <b>M1EP3 (0,3%)</b> | 8,165 ± 0,026   |
| <b>M1EP3 (0,5%)</b> | 8,396 ± 0,321   |

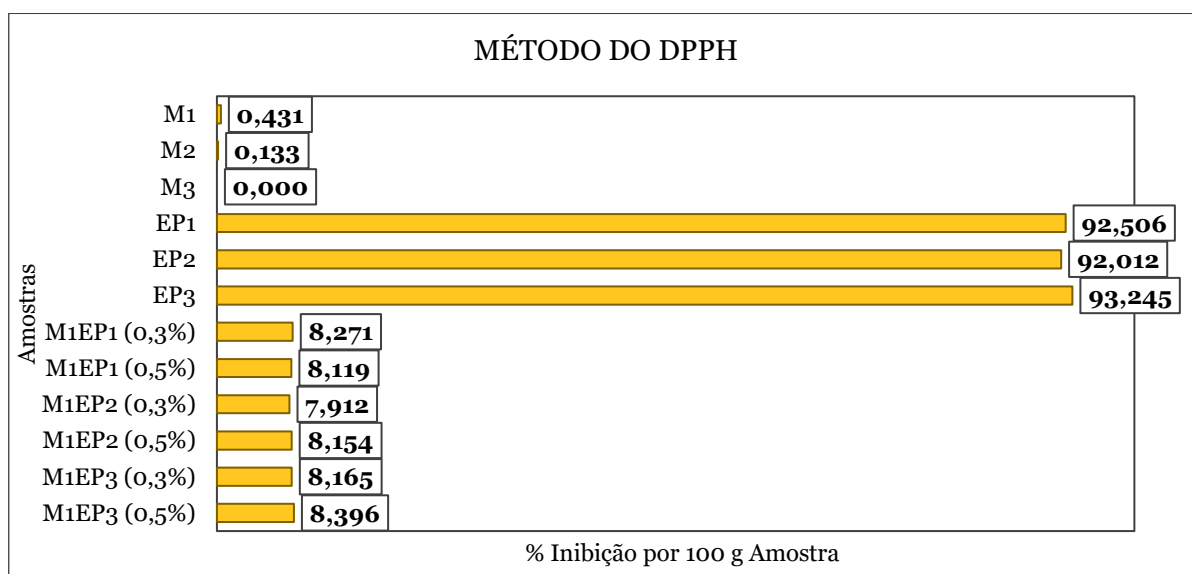


Figura 13: Percentagem de Inibição nas diferentes amostras obtidas pelo método do DPPH.

Para cada uma das amostras foi calculada a Percentagem de Inibição para o sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, sendo que esta percentagem corresponde à inibição da oxidação de  $\beta$ -caroteno na presença do ácido linoleico [19]. Na tabela 4 encontram-se registados os valores obtidos para cada amostra em estudo apresentados sob a forma de Média  $\pm$  Desvio Padrão.

A percentagem de inibição determinada por este método variou entre 0,349 e 0,809%/100 g nas amostras de Mel, 48,660 e 53,909%/100 g nas amostras de Extratos de Própolis e entre 2,878 e 3,929%/100 g nas diferentes misturas.

A amostra de Mel que apresenta uma Percentagem de Inibição superior é de M1, verificando-se mais uma vez que a amostra de M3 apresenta a percentagem mais baixa e a de M2 demonstra uma percentagem intermédia relativamente às de M1 e M3.

Os Extratos de Própolis apresentam valores de Percentagem de Inibição semelhantes entre si, sendo que o EP3 é aquele que apresenta uma maior percentagem e o EP2 apresenta uma menor percentagem. Comparativamente ao Mel, os Extratos de Própolis apresentam uma percentagem de inibição muito superior.

Depois de adicionar Extrato de Própolis à amostra de M1 verifica-se que todas as misturas apresentam um aumento de Percentagem de Inibição, não se verificando grandes diferenças entre a adição de extrato de própolis a 0,3% ou a 0,5%. A amostra que apresenta maior Percentagem de Inibição é a de M1EP1 a 0,5%. Para facilitar a compreensão dos dados estes foram dispostos na figura 14.

Tabela 4: Percentagem de Inibição (%/100 g amostra) obtida pelo Sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

| <b>Amostras</b>     | <b>% de Inibição<br/>(%/100g de amostra<br/>Média <math>\pm</math> Desvio Padrão)</b> |
|---------------------|---|
| <b>M1</b>           | 0,809 $\pm$ 0,042   |
| <b>M2</b>           | 0,684 $\pm$ 0,032   |
| <b>M3</b>           | 0,349 $\pm$ 0,028   |
| <b>EP1</b>          | 51,441 $\pm$ 4,477  |
| <b>EP2</b>          | 48,660 $\pm$ 1,876  |
| <b>EP3</b>          | 53,909 $\pm$ 2,328  |
| <b>M1EP1 (0,3%)</b> | 3,027 $\pm$ 0,070   |
| <b>M1EP1 (0,5%)</b> | 3,929 $\pm$ 0,105   |
| <b>M1EP2 (0,3%)</b> | 2,878 $\pm$ 0,096   |
| <b>M1EP2 (0,5%)</b> | 3,108 $\pm$ 0,049   |
| <b>M1EP3 (0,3%)</b> | 2,919 $\pm$ 0,106   |
| <b>M1EP3 (0,5%)</b> | 3,596 $\pm$ 0,089   |

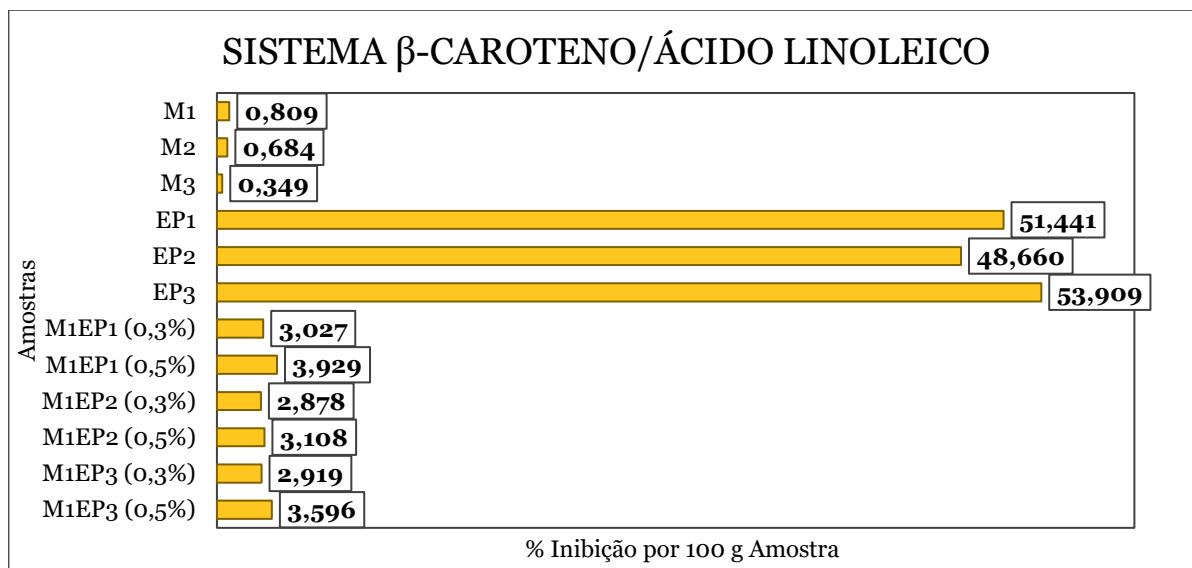


Figura 14: Percentagem de Inibição nas diferentes amostras obtidas pelo sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

#### 4.2.2. Atividade anti-inflamatória

Para cada uma das amostras foi calculada a Percentagem de Inibição, sendo que esta percentagem corresponde à capacidade das amostras de inibirem a desnaturação de proteínas de BSA. Na tabela 5 encontram-se registados os valores obtidos para cada amostra em estudo apresentados sob a forma de Média  $\pm$  Desvio Padrão.

A percentagem de inibição determinada por este método variou entre 0,000 e 23,438%/100 g nas amostras de Mel, 31,250 e 48,750%/100 g nas amostras de Extratos de Própolis e entre 28,571 e 48,750%/100 g nas diferentes misturas.

A amostra de Mel que apresenta uma Percentagem de Inibição superior é a de M2, verificando-se mais uma vez que a amostra de M3 não apresenta capacidade inibitória e a de M1 demonstra uma percentagem ligeiramente inferior à de M2.

Os Extratos de Própolis apresentam valores de Percentagem de Inibição bastante diferentes entre si, sendo que o EP3 é aquele que apresenta uma maior percentagem e o EP 1 aquele que apresenta uma menor percentagem.

Comparativamente ao que ocorreu nos ensaios anteriores, os Extratos de Própolis apresentam uma percentagem de inibição superior à do Mel, apesar de não ser tão pronunciada. Depois de se adicionar extrato de própolis à amostra de M1 verifica-se que todas as misturas apresentam um aumento de Percentagem de Inibição. A

amostra que apresenta maior Percentagem de Inibição será M1EP2 a 0,5%. Os dados foram dispostos na figura 15 para facilitar a sua compreensão.

Tabela 5: Percentagem de Inibição (%/100 g amostra) da atividade anti-inflamatória.

| Amostras            | % de Inibição<br>(%/100 g de amostra<br>Média ± Desvio Padrão) |
|---------------------|--|
| <b>M1</b>           | 20,625 ± 0,884   |
| <b>M2</b>           | 23,438 ± 3,094   |
| <b>M3</b>           | 0,000 ± 0,000  |
| <b>EP1</b>          | 15,000 ± 3,536   |
| <b>EP2</b>          | 31,250 ± 1,768   |
| <b>EP3</b>          | 48,750 ± 1,768   |
| <b>M1EP1 (0,3%)</b> | 36,408 ± 6,865   |
| <b>M1EP1 (0,5%)</b> | 28,571 ± 0,001   |
| <b>M1EP2 (0,3%)</b> | 40,049 ± 1,716   |
| <b>M1EP2 (0,5%)</b> | 45,238 ± 0,001   |
| <b>M1EP3 (0,3%)</b> | 36,408 ± 3,433   |
| <b>M1EP3 (0,5%)</b> | 40,476 ± 6,734   |

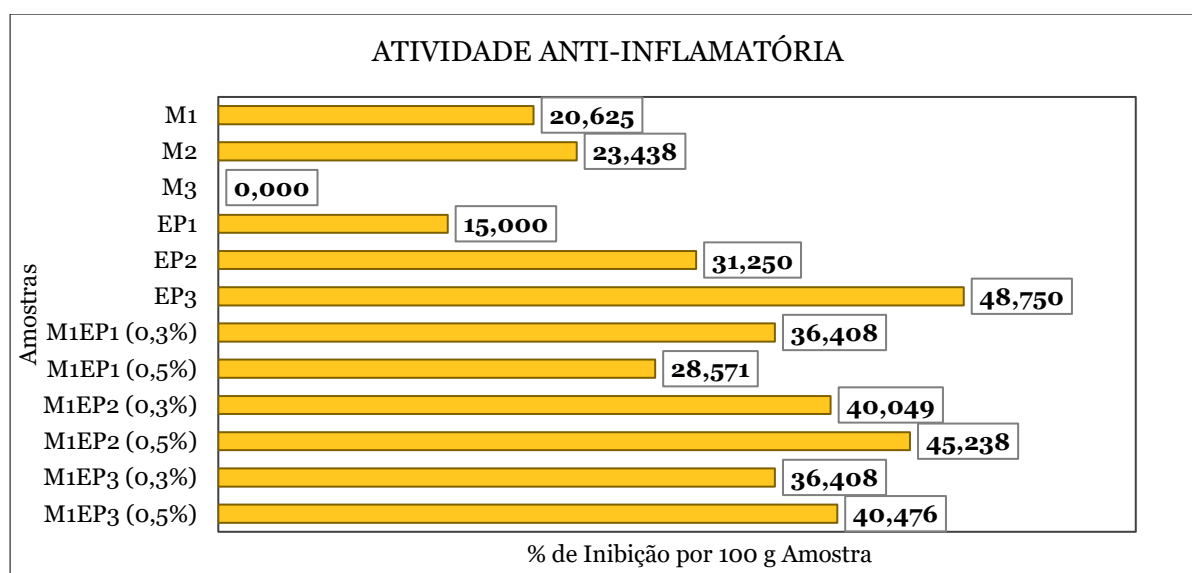


Figura 15: Percentagem de Inibição nas diferentes amostras.

### 4.2.3. Atividade cicatrizante

## 4.3. Determinação da viabilidade celular

Os resultados obtidos pelo ensaio de MTT foram apresentados na tabela 6 como Percentagem de Viabilidade Celular Relativa (% VCR) após incubação com as diferentes amostras durante 24 h e 48 h. Os valores apresentados na tabela 6 correspondem à média da percentagem nas experiências realizadas  $\pm$  desvio-padrão.

Os dados obtidos do ensaio de viabilidade celular foram ainda organizados sob a forma de gráfico (Figura 16), onde se pode verificar um aumento muito evidente na viabilidade celular às 48 h comparativamente às 24 h.

Tabela 6: Viabilidade celular relativa (% VCR).

| <b>Amostras</b>     | <b>24 h</b>      | <b>48 h</b>        |
|---------------------|------------------|--------------------|
| <b>M1</b>           | 117,5 $\pm$ 7,5  | 393,4 $\pm$ 71,6   |
| <b>M1 (1:2)</b>     | 131,9 $\pm$ 13,1 | 683,3 $\pm$ 106,5  |
| <b>M2</b>           | 119,3 $\pm$ 6,4  | 701,3 $\pm$ 90,2   |
| <b>M2 (1:2)</b>     | 152,7 $\pm$ 20,6 | 622,8 $\pm$ 147,3  |
| <b>M3</b>           | 113,0 $\pm$ 14,4 | 453,9 $\pm$ 105,8  |
| <b>M3 (1:2)</b>     | 155,3 $\pm$ 26,8 | 1003,8 $\pm$ 160,8 |
| <b>EP1 (0,3%)</b>   | 201,9 $\pm$ 35,2 | 696,6 $\pm$ 26,6   |
| <b>EP1 (0,5%)</b>   | 219,8 $\pm$ 9,9  | 909,4 $\pm$ 23,2   |
| <b>EP2 (0,3%)</b>   | 297,8 $\pm$ 21,3 | 1595,2 $\pm$ 131,4 |
| <b>EP2 (0,5%)</b>   | 221,5 $\pm$ 26,5 | 1180 $\pm$ 216,3   |
| <b>EP3 (0,3%)</b>   | 258,8 $\pm$ 3,8  | 1882,9 $\pm$ 195,8 |
| <b>EP3 (0,5%)</b>   | 272,1 $\pm$ 22,6 | 1307,1 $\pm$ 81,9  |
| <b>M1EP1 (0,3%)</b> | 204,2 $\pm$ 9,1  | 704,5 $\pm$ 120,3  |
| <b>M1EP1 (0,5%)</b> | 180,7 $\pm$ 9,7  | 988 $\pm$ 196,1    |
| <b>M1EP2 (0,3%)</b> | 183,3 $\pm$ 16,6 | 976,9 $\pm$ 347    |
| <b>M1EP2 (0,5%)</b> | 128,3 $\pm$ 17,2 | 728,9 $\pm$ 119,3  |
| <b>M1EP3 (0,3%)</b> | 195,1 $\pm$ 20,6 | 1164,1 $\pm$ 96,4  |
| <b>M1EP3 (0,5%)</b> | 179,9 $\pm$ 23,4 | 1352 $\pm$ 75,6    |

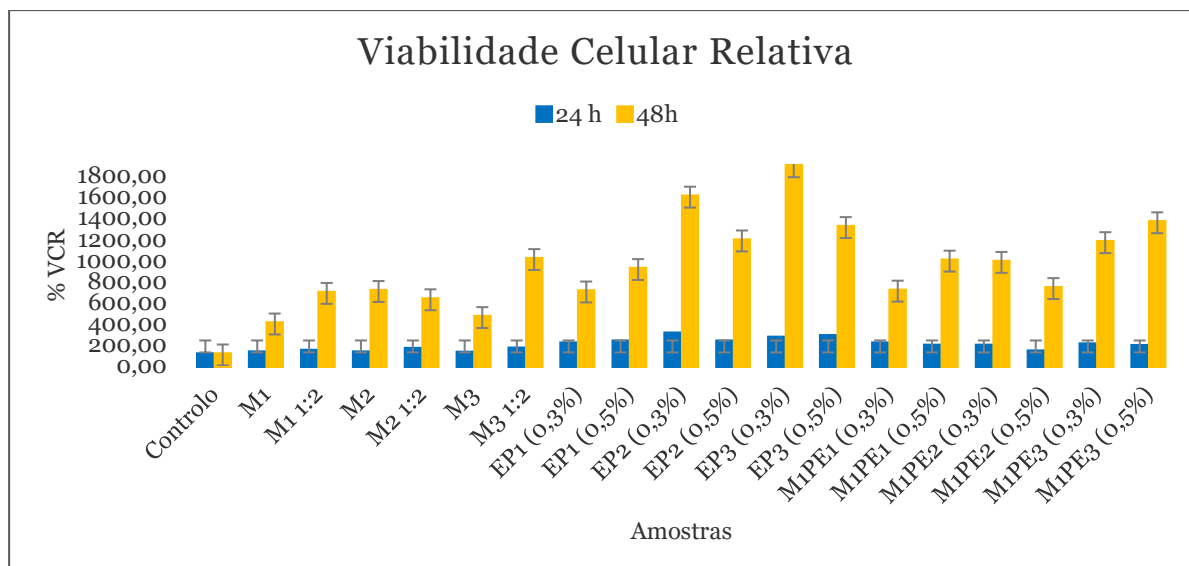


Figura 16. Viabilidade Celular Relativa (%VCR) às 24h (barra cinza escura) e às 48h (barra cinza clara)

Os resultados obtidos para as diferentes amostras foram muito superiores aos valores obtidos para o controlo o que significa que ocorreu um aumento da viabilidade celular e muito provavelmente um consequente aumento na proliferação celular.

A percentagem de viabilidade celular relativa (%VCR) determinada por este método às 24 h variou entre 117,5 e 155,5% nas amostras de Mel, 201,9 e 297,8% nas amostras de Extrato de Própolis e entre 128,3% e 204,2 % nas diferentes misturas.

A amostra de Mel que apresenta uma percentagem superior é a de M3 com diluição de 1:2, seguida da amostra de M2 com diluição de 1:2.

De entre os Extratos de Própolis aquele que apresenta valores mais elevados é o EP2 (0,3%) e aquele que apresenta valores inferiores é o EP1 (0,3%).

Comparativamente ao que ocorreu nos ensaios anteriores, os Extratos de Própolis apresentam uma percentagem superior à do Mel. Depois de se adicionar extrato de própolis à amostra de M1 verifica-se que todas as misturas apresentam um aumento de percentagem relativamente à amostra de M1. A amostra que apresenta maior percentagem é a de M1EP3 a 0,3%.

A percentagem de viabilidade celular relativa (%VCR) determinada por este método às 48 h variou entre 393,4% e 1003,8% nas amostras de Mel, 696,6% e 1883% nas amostras de Extrato de Própolis e entre 704,5% e 1352 % nas diferentes misturas.

A amostra de Mel que apresenta uma percentagem superior é novamente a de M3 com diluição de 1:2, seguida da amostra de M2.

De entre os Extratos de Própolis aquele que apresenta valores mais elevados é o EP3 (0,3%) e aquele que apresenta valores inferiores é mais uma vez o EP1 (0,3%).

Comparativamente ao que ocorreu nos ensaios anteriores, os Extratos de Própolis apresentam uma percentagem superior à do Mel. Depois de se adicionar Extrato de Própolis à amostra de M1 verifica-se que todas as misturas apresentam um aumento de percentagem relativamente à amostra de M1. A amostra que apresenta maior percentagem é a de M1EP3 a 0,5%.

#### **4.3.1. Determinação da capacidade de cicatrização *in vitro* - *Scratch Wound Healing Assay***


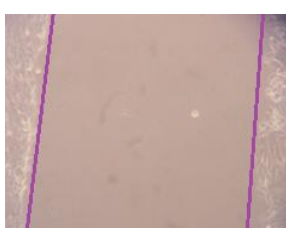

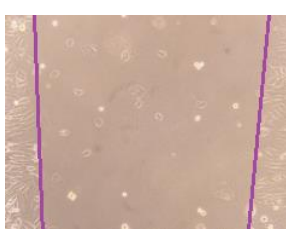
O ensaio de cicatrização *Scratch Wound Healing Assay* realizado com culturas de células NHDF resultou nas imagens microscópicas apresentadas na tabela 7, com a mesma ampliação. Através destas imagens foi possível observar a evolução da zona de descontinuidade ao longo do tempo, na presença de diferentes concentrações de mel, extratos de própolis e misturas.

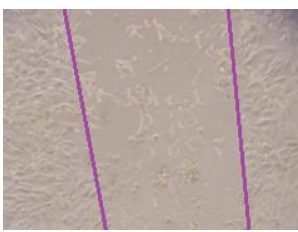
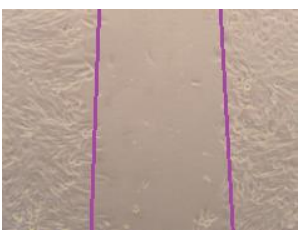
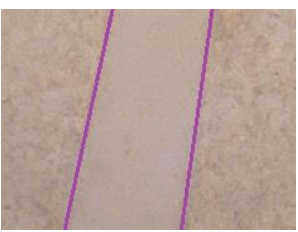
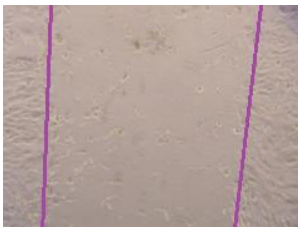
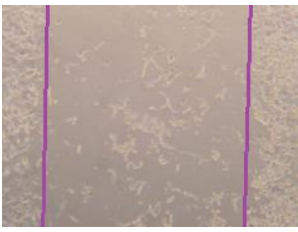

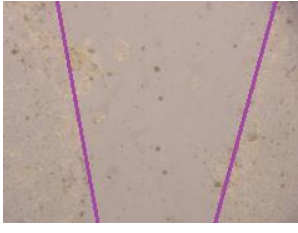
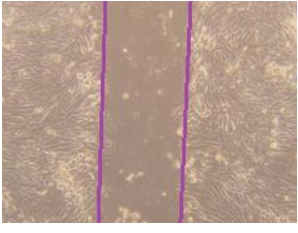
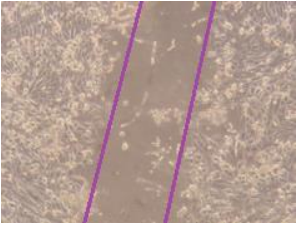
A dimensão das zonas de descontinuidade foi avaliada manualmente utilizando uma ferramenta de análise de imagem digital (*IC Measure*) que permitiu estimar a distância entre as margens da lesão.

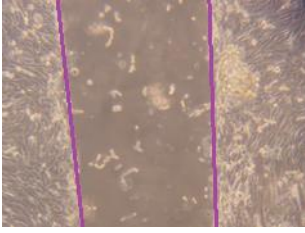
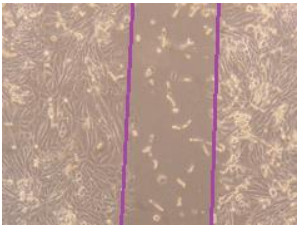
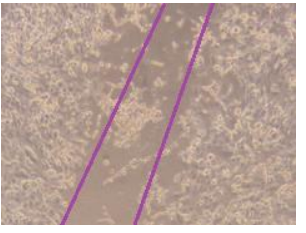
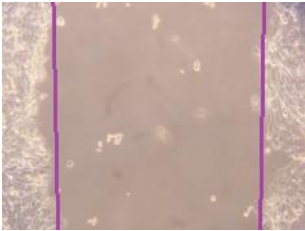
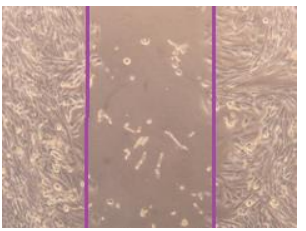
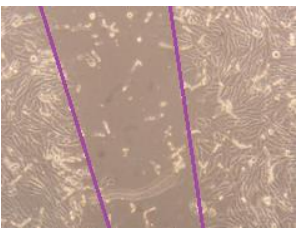
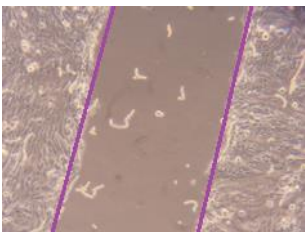
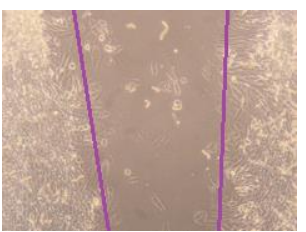
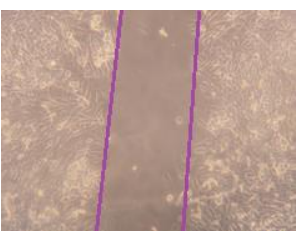

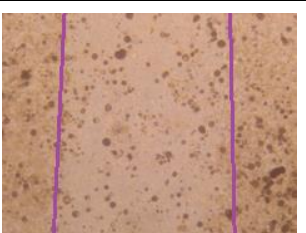
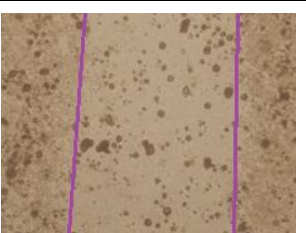
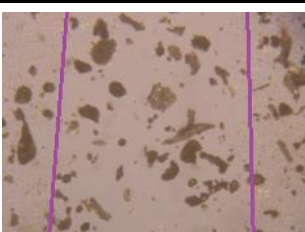
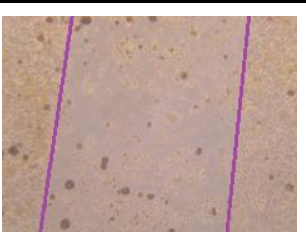

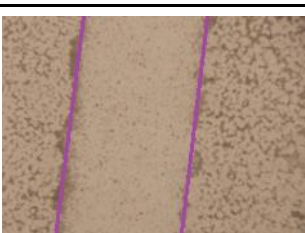


Recorrendo ao *IC Measure* foi estimada a distância entre as margens da lesão no controlo às 0h. Esta medida foi considerada como a medida inicial do ensaio, permitindo adimensionalizar e comparar as distâncias estimadas de todas as amostras.

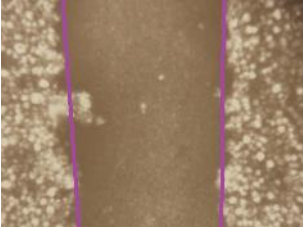
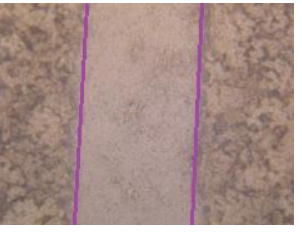
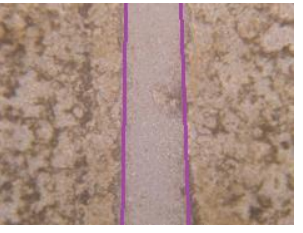
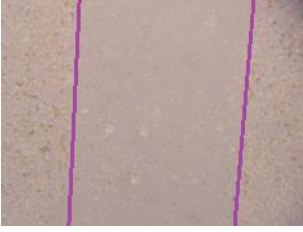














Os valores obtidos por medição manual foram compilados na tabela 8 e organizados nas figura 17, 18 e 19.

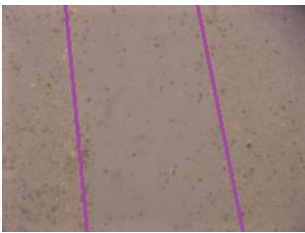

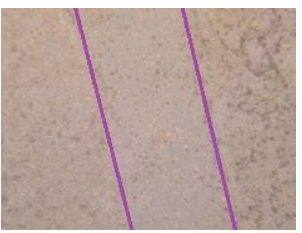


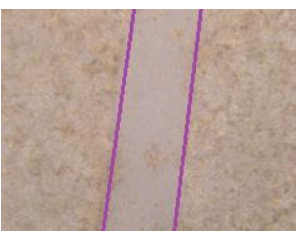


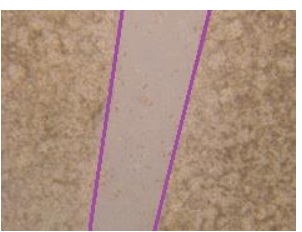
Tabela 7: Imagens fotográficas obtidas por microscopia do Ensaio de Cicatrização *in vitro*.

|   |  |
|---|--|
| Controlo às 0 h   | Controlo às 2 h  |
|  |  |
| Controlo às 24 h  | Controlo às 36 h   |
|  |  |

| Amostra  | Tempo decorrido: 2h   | Tempo decorrido: 24 h   | Tempo decorrido 36 h   |
|----------|---|---|--|
| M1       |   |   |   |
| M1 (1:2) |  |  |  |
| M2       |  |  |  |

| Amostra    | Tempo decorrido: 2h   | Tempo decorrido: 24 h  | Tempo decorrido: 36 h   |
|------------|---|--|---|
| M2 (1:2)   |    |    |    |
| M3         |    |    |    |
| M3 (1:2)   |   |   |   |
| EP1 (0,3%) |  |  |  |
| EP1 (0,5%) |  |  |  |
| EP2 (0,3%) |  |  |  |

| Amostra      | Tempo decorrido: 2h   | Tempo decorrido: 24 h   | Tempo decorrido: 36 h   |
|--------------|---|---|---|
| EP2 (0,5%)   |    |    |    |
| EP3 (0,3%)   |    |    |    |
| EP3 (0,5%)   |   |   |   |
| M1EP1 (0,3%) |  |  |  |
| M1EP1 (0,5%) |  |  |  |
| M1EP2 (0,3%) |  |  |  |

| Amostra      | Tempo decorrido: 2h  | Tempo decorrido: 24 h   | Tempo decorrido: 36 h  |
|--------------|--|---|--|
| M1EP2 (0,5%) |   |   |   |
| M1EP3 (0,3%) |   |   |   |
| M1EP3 (0,5%) |  |  |  |

Da análise visual das imagens obtidas e tendo por base as imagens de controlo é possível verificar que a amostra de Mel que apresenta uma maior confluência ao fim de 36h é a amostra de M2 com diluição de 1:2. As amostras de Extratos de Própolis apresentam resultados mais difíceis de observar, no entanto é possível denotar que a amostra de Extrato de Própolis com melhores resultados decorridas as 36h é a amostra EP2 (0,5%).

Das misturas de mel com extrato de própolis é possível verificar que ao fim de 36h a amostra M1EP3 (0,5%) é a que apresenta menor distância entre as margens da lesão. Relativamente à amostra de M1EP2 (0,3%) é difícil definir margens nítidas da lesão, sendo indicativo de confluência e, neste caso, é a amostra que melhores resultados apresentou entre todas as amostras em estudo.

Ao analisar a figura 17 é possível verificar que a amostra de mel que revelou menor distância estimada foi a de M2 (1:2) e a que revelou maior distância foi a de M1 (1:2).

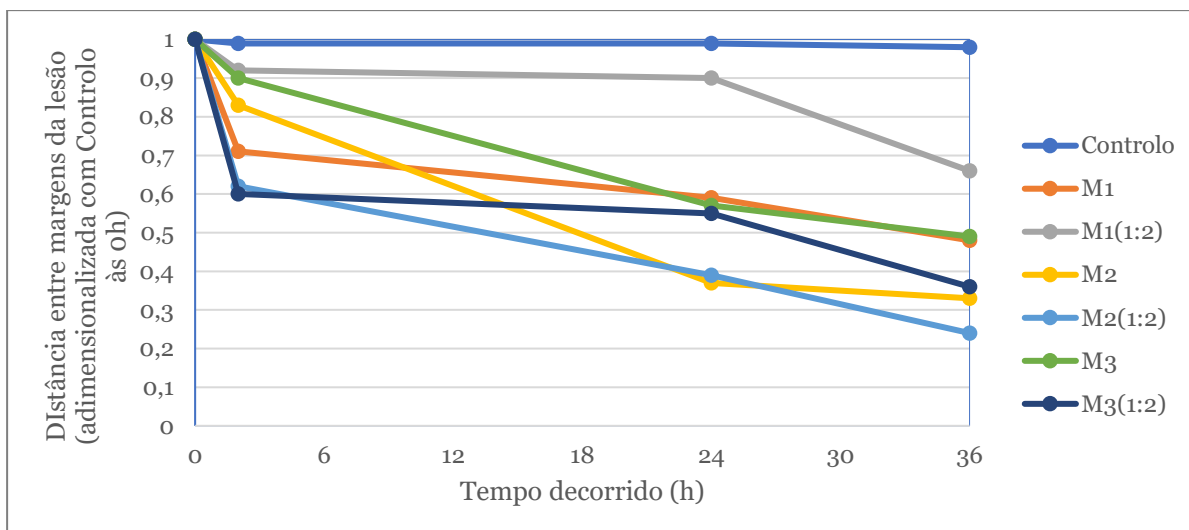


Figura 17. Estimativa da distância entre as margens da lesão nas amostras de mel.

Analisando a figura 18, referente aos extratos de própolis, podemos verificar que a amostra com a menor distância estimada foi o EP2 (0,5%) e o que revelou maior distância foi o EP1 (0,5%).

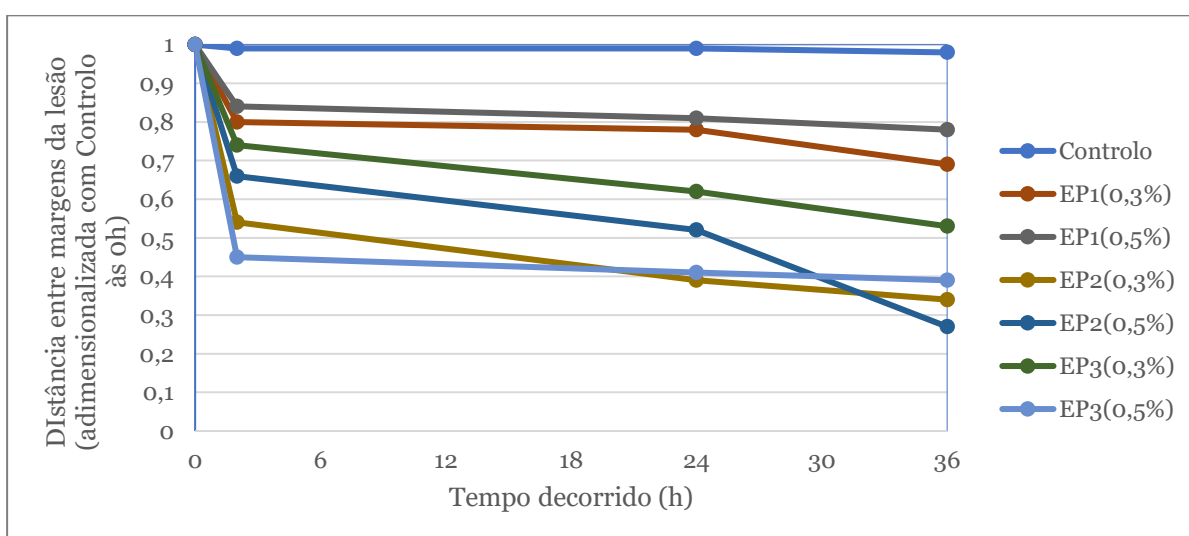


Figura 18. Estimativa da distância entre as margens da lesão nos extratos de própolis.

Finalmente, da análise da figura 19, referente às misturas, podemos verificar que a amostra com menor distância estimada foi o M1EP2 (0,5%) e a que revelou maior distância foi a de M1EP1 (0,5%).

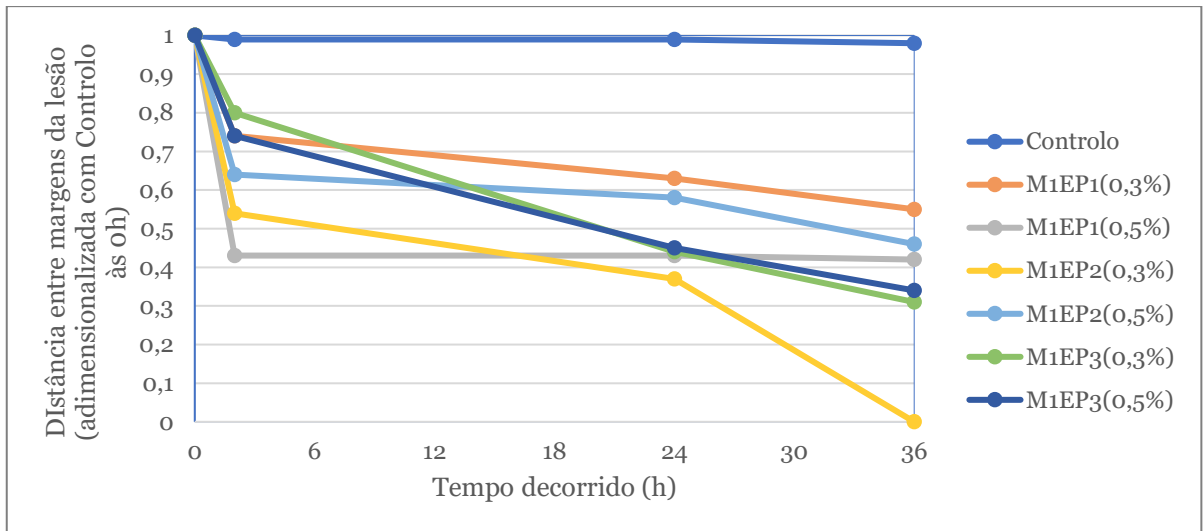


Figura 19. Estimativa da distância entre as margens da lesão nas misturas.



## 5. Discussão

Este trabalho de investigação teve como objetivos principais a verificação da atividade regenerativa de amostras de mel com própolis em fibroblastos humanos da derme e a análise de um possível sinergismo nas propriedades bioativas de diferentes misturas de mel e extrato de própolis.

Posto isto, procedeu-se à avaliação das características fitoquímicas e biológicas das amostras de mel, de extrato de própolis e das misturas de mel com extrato de própolis a diferentes concentrações.

Na mesma colmeia é armazenado mel que foi produzido ao longo das diferentes estações do ano. Desta forma, é importante referir que as diferentes amostras de mel apresentam cores distintas consoante a sua composição, a qual varia com a época em que o mel é produzido, as espécies vegetais utilizadas e as condições do meio envolvente. Estas alterações na composição têm um forte impacto nas atividades bioativas e regenerativas das diferentes amostras. Pela análise dos resultados foi possível constatar que o mel castanho (M1) apresentou maior conteúdo de compostos, seguido do mel vermelho (M2), sendo que o mel amarelo (M3) foi aquele que apresentou valores mais baixos e que os resultados aparentam ser concordantes com a atividade bioativa.

Relativamente às amostras de Mel, e atendendo à flora existente no local de colheita, é espetável que a amostra M1 tenha sido produzida maioritariamente durante o outono a partir de espécies como medronheiro, castanheiro, carvalho e pinheiro. A amostra de M2 deverá ter sido produzida durante o verão a partir de várias árvores de fruto como cerejeiras, macieiras, pereiras, abrunheiros e algumas floras como rosas, dalias e hortências. Por fim a amostra de M3 terá sido produzida durante a primavera, altura em que a maioria das flores silvestres florescem.

As amostras de própolis posteriormente extraídas não apresentaram uma correlação direta com as amostras de mel. Isto poderá dever-se ao facto de as abelhas repararem a sua colmeia continuamente ao longo do ano, sempre que se manifeste essa necessidade, pelo que as condições em que o própolis é produzido não serão necessariamente as mesmas condições em que o mel é produzido.

O própolis demonstrou valores mais elevados que as amostras de mel, assim como maior potencial bioativo e regenerativo. O facto de os extratos de própolis apresentarem concentrações de fenóis e flavonoides superiores aos apresentados pelo mel é concordante com a literatura[2].

A primeira determinação realizada foi a caracterização das amostras por FTIR. Esta técnica permitiu identificar nas amostras de mel um grande conteúdo de água e diferentes açúcares, sendo que nas amostras de própolis e extratos de própolis se verificou uma menor quantidade de água e uma forte presença de compostos aromáticos, como os flavonoides. Esta técnica permitiu ainda verificar que os espectros das diferentes amostras do mesmo composto são bastante semelhantes entre si, variando na maioria dos casos apenas a intensidade dos sinais. Os resultados de FTIR são congruentes com a determinação de fenóis totais e flavonoides onde se verificou que os extratos de própolis apresentam quantidades mais elevadas destes compostos, comparativamente com as amostras de mel.

Para a determinação dos fenóis totais foi utilizado o método de *Folin-Ciocalteu*, onde se observou que os extratos de própolis apresentam maiores concentrações destes compostos do que as amostras de Mel. A amostra de Mel que apresenta maior concentração destes compostos é a de M1, correspondente ao mel castanho escuro e a que apresenta menor concentração é a de M3 que corresponde ao mel amarelo. O Extrato de Própolis que apresenta valores mais elevados é o EP1 e aquele que apresenta valores ligeiramente inferiores é o EP2. Foi também observado que ao adicionar Extratos de Própolis a amostras de Mel, em diferentes concentrações, se aumentou a concentração de fenóis totais comparativamente com as amostras de Mel isoladas. A mistura que apresentou melhores resultados foi a de M1EP3 (0,5%) e a que apresentou valores inferiores foi a de M1EP2 (0,3%).

A quantificação dos flavonoides foi realizada tendo por base o método colorimétrico do Cloreto de Alumínio. Este método revelou que os Extratos de Própolis apresentam concentrações muito superiores destes compostos do que as amostras de Mel e que a única amostra de Mel que apresentou flavonoides na sua composição foi a de M1 correspondente ao mel castanho escuro. Revelou-se uma vez mais que ao adicionar Extratos de Própolis a amostras de Mel, em diferentes concentrações, se aumentou a concentração de fenóis totais comparativamente com as amostras de Mel isoladas. O Extrato de Própolis que apresenta valores mais elevados é o EP1 e aquele que

apresenta valores ligeiramente inferiores é o EP2. A mistura que apresentou melhores resultados foi a de M1EP1 (0,5%) e a que apresentou valores inferiores foi a de M1EP3 (0,3%).

De seguida procedeu-se à caracterização biológica das amostras por determinação da atividade antioxidante e anti-inflamatória.

A determinação da atividade antioxidante das amostras foi realizada por dois métodos, o método do DPPH e o sistema do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

No caso do método do DPPH, que avalia a capacidade de sequestração do radical livre DPPH, verificou-se mais uma vez que os Extratos de Própolis apresentam valores muito mais elevados do que o Mel. De facto, a amostra de M3 correspondente ao mel amarelo não demonstrou qualquer capacidade antioxidante por este método enquanto que a amostra de M1 demonstrou o valor mais elevado, o que é concordante com os valores de fenóis e flavonoides apresentados pelas amostras. Os Extratos de Própolis apresentaram valores muito semelhantes entre si, sendo que o EP1 apresentou maior atividade antioxidante e o EP2 apresentou menor atividade. Relativamente às misturas verificou-se que a mistura que apresenta maior atividade é a de M1EP3 0,5% e menor atividade é a M1EP2 0,3%.

Utilizando o sistema do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico que avalia a capacidade de as amostras inibirem a peroxidação lipídica, verificou-se que os valores obtidos para os Extratos de Própolis foram sempre mais elevados que os obtidos para as amostras de Mel. A amostra de Mel que apresenta maior atividade é a de M1, correspondente ao mel castanho escuro e a que apresenta menor atividade é a de M3 que corresponde ao mel amarelo. Relativamente aos Extratos de Própolis verifica-se que o EP3 apresenta valores mais elevados e o EP2 apresenta os valores mais inferiores. Ao aumentar a concentração de Extrato de Própolis adicionado ao M1 não se verificou um grande aumento da atividade antioxidante. A mistura que apresenta maior atividade é a de M1EP1 0,5% e menor atividade é a M1EP2 0,3%

Tendo por base os valores obtidos na determinação de fenóis e flavonoides verifica-se concordância entre a concentração destes compostos e a atividade antioxidante das amostras. É importante salientar que, de acordo com a literatura científica, a presença de fenóis e flavonoides aumenta a capacidade antioxidante e anti-inflamatória das amostras [2].

Por fim, a atividade anti-inflamatória foi avaliada utilizando um método *in vitro*, utilizando uma solução de BSA, que se baseia no facto de a desnaturação de proteínas ser umas das causas de inflamação. Caso as amostras demonstrem a capacidade de inibir a desnaturação proteica apresentam também atividade anti-inflamatória [24]. Utilizando este método verificou-se que os Extratos de Própolis têm uma maior capacidade inibitória do que as amostras de Mel. A amostra de Mel que apresentou melhores resultados foi a de M2, pelo contrário a amostra de M3 não apresentou qualquer atividade anti-inflamatória. O Extrato de Própolis que apresenta valores mais elevados é o EP3 e o que apresenta os valores mais baixos é o EP1. Verificou-se novamente que ao adicionar Extratos de Própolis a amostras de Mel em diferentes concentrações é possível aumentar a percentagem de inibição, comparativamente com as amostras de Mel. As misturas que apresentaram resultados mais elevados foram as de M1EP2 (0,5%) e M1EP3 (0,5%).

O ensaio de viabilidade celular foi efetuado tendo por base o método do Brometo de 3 (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). Este método é regido pelo principio de que as células viáveis de NHDF conseguem converter o MTT em formazano que apresenta uma coloração roxa escura que pode ser analisada espectrofotometricamente. Este ensaio permite ainda analisar indiretamente a proliferação celular [26]. A percentagem de viabilidade celular relativa foi calculada após incubação com as diferentes amostras durante 24 h e 48 h. Os resultados obtidos foram analisados relativamente ao controlo. Para ambos os tempos de incubação é possível verificar que os valores obtidos para as diferentes amostras são muito superiores a 100% o que permite concluir que houve um aumento da viabilidade e proliferação celular. Em ambos os tempos a amostra de Mel que apresenta percentagens mais elevadas é a M3 (1:2). O Extrato de Própolis com melhores resultados é o EP2 (0,3%) ao fim de 24 h e o EP3 (0,3%) ao fim de 48 h. Das misturas a que apresenta melhores resultados é a de M1EP3 (0,3%) ao fim de 24 h e a de M1EP3 (0,5%) ao fim de 48 h.

Objetivo principal deste trabalho foi a avaliação da resposta das células NHDF às diferentes amostras utilizando um ensaio de cicatrização *in vitro*, o *scratch wound healing assay*. Este método permite observar a migração celular depois da criação de uma zona de descontinuidade numa monocamada de células confluentes e aplicação de diferentes amostras ao longo de um determinado período. Este ensaio permitiu observar que a amostra de mel que apresentou melhores resultados decorridas 36 h

foi a de M2 com uma diluição de 1:2. Permitiu ainda observar que a amostra de extrato de própolis com melhores resultados foi a amostra de EP2 (0,5%). Relativamente às misturas, a que apresentou menor distância entre as margens foi a M1EP3 (0,5%) no entanto e apesar da falta de nitidez das imagens verificou-se confluência da amostra de M1EP2 (0,5%).

A análise da distância entre a margem das lesões permitiu verificar que a amostra de mel que revelou menor distância estimada foi a de M2 (1:2) e a que revelou maior distância foi a de M1 (1:2). Relativamente aos extratos de própolis, a amostra com menor distância estimada foi o EP2 (0,5%) e o que revelou maior distância foi o EP1 (0,5%). Por fim, nas misturas podemos verificar que a amostra com menor distância estimada foi o M1EP2 (0,5%) e a que revelou maior distância foi a de M1EP1 (0,5%).

Os resultados obtidos para o ensaio de cicatrização *in vitro* não se mostraram muitos concordantes com o ensaio de viabilidade celular. Contudo, as amostras que apresentaram melhores resultados em termos de cicatrização apresentaram também valores elevados de percentagem de viabilidade celular, assim como elevada atividade anti-inflamatória e antioxidante.

O sinergismo entre as amostras de mel com extratos de própolis, relativamente às propriedades bioativas e regenerativas, não foi comprovado. As misturas de mel com extrato de própolis apenas revelaram maior concentração de compostos e níveis de atividade superiores comparativamente às amostras de mel, não revelando vantagens em relação aos extratos de própolis e não se provando assim o sinergismo.



## 6. Conclusão

No início deste trabalho de investigação propus-me a investigar a atividade regenerativa de amostras de mel com própolis em fibroblastos humanos da derme e a analisar um possível sinergismo entre as propriedades bioativas de diferentes misturas de mel com extrato de própolis. Este objetivo foi concretizado com sucesso sendo que se demonstrou a elevada atividade regenerativa de amostras de mel com própolis, no entanto não foi comprovado um possível sinergismo entre as propriedades bioativas das diferentes misturas de mel com extrato de própolis.

É importante denotar que o conteúdo das amostras de mel varia com a época em que é produzido, as espécies vegetais utilizadas e as condições do meio envolvente, o que altera a sua bioatividade e capacidade regenerativa. Salienta-se ainda que as amostras de própolis não apresentaram uma correlação direta com as amostras de mel, o que pode ser explicado pelo facto de as condições em que este é produzido não serem necessariamente as mesmas em que o mel é produzido.

Terminado este trabalho é possível concluir que o conteúdo em fenóis e flavonoides afeta de forma marcada a atividade antioxidante e anti-inflamatória e, conseqüentemente a viabilidade e proliferação celular. Tal pode ser comprovado pelos resultados obtidos durante a caracterização das amostras pelos vários métodos descritos.

Finalmente, pode-se concluir que o mel e o própolis apresentam um vasto espectro de atividades, fortemente influenciadas pela sua composição, as quais devem ser exploradas e investigadas devido ao seu potencial uso na indústria farmacêutica. Em certos casos o própolis poderá ser utilizado para enriquecer o mel e assim aumentar as propriedades associadas a estes compostos.

Uma perspetiva futura passará por realizar os ensaios referidos em várias zonas do país para explorar que zonas reúnem condições e espécies vegetais mais favoráveis à produção de mel e própolis com melhores características. Poderão ainda ser realizados estudos que comprovem a proliferação celular, *in vitro* por doseamento de proteínas celulares ou *in vivo* através de ensaios dermatológicos.



## 7. Bibliografía

- [1] M. Eyer, P. Neumann, e V. Dietemann, «A Look into the Cell: Honey Storage in Honey Bees, *Apis mellifera*», PLoS ONE, vol. 11, n. 8, p. e0161059, Ago. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0161059.
- [2] S. M. Osés, A. Pascual-Maté, M. A. Fernández-Muiño, T. M. López-Díaz, e M. T. Sancho, «Bioactive properties of honey with propolis», Food Chemistry, vol. 196, pp. 1215–1223, Abr. 2016, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.050.
- [3] J.-R. Liu, Y.-L. Ye, T.-Y. Lin, Y.-W. Wang, e C.-C. Peng, «Effect of floral sources on the antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of honeys in Taiwan», Food Chemistry, vol. 139, n. 1–4, pp. 938–943, Ago. 2013, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.02.015.
- [4] I. C. F. R. Ferreira, E. Aires, J. C. M. Barreira, e L. M. Estevinho, «Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract», Food Chemistry, vol. 114, n. 4, pp. 1438–1443, Jun. 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.028.
- [5] M. Viuda-Martos, Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López, e J. A. Pérez-Álvarez, «Functional Properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly», Journal of Food Science, vol. 73, n. 9, pp. R117–R124, Nov. 2008, doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x.
- [6] D. Cianciosi *et al.*, «Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review», Molecules, vol. 23, n. 9, p. 2322, Set. 2018, doi: 10.3390/molecules23092322.
- [7] A. Oryan, E. Alemzadeh, e A. Moshiri, «Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis», Journal of Tissue Viability, vol. 25, n. 2, pp. 98–118, Mai. 2016, doi: 10.1016/j.jtv.2015.12.002.
- [8] N. Kalogeropoulos, S. J. Konteles, E. Troullidou, I. Mourtzinos, e V. T. Karathanos, «Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus», Food Chemistry, vol. 116, n. 2, pp. 452–461, Set. 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.060.

- [9] J. M. Sforcin, «Propolis and the immune system: a review», *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 113, n. 1, pp. 1–14, Ago. 2007, doi: 10.1016/j.jep.2007.05.012.
- [10] S. I. Anjum *et al.*, «Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review», *Saudi Journal of Biological Sciences*, p. S1319562X1830189X, Ago. 2018, doi: 10.1016/j.sjbs.2018.08.013.
- [11] N. Zabaïou *et al.*, «Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product», *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 207, pp. 214–222, Out. 2017, doi: 10.1016/j.chemphyslip.2017.04.005.
- [12] R. Silva-Carvalho, F. Baltazar, e C. Almeida-Aguiar, «Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development», *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2015, pp. 1–29, 2015, doi: 10.1155/2015/206439.
- [13] S. Martinotti e E. Ranzato, «Propolis: a new frontier for wound healing?», *Burn Trauma*, vol. 3, n. 1, p. 9, Dez. 2015, doi: 10.1186/s41038-015-0010-z.
- [14] R. J. Nijveldt, E. van Nood, D. E. van Hoorn, P. G. Boelens, K. van Norren, e P. A. van Leeuwen, «Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications», *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 74, n. 4, pp. 418–425, Out. 2001, doi: 10.1093/ajcn/74.4.418.
- [15] Â. Luís, D. Neiva, H. Pereira, J. Gominho, F. Domingues, e A. Duarte, «Stumps of *Eucalyptus globulus* as a Source of Antioxidant and Antimicrobial Polyphenols», *Molecules*, vol. 19, n. 10, pp. 16428–16446, Out. 2014, doi: 10.3390/molecules191016428.
- [16] M. R. Rover e R. C. Brown, «Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin–Ciocalteu method», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 104, pp. 366–371, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.jaap.2013.06.011.
- [17] S. K. Al-matani, R. N. S. Al-Wahaibi, e M. A. Hossain, «In vitro evaluation of the total phenolic and flavonoid contents and the antimicrobial and cytotoxicity

activities of crude fruit extracts with different polarities from *Ficus sycomorus*», *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, vol. 17, n. 3, pp. 103–108, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.psra.2016.02.002.

[18] S. Ahmed *et al.*, «Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action», *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2018, pp. 1–19, 2018, doi: 10.1155/2018/8367846.

[19] Â. Luís, A. P. Duarte, L. Pereira, e F. Domingues, «Interactions between the major bioactive polyphenols of berries: effects on antioxidant properties», *Eur Food Res Technol*, vol. 244, n. 1, pp. 175–185, Jan. 2018, doi: 10.1007/s00217-017-2948-5.

[20] D. Bandonien<sup>≠</sup> e M. Murkovic, «The detection of radical scavenging compounds in crude extract of borage (*Borago officinalis* L.) by using an on-line HPLC-DPPH method», *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, vol. 53, n. 1–3, pp. 45–49, Out. 2002, doi: 10.1016/S0165-022X(02)00091-X.

[21] M. Zovko Končić, D. Kremer, K. Karlović, e I. Kosalec, «Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat», *Food and Chemical Toxicology*, vol. 48, n. 8–9, pp. 2176–2180, Ago. 2010, doi: 10.1016/j.fct.2010.05.025.

[22] E. Ranzato, S. Martinotti, e B. Burlando, «Honey exposure stimulates wound repair of human dermal fibroblasts», *Burn Trauma*, vol. 1, n. 1, p. 32, 2013, doi: 10.4103/2321-3868.113333.

[23] A. Oryan, E. Alemzadeh, e A. Moshiri, «Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities», *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 98, pp. 469–483, Fev. 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2017.12.069.

[24] P. N. Tatti, S. Anitha, S. Shashidhara, M. Deepak, e S. Bidari, «EVALUATION OF IN-VITRO ANTI-DENATURATION ACTIVITY OF ISOLATED COMPOUND OF BUTEA MONOSPERMA BARK.», vol. 3, n. 4, p. 7, 2012.

- [25] G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, e M. T. Longaker, «Wound repair and regeneration», *Nature*, vol. 453, n. 7193, pp. 314–321, Mai. 2008, doi: 10.1038/nature07039.
- [26] F. Domingues, Â. Luís, L. Breitenfeld, S. Ferreira, e A. Duarte, «Antimicrobial, antibiofilm and cytotoxic activities of *Hakea sericea* Schrader extracts», *Phcog Mag*, vol. 10, n. 37, p. 6, 2014, doi: 10.4103/0973-1296.127331.
- [27] Y. P. Talekar, K. G. Apte, S. V. Paygude, P. R. Tondare, e P. B. Parab, «Studies on wound healing potential of polyherbal formulation using in vitro and in vivo assays», *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, vol. 8, n. 2, pp. 73–81, Abr. 2017, doi: 10.1016/j.jaim.2016.11.007.
- [28] E. Ranzato, S. Martinotti, e B. Burlando, «Epithelial mesenchymal transition traits in honey-driven keratinocyte wound healing: Comparison among different honeys: Honey-driven keratinocyte wound healing», *Wound Repair Regen*, vol. 20, n. 5, pp. 778–785, Set. 2012, doi: 10.1111/j.1524-475X.2012.00825.x.
- [29] D. M. Mackie, J. P. Jahnke, M. S. Benyamin, e J. J. Sumner, «Simple, fast, and accurate methodology for quantitative analysis using Fourier transform infrared spectroscopy, with bio-hybrid fuel cell examples», *MethodsX*, vol. 3, pp. 128–138, 2016, doi: 10.1016/j.mex.2016.02.002.
- [30] O. Anjos, M. G. Campos, P. C. Ruiz, e P. Antunes, «Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey», *Food Chemistry*, vol. 169, pp. 218–223, Fev. 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.138.
- [31] Â. Luís *et al.*, «Star anise (*Illicium verum* Hook. f.) essential oil: Antioxidant properties and antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii*», *Flavour Fragr J*, vol. 34, n. 4, pp. 260–270, Jul. 2019, doi: 10.1002/ffj.3498.
- [32] R. N. Oliveira *et al.*, «FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing», *Matéria (Rio J.)*, vol. 21, n. 3, pp. 767–779, Set. 2016, doi: 10.1590/S1517-707620160003.0072.

# Capítulo 2 – Estágio em Farmácia Comunitária

## 1. Introdução

O conceito de farmácia tem evoluído muito ao longo dos anos e de momento a farmácia é considerada um espaço onde se praticam Cuidados Farmacêuticos. Estes cuidados englobam a cedência e indicação de medicamentos e outros produtos de saúde, a revisão da terapêutica e o seguimento farmacoterapêutico, a farmacovigilância, a educação para a saúde e o uso racional do medicamento [1].

As relações de proximidade estabelecidas com o utente permitem ao farmacêutico desempenhar um papel fundamental na prestação, prevenção e promoção dos cuidados de saúde. Assim, este conceito coloca o doente no centro da atividade farmacêutica [1].

O estágio em Farmácia Comunitária é, deste modo, um momento de consolidação dos conhecimentos teóricos obtidos no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, preparando os estudantes para a prática farmacêutica.

Realizei o meu estágio curricular em Farmácia Comunitária entre o dia 16 de setembro e o dia 29 de novembro de 2019, com duração total de 440 horas, na Farmácia Holon Covilhã, sob orientação da farmacêutica substituta Dr.<sup>a</sup> Patrícia Amaral.

## 2. Grupo Holon

A palavra Holon vem do grego *Holos*. O seu conceito descreve algo que é um todo em si mesmo e, simultaneamente, uma parte de um sistema maior. O grupo Holon é um reflexo de cada Farmácia que o constitui. E cada Farmácia é um todo em si mesmo, com a sua autonomia, independência e autodeterminação.

A palavra Holon deriva da palavra grega *Holos* que significa ser simultaneamente um todo e uma parte de algo maior, contemplando assim a individualidade das farmácias colaboradoras e a diversidade das mesmas num modelo de farmácia comum.

O grupo de Farmácias Holon partilha muito mais do que apenas um nome, uma marca ou uma imagem, este grupo partilha acima de tudo um objetivo comum de prestar o melhor serviço possível, focado no utente e na sua qualidade de vida e não se limita apenas a dispensar medicamentos [2].

Para tal este grupo conta com equipas proativas e inovadoras, compostas por profissionais de saúde qualificados, não apenas na área farmacêutica, que permitem o fornecimento de múltiplos serviços complementares de saúde.

O grupo preza pela constante formação dos seus profissionais, facultando aos mesmos um portal de Farmácias Holon onde podem ser consultadas diversas circulares, protocolos de aconselhamento e dispensa, folhetos informativos, manuais de boas práticas, formulários e guiões, fichas técnicas dos produtos Holon, e ainda uma plataforma de *E-learning*.

Para além disto todos os colaboradores são incentivados a participar em formações organizadas pelo grupo, sendo que tive a excelente oportunidade de participar na formação de Atendimento Holon 1 com a duração de 16 horas (Anexo I), onde me foi apresentada a visão deste grupo, e descritas as atitudes e comportamentos que enquanto profissional deveria adotar para fornecer um atendimento uniforme, empático, assertivo, positivo e com rigor científico. Participei ainda numa formação do grupo Aboca com a duração de 3h sobre o aconselhamento dos produtos deste fornecedor.

## **3.A Farmácia Holon Covilhã**

### **3.1.Localização e horário**

A Farmácia Holon Covilhã (FHC) localiza-se na Alameda Pêro da Covilhã, junto à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior e relativamente próxima do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB).

O horário de atendimento realiza-se todos os dias das 8 h às 24 h, excetuando uma vez por semana quando a farmácia se encontra de Serviço em que o horário é alargado para completar as 24 h.

Devido à proximidade ao CHUCB a população que frequenta a farmácia é muitas vezes proveniente do serviço de urgência, consulta externa, consultas de especialidade, ou

departamento cirúrgico, fornecendo assim um público muito heterogéneo quanto à faixa etária, patologias apresentadas e nível de formação.

Durante o dia é possível denotar diferenças na faixa etária, sendo que logo após a abertura da farmácia a população é maioritariamente constituída por adultos jovens, a partir do meio da manhã e meio da tarde a população caracteriza-se por ser mais idosa e polimedicada, ao fim da tarde a população volta a ser maioritariamente constituída por adultos e adultos jovens e, por fim, no período da noite os atendimentos tornam-se mais heterogéneos, devido à afluência ao serviço de urgência e à proximidade ao hospital.

### **3.2.O espaço exterior**

No exterior da FHC é possível identificar a cruz verde luminosa, um letreiro com a palavra “Farmácia” e o respetivo nome desta, a identificação do diretor técnico, o horário de funcionamento, os serviços prestados e a calendarização das farmácias de serviço permanente da semanal [1], [3].

A FHC possui 3 fachadas compostas exclusivamente por janelas, sendo que duas delas permitem a visualização de toda a área de atendimento e uma delas abrange a área correspondente à sala de conferências e armazém, estando esta última coberta por publicidade a duas marcas vendidas no interior da farmácia e pela lista de serviços prestados.

A entrada para a FHC encontra-se ao nível da rua e possui uma rampa de acesso de cadeiras rodas, a partir do local de estacionamento para deficientes, o que facilita o acesso a todos os utentes portadores de deficiências [1], [3]. Esta dispõe de bastante estacionamento próximo das instalações, o que torna o acesso dos utentes mais cómodo. A entrada da FHC é dotada de guarda-vento com porta automática para resguardo dos utentes e funcionários das condições atmosféricas adversas [1].

### **3.3.O espaço interior**

A FHC é caracterizada por um espaço interior amplo, d organização funcional e intuitiva, que permite aos profissionais garantir um atendimento adequado aos utentes. Esta encontra-se bem iluminada, ventilada e limpa proporcionando um ambiente calmo e profissional de atendimento [1].

O espaço interior da farmácia é composto por uma zona de atendimento ao público com 4 balcões em pé, 2 balcões de atendimento sentado, gabinetes de atendimento personalizado, zona de armazém, laboratório e instalações sanitárias, cumprindo os requisitos obrigatórios por lei relativamente às áreas mínimas de uma farmácia [4].

A zona de atendimento ao público contém de forma visível informações sobre os serviços prestados e respetivos preços, a existência de livro de reclamações e uma placa informativa de atendimento prioritário para todos os portadores de deficiência ou incapacidade, idosos, grávidas e pessoas com crianças ao colo [1].

Esta farmácia dispõe de um *robot* de armazenamento e dispensa de medicamentos (Rowa®) bastante grande onde são armazenados todos os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) e stock excedente de alguns medicamentos com grande rotatividade, não sujeitos a receita médica. A utilização do *robot* permite um maior controlo de *stocks*, validades e garantia das condições de armazenamento dos produtos, minimiza o tempo de procura de medicamentos, aumentando consequentemente o tempo disponível para a interação farmacêutico-utente, minimizando ainda erros associados à dispensa.

Os medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), medicamentos de uso veterinário e suplementos alimentares encontram-se expostos em lineares atrás dos balcões de atendimento. A restante área da farmácia encontra-se dividida por secções onde podem ser encontrados produtos de puericultura, ortopedia, podologia, higiene oral, alimentação e variados dispositivos médicos dispostos em lineares e gondolas de livre acesso aos utentes, com a identificação das diferentes categorias na zona superior do linear. A farmácia tem uma vasta e variada oferta de produtos de dermocosmética em local de destaque na entrada da mesma.

Ao lado da zona de atendimento encontra-se um gabinete de atendimento individualizado onde é realizado o serviço de intervenção farmacêutica, atendimentos de natureza mais reservada e medições de parâmetros bioquímicos e de pressão arterial [1].

Os restantes gabinetes encontram-se ligeiramente mais afastados da zona de atendimento sendo que o gabinete número 2 se destina à administração de injetáveis e vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação e prestação dos serviços de Nutrição e Dermofarmácia, contendo todo o material necessário à prestação dos mesmos [5], [6]. Por

último o gabinete número 3 é utilizado no serviço de Podologia e Pé-Diabético por contemplar todos os requisitos para o fornecimento destes serviços.

Na zona posterior da farmácia situa-se a área reservada aos funcionários da farmácia (*back office*), contendo uma área para receção de encomendas, impressão de cartões da farmácia e etiquetas, uma zona com prateleiras de armazenamento de produtos em fim de validade e produtos reservados às restantes farmácias do grupo (Farmácia Pedroso, Farmácia Diamantino e Farmácia São João). Nesta área encontra-se ainda um frigorífico de conservação de produtos termolábeis, uma área de armazenamento de reservas de produtos, e uma zona de armazenamento de produtos com maior *stock*.

No *back office* encontra-se ainda o gabinete de direção técnica, zona de vestiários e balneários para funcionários, casa de banho para os utentes, uma área de copa, uma sala de arrumos e uma sala de conferências, onde são realizadas as entregas de encomendas e armazenados produtos de maior volume.

A farmácia tem uma pequena biblioteca, atualizada e organizada, constituída por fontes de informação para uso clínico, nomeadamente o Prontuário Terapêutico de carácter obrigatório, a Farmacopeia Portuguesa e o Formulário Galénico Português [1], [3].

Por fim, apesar de não serem preparados medicamentos manipulados nesta farmácia, esta dispõe de um laboratório que se encontra equipado de acordo com as exigências legais impostas [7]. A preparação de medicamentos manipulados é realizada na Farmácia Diamantino quando necessário. É no laboratório que se realiza a Preparação Individualizada de Medicamentos (PIM) semanal ou quinzenal.

### **3.4. Recursos humanos**

A equipa da FHC é constituída por elementos jovens e dinâmicos, sendo composta por um total de sete farmacêuticos e dois técnicos de farmácia, cumprindo o disposto no Decreto-Lei nº 307/2007, alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto [3], [8].

Relativamente aos recursos humanos poder-se-á destacar o Dr. Pedro Diamantino enquanto diretor técnico (DT) e proprietário da farmácia, a Dr.<sup>a</sup> Patrícia Amaral e a Dr.<sup>a</sup> Patrícia Pais como farmacêuticas substitutas, assumindo funções de diretor técnico na ausência do mesmo.

Tal como previsto no Decreto-Lei nº 307/2007, alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto, o diretor técnico assume, para além das funções habituais de farmacêutico, a responsabilidade por todos os atos farmacêuticos praticados na farmácia, assegura as condições de higiene e segurança da farmácia e dos trabalhadores da mesma e garante o cumprimento das regras deontológicas farmacêuticas [3], [8].

Os restantes membros do quadro farmacêutico incluem a Dr.ª Sara Domingos, a Dr.ª Raquel Bento e o Dr. Cristiano Alves. A equipa conta ainda com os excelentes técnicos de farmácia Sr. Eugénio Gonçalves e Sra. Sílvia Oliveira. Por fim, mas não menos importante a farmácia dispõe de uma auxiliar de limpeza a Sr.ª Natália.

Como a FHC pertence a um grupo de 6 farmácias, tive ainda contacto telefónico com membros das restantes equipas e contacto presencial com membros da Farmácia Holon Costa da Caparica, Farmácia Diamantino e Farmácia Pedroso.

Dentro da equipa cada membro exerce funções extra à função de atendimento dos utentes, partilhando áreas de responsabilidade e experiência. O seguinte organograma organiza e sumariza as áreas específicas exercidas por cada membro dentro da equipa (Figura 20).



Figura 20: Organização dos Recursos Humanos na Farmácia Holon Covilhã. O nome a negrito corresponde ao primeiro responsável pela área.

### 3.5. Sistemas informáticos

O sistema informático de gestão e atendimento farmacêutico disponível na FHC é o *Sifarma2000*. Este sistema patenteado pela *Glantt* serve de suporte à prática farmacêutica permitindo a gestão diária de *stocks* e encomendas e um atendimento funcional, simples e intuitivo.

Este *software* é fundamental no dia-a-dia da farmácia, permitindo a realização de encomendas, receção e organização de produtos e facilitando o atendimento, por conter informações científicas atualizadas e vitais para a dispensa correta de medicamentos, tais como composição, indicações terapêuticas, posologia, interações farmacológicas, reações adversas e contraindicações.

Como qualquer *software*, o *Sifarma2000* apresenta determinados erros de comunicação que podem alterar o normal funcionamento da farmácia e o desempenho durante o atendimento. Durante o meu estágio ocorreram dois momentos em que o sistema não permitiu a dispensa de prescrições eletrónicas, tendo estas sido dispensadas como vendas suspensas e mais tarde regularizadas. Estas situações foram normalizadas após contacto e devido apoio técnico remoto por parte da *Glintt*.

### **3.6.Documentos científicos e fontes de informação**

Devido à imensidão de informação científica na área da saúde, torna-se fundamental a criação de uma Biblioteca de farmácia, onde possam estar organizadas fontes de informação relevantes para consulta rápida, que permitam aceder de forma eficiente aos dados necessários [9].

Posto isto, a FHC dispõe na sua biblioteca de Farmacopeia Portuguesa 9.º, Formulário Galénico Português, Manual de Boas Práticas Farmacêuticas, Índice Nacional Terapêutico, Código de Ética da Ordem dos Farmacêuticos, Direito Farmacêutico, Manual de Medicamentos Não Prescritos, Dicionário de Termos Médicos e Martindale Para além disto, possui ainda Protocolos de Atendimento Holon e Mapas de apoio ao fornecimento de medicamentos.

Durante o atendimento, o *Sifarma2000* facultava aos profissionais informações sobre a composição qualitativa do medicamento, indicações terapêuticas, posologia, interações, contraindicações e reações adversas, o que facilita a cedência dos produtos ao utente. É possível ainda aceder no site do INFARMED I.P. ao Resumo das Características do Medicamento (RCM) para outro tipo de esclarecimentos.

Para esclarecimentos adicionais, não constantes nas bases de informação, são disponibilizadas circulares informativas pela Associação Nacional das Farmácias (ANF) e pelo INFARMED I.P.

Durante o meu estágio foram várias as visitas dos delegados de informação médica que disponibilizaram informações relevantes para a dispensa correta dos produtos.

## **4. Armazenamento e aprovisionamento**

A gestão de stocks e aprovisionamento correto dos produtos assume um papel fundamental e indispensável para a rentabilidade e sustentabilidade da farmácia a nível económico e garante o acesso dos produtos a todos os utentes.

No início do meu estágio esta foi a área com a qual tive mais contacto para fins de familiarização com os produtos, respetivos nomes comerciais e locais de armazenamento.

### **4.1. Encomendas**

Os principais distribuidores grossistas da FHC são a OCP Portugal e a UDIFAR, sendo que a farmácia recebe habitualmente duas encomendas diárias de ambos os fornecedores, exceto aos sábados, domingos e feriados. As encomendas da OCP são entregues em dias úteis às 06h00 e às 15h15, e as da UDIFAR às 09h00 e 18h45, tendo horários de entrega reduzidos aos fins de semana e feriados.

As encomendas aos distribuidores supramencionados são efetuadas duas vezes por dia tendo em conta fatores financeiros, tais como os preços praticados, descontos e qualidade do serviço prestado pelos distribuidores, nomeadamente a frequência das entregas e cumprimento de horários.

O *Sifarma2000* gera duas vezes por dia e de modo automático uma proposta de encomenda, tendo por base um *stock* mínimo e máximo pré-definido dos produtos existentes na farmácia, que é analisada, ajustada e validada pelo farmacêutico ou técnico de farmácia antes da realização do pedido ao fornecedor.

Durante o ato de atendimento, caso haja a necessidade de produtos que a farmácia não possui nesse momento, o *Sifarma2000* permite verificar o “*stock* remoto” existente nas restantes farmácias do grupo, que deve ser confirmado telefonicamente, e o utente poderá ser encaminhado para a farmácia que possua *stock* ou poderá ser solicitada a permuta de produtos e respetivo envio para a FHC.

Caso não exista “*stock* remoto” podem ser realizadas encomendas instantâneas, aos fornecedores grossistas, através do *Sifarma2000*. Para tal, é realizada a encomenda e respetiva reserva a partir da ficha do utente, paga no ato de reserva ou no ato de entrega, e é fornecido um comprovativo com o número da reserva, nome da pessoa, os produtos encomendados e estado de pagamento. É fornecido ao utente uma data e hora prevista de chegada da encomenda.

Periodicamente são realizadas encomendas diretas aos laboratórios dos produtos de saúde, estas encomendas são específicas para produtos a adquirir em grande quantidade pois torna-se mais vantajoso a nível económico proceder à transação direta com o laboratório. Este é o caso das encomendas periódicas à Nestlé®, e marcas de dermocosmética como a Caudalie®, Lierac®, Filorga®, entre outros.

Por vezes são realizadas encomendas por telefone, pelo *site* da UDIFAR, ou *gadget* da OCP de produtos rateados ou dispositivos médicos personalizados. Nestes casos, realiza-se uma encomenda manual no *Sifarma2000*, para que possa ser dada a entrada do produto no *stock* da farmácia.

## **4.2.Receção de encomendas**

Para evitar diferenças de *stock* real e informático é importante que a receção de encomendas e correta atualização do *stock* da farmácia seja efetuada de modo a evitar discrepâncias e erros. Para isso, no *Sifarma2000* é possível rececionar encomendas, conferir entradas de produtos e atualizar validades dos produtos, de forma eficiente e eficaz.

As encomendas chegam à farmácia acompanhadas das respetivas faturas ou guias de remessa e é verificado se a encomenda se destina à farmácia em causa.

Procede-se de seguida à abertura e verificação do estado de conservação de todas as embalagens e, caso se verifique a existência de produtos termolábeis, estes são armazenados temporariamente numa gaveta do frigorífico identificada como “produtos não rececionados” até que possam ser armazenados corretamente nas devidas gavetas.

Tendo em conta que as reservas dos utentes são distribuídas em contentores separados das encomendas diárias, é dada prioridade às mesmas para garantir o cumprimento do horário fornecido ao utente, aquando do ato da reserva.

Para dar início ao processo de receção de encomendas é iniciado o *Sifarma2000* e aberto o separador de receção de encomendas, selecciona-se a encomenda a rececionar, introduz-se o número da fatura, valor total e número de embalagens.

De seguida são registados os produtos por código de barras ou *QR-Code*, garantido que os prazos de validade inseridos automaticamente são os corretos. Quando o prazo de validade do produto é inferior aos produtos em *stock*, ou se o *stock* é zero, atualiza-se a validade para corresponder à do produto recebido. Durante o registo é verificado o número de embalagens e estado de conservação das mesmas.

Depois de todas as embalagens serem introduzidas o número de produtos deve corresponder ao número inserido no início do processo. É ainda verificado o Preço de Venda à Farmácia (PVF), o Preço de Venda ao Público (PVP) em vigor e qualquer desconto ou condições sobre o PVF. Caso os preços sejam diferentes dos praticados até à data procede-se à atualização dos preços dos produtos marcados pela farmácia.

Caso todos os parâmetros anteriores se encontrem conforme a fatura ou guia de remessa, é terminada a receção da encomenda. É ainda garantido que as reservas de produtos se encontram como recebidas e são impressas todas as etiquetas necessárias.

Na eventualidade de algum produto ter sido faturado, mas não rececionado, é feita uma reclamação para envio do produto ou nota de crédito. Se, pelo contrário, um produto tiver sido rececionado, mas não faturado, ou se tiver sido detetada alguma anomalia na integridade do produto, este será devolvido. Finalizado o processo, arquiva-se a fatura ou guia de remessa.

### **4.3.Reclamações e devoluções**

A devolução de produtos ocorre na farmácia, normalmente, por não conformidade do produto, no caso de se encontrar danificado ou não conformidade da encomenda quando não foi encomendado, encomendado por engano, o preço de faturação é superior ao espectável ou a quantidade recebida difere da encomendada. Os produtos são ainda devolvidos quando se encontram próximos do término do prazo de validade ou quando existe um pedido de recolha por parte das autoridades competentes.

Para proceder a uma devolução cria-se uma nota de devolução no *Sifarma2000*, identificando-se o fornecedor, os produtos em questão, o número da fatura original, o preço faturado e o motivo de devolução. É depois emitida uma nota de devolução em triplicado, que deverão ser datadas, assinadas por quem realizou a devolução e carimbadas pela farmácia.

Os produtos a devolver são colocados em caixas ou sacos, acompanhados do original e duplicado. O documento triplicado é datado e assinado pelo distribuidor quando recolhe o produto e posteriormente arquivado na farmácia.

Caso o fornecedor aceite o motivo da devolução e respetivos produtos poderá realizar a regularização da devolução através de um reembolso sob a forma de nota de crédito ou substituindo os produtos. Na eventualidade de o fornecedor recusar a devolução enviará novamente os produtos em causa para a farmácia.

Poderá ocorrer ainda a devolução de produtos ou lotes de produtos ordenada pelo INFARMED I.P., pelos laboratórios ou pelos distribuidores, no caso de se verificar uma anomalia de qualidade ou segurança do medicamento.

Durante o meu estágio foi determinada a recolha e suspensão imediata da comercialização dos lotes de medicamentos descritos no Anexo II da Circular Informativa N.º 143/CD/550.20.001, por ter sido detetada uma impureza na substância ativa da ranitidina. Depois de localizados todos os produtos em causa foi realizada a respetiva devolução.

#### **4.4. Marcação de preços e margens legais**

O Preço de Venda ao Público (PVP) pode ser definido com o preço máximo dos medicamentos para venda ao público no estágio de retalho. Este será composto pelo Preço de Venda ao Armazenista (PVA), pela margem de comercialização do distribuidor grossista e do retalhista, pela taxa de comercialização de medicamentos e pelo Imposto sobre o Valor Acrescentado (IVA) [10].

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006 de 30 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei n.º 20/2013 de 14 de fevereiro, uma das competências do INFARMED I.P. é regular e autorizar os preços dos medicamentos comparticipados pelo Serviço Nacional de Saúde (SNS). Deste modo, o PVP destes produtos encontra-se impresso na embalagem [10], [11].

A Portaria n.º 195-C/2015 de 30 de junho, alterada pela Portaria n.º 154/2016 de 27 de maio, por sua vez alterada pela Portaria n.º 262/2016, de 7 de outubro, por fim revista pela Portaria n.º 290-A/2016 de 15 de novembro, estabelece o procedimento de formação, alteração e revisão dos preços dos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) compartilhados ou não e dos medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), compartilhados, assim como as margens máximas de comercialização dos mesmos [12]–[15].

As portarias supracitadas determinam ainda que o PVP máximo dos medicamentos genéricos deve ser no mínimo 30% inferior, em relação ao PVP máximo do medicamento de referência, com igual dosagem, ou dosagem mais aproximada e na mesma forma farmacêutica [12]–[15]. Caso não existam especialidades farmacêuticas idênticas, ou essencialmente similares, poderá recorrer-se a preços praticados em países de referência de acordo com a Portaria n.º 405-A/2019, de 20 de dezembro [16].

Por fim, os preços dos produtos de venda livre são atribuídos pela farmácia consoante o IVA, margem de lucro espectável e possível concorrência de mercado.

#### **4.5. Armazenamento**

O armazenamento de medicamentos e produtos de saúde é regido por dois princípios. No caso de dois produtos terem a mesma validade segue-se o princípio de “*first-in, first-out*”, em que o produto já existente na farmácia, com a mesma validade, deve ser dispensado primeiro e pelo princípio de “*first-expire, first-out*”, ou seja, os produtos com validade mais reduzida são colocados de modo a serem dispensados primeiro.

Os produtos termolábeis são armazenados por ordem alfabética no frigorífico destinado para o efeito.

O principal local de armazenamento de MSRM e alguns MNSRM na farmácia é o sistema automático de dispensa de medicamentos (Rowa®). Este sistema organiza os produtos de modo a otimizar o espaço dentro do mesmo e procede à dispensa dos produtos de validade mais reduzida primeiro.

Atrás do balcão de atendimento existem lineares que contêm MNSRM organizados por categorias ou patologias e, no restante espaço da farmácia, existem lineares dispostos por categorias com outros produtos de saúde e dispositivos médicos.

Os produtos com uma reserva associada são dispostos em prateleiras no *backoffice*, separadas como “Reservas Pagas” e “Reservas Não Pagas”, organizadas por número de reserva.

#### **4.6.Gestão de prazos de validade**

Mensalmente é emitida uma listagem de produtos, cuja validade termina no prazo de três meses, existentes nos lineares da farmácia e no robot, recorrendo ao sistema *Sifarma2000*.

Depois de emitida procede-se à verificação física de todos os produtos, analisando-se a validade e número de produtos que se encontram realmente perto do *terminus* da validade. Estes produtos são reunidos e armazenados numa prateleira específica. No caso de MNSRM estes podem ser sinalizados, para que tenham prioridade de dispensa, ou sejam criadas estratégias de *marketing* para aumentar a sua venda.

Caso existam produtos cuja validade seja superior à referida na listagem, deve proceder-se à atualização das validades e quantidades reais.

#### **4.7.Controlo de temperatura e humidade**

As condições de iluminação, temperatura e humidade das zonas de armazenamento devem respeitar as exigências específicas dos medicamentos, ou de outros produtos farmacêuticos, tal como descrito pelas Boas Práticas Farmacêuticas (BPF) para Farmácia Comunitária [1].

O frigorífico deverá apresentar uma temperatura mais ou menos constante entre os 2°C e os 8°C, podendo existir oscilações nos valores, resultantes da abertura do mesmo para retirar ou armazenar produtos. Este deverá ainda ter uma humidade compreendida entre os 80 e 100%.

As restantes zonas da farmácia deverão registar temperaturas entre os 15 e os 25°C, com valores de humidade inferior a 60%, sendo que as áreas de armazenamento de medicamentos não deverão ter incidência de luz solar direta.

Para garantir que estas condições são mantidas a farmácia dispõe de termohigrômetros dispostos em pontos específicos da farmácia, nomeadamente no *robot*, no frigorífico, na zona do *backoffice* e na zona de atendimento ao público.

A farmacêutica responsável por este controlo descarrega os registos de cada aparelho para o computador e analisa os gráficos resultantes, registando as conformidades ou não conformidades, no caso de ser detetado um desvio fora do padronizado e justificando as mesmas sempre que a causa do desvio seja provável ou conhecida.

## **5. Interação farmacêutico-utente**

A farmácia exerce cada vez mais um papel fundamental na prestação de cuidados de saúde, sendo muitas vezes o primeiro local a que as pessoas recorrem, antes de se dirigirem aos serviços de cuidados primários ou secundários e após consulta médica, antes de iniciarem a terapêutica. Por este motivo, o farmacêutico assume uma grande responsabilidade para com o bem-estar e saúde dos utentes, sendo regido por um dever ético de exercer, com a maior diligência, a profissão farmacêutica [17].

O atendimento nas farmácias do grupo Holon é um atendimento padronizado que permite a personalização, tendo em conta cada utente e o tipo de dispensa. Antes de mais deverá existir uma aproximação com o cliente e uma boa comunicação, recorrendo a perguntas abertas que permitam a obtenção de informação clara e esclarecida sobre a situação que motivou a ida à farmácia.

A dispensa de medicamentos apenas poderá ocorrer depois de o farmacêutico realizar uma validação farmacoterapêutica da medicação prescrita ou aconselhar medicamentos em regime de automedicação [1].

Na cedência dos produtos, o farmacêutico faculta toda a informação indispensável para o uso correto dos medicamentos, nomeadamente, a posologia, modo de administração ou utilização, duração do tratamento, possíveis efeitos adversos mais comuns e questiona relativamente a possíveis interações. Esta informação deverá ser apresentada oralmente e reforçada recorrendo a pictogramas, etiquetas com informação, ou folhetos informativos [1].

Em populações especiais como pediatria, geriatria, grávidas e mulheres a amamentar é fundamental informar o doente ou cuidador sobre possíveis interações medicamentosas, cálculo de doses e posologias.

Durante o meu estágio constatei que um bom atendimento promove uma relação de confiança com o utente, incentiva o mesmo a regressar e a expor todos os problemas associados à medicação, aumentando a possibilidade de deteção de potenciais erros de toma, duplicação de substâncias ativas e efeitos adversos.

No início do meu estágio realizei uma formação sobre como realizar um bom atendimento que se mostrou fundamental quando após um período de aproximadamente um mês de observação me foi permitido realizar atendimentos sob supervisão e com aconselhamento de um farmacêutico.

## **6. Dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde**

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, um medicamento poderá ser definido como “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” [11].

Os medicamentos podem ser divididos em dois grupos, tendo em conta o tipo de dispensa, os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) e os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM).

Os medicamentos podem ainda ser classificados como medicamentos de marca ou como medicamentos genéricos. O medicamento de marca é aquele que foi autorizado com base em documentação completa, incluindo resultados de ensaios farmacêuticos, pré-clínicos e clínicos. Por outro lado, o medicamento genérico é aquele que apresenta a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência foi demonstrada por estudos de biodisponibilidade [11]. As farmácias deverão ter em *stock* no mínimo três dos cinco medicamentos genéricos mais baratos de cada grupo homogêneo [18].

## **6.1. Medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM)**

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, os medicamentos são sujeitos a receita médica quando podem constituir um potencial risco para a saúde do doente se utilizados sem vigilância médica, ou se utilizados para fins diferentes daquele a que se destinam, ou ainda, se contiverem substâncias cuja atividade ainda não se encontra bem descrita [11].

Para efetuar a dispensa deste tipo de medicamentos é necessária a apresentação de uma prescrição médica que deverá ser eletrónica ou, em situações excecionais, poderá ser manual.

As receitas eletrónicas poderão ser Receitas Eletrónicas Materializadas (REM), ou Receitas Eletrónicas Desmaterializadas (RED) que são enviadas por mensagem de telemóvel ao utente, ou disponibilizadas na aplicação móvel *MySNS Carteira* ou no portal SNS. Estas receitas apresentam a vantagem de poderem ser utilizadas para adquirir os medicamentos em vários momentos [18].

Durante a dispensa de uma Receita Eletrónica ou Manual deverá proceder-se à análise e identificação do número único da receita, local de prescrição, dados do doente, entidade financeira responsável, dados do médico prescriptor e assinatura do mesmo. Deverá ainda verificar-se a data de validade e autenticidade da prescrição, existência de despacho de regime especial de participação e identificação dos medicamentos por Denominação Comum Internacional (DCI), forma farmacêutica, posologia, modo de administração e duração do tratamento [18].

Em qualquer receita a prescrição deve ser feita por DCI do fármaco, incluindo a dosagem, forma farmacêutica, quantidade e posologia. A prescrição poderá excecionalmente incluir a denominação comercial, quando a substância ativa não possuir genérico participado, ou quando só exista o medicamento original, no caso de existir uma justificação técnica do prescriptor por o medicamento ser de margem ou índice terapêutico estreito, por reação adversa previamente reportada a outros medicamentos com a mesma substância ativa, ou caso se trate de uma prescrição destinada a assegurar a continuidade de um tratamento com duração superior a 28 dias. No caso da última exceção o utente poderá optar por outro medicamento similar desde que o preço seja inferior [19].

As REM poderão ser renováveis caso contenham medicamentos destinados a tratamentos de longa duração, apresentando assim até 3 vias. Esta prescrição tem 30 dias de validade após a sua emissão, sendo que em cada receita podem ser prescritos até 4 medicamentos com substâncias diferentes, num total de 4 embalagens por receita e num máximo de 2 embalagens por medicamento [18].

Nas RED cada linha de prescrição pode conter um medicamento com um máximo de 2 embalagens, com uma validade de 30 dias, ou 6 embalagens, no caso de tratamentos de longa duração, com validade de 6 meses [18].

Para apresentações sob a forma de embalagem unitária poderá ser prescrito por Receita Eletrónica um máximo de 4 embalagens do mesmo medicamento ou 12 embalagens, no caso de tratamentos prolongados [18].

As Receitas Manuais apenas podem ser prescritas no caso de falência informática, inadaptação do prescriptor, prescrição ao domicílio, ou outras situações até um máximo de 40 receitas por mês, por médico prescriptor, tal como previsto pela Portaria n.º 224/2015, de 27 de julho [19].

Nas Receitas Manuais poderão ser indicados 4 medicamentos distintos, com 1 embalagem de cada, ou até 2 embalagens por medicamento, não podendo exceder as 4 embalagens por receita. Este tipo de receita tem a desvantagem de todos os produtos nela contida terem de ser dispensados num único momento, pois terá de ser arquivada na farmácia para efeitos de comparticipação [18].

Independentemente do tipo de receita, o farmacêutico deverá realizar uma avaliação fármaco-terapêutica e, para isso, deverá inquirir o utente sobre a situação clínica que motivou a consulta e a consequente prescrição médica, assim como, terapêuticas ou patologias concomitantes. O farmacêutico deverá garantir que o medicamento prescrito é o mais indicado para o tratamento, tendo em conta a adequação da forma farmacêutica, interações, contraindicações e posologia. Caso seja necessário esclarecimento, ou exista alguma irregularidade na prescrição, o farmacêutico deverá contactar o médico prescriptor [18].

Durante o meu estágio pude realizar a dispensa de MSRM pelos 3 métodos anteriormente descritos. As Receitas Manuais são atualmente o método de prescrição menos frequente,

diminuindo assim os erros associados a interpretação de caligrafia de nomes de fármacos ou dosagens.

Realizei ainda a dispensa de receitas provenientes de seguradoras, prescritas em modelos próprios para o efeito, para as quais é necessário indicar o regime de comparticipação e garantir a validade do cartão de associado. Uma cópia desta receita deverá ser arquivada na farmácia após impressão do cartão no verso para ser enviada para a ANF.

### **6.1.1.Regimes de comparticipação**

O Estado português poderá participar a aquisição dos medicamentos prescritos aos beneficiários do SNS e de outros subsistemas públicos de saúde, esta comparticipação, é estabelecida como uma percentagem do PVP do medicamento e varia dependendo do regime de comparticipação do organismo em causa [10]. Com um regime de comparticipação o utente apenas pagará parte do PVP, sendo o restante pago pela entidade comparticipante.

Podem ser estabelecidos regimes especiais de comparticipação para determinados grupos e subgrupos fármaco-terapêuticos, tendo por base o rendimento dos utentes, prevalência de certas patologias ou grupos especiais de doentes, determinadas indicações terapêuticas e objetivos de saúde pública [10]. A Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de junho estabelece os grupos e subgrupos fármaco-terapêuticos e os respetivos escalões de comparticipação [20].

Sempre que o utente seja abrangido por um caso de complementaridade de comparticipação, este deverá apresentar o cartão de beneficiário válido, para que seja registado o número do cartão no *Sifarma2000*, e fotocopiado o cartão juntamente com a receita e talão de faturação, que deverá ser assinada pelo utente. Esta fotocópia será posteriormente enviada para a ANF.

Na Covilhã é muito frequente o regime de comparticipação de medicamentos aplicável aos pensionistas que tenham descontado até 1984 para o Fundo Especial de Segurança Social do Pessoal da Indústria de Lanifícios. Este regime é regido pela Portaria n.º 154/2018, de 28 de maio, que altera a Portaria n.º 287/2016, de 10 de novembro, e que determina a comparticipação de 100% do PVP do medicamento [21], [22].

Durante o meu estágio constatei que o responsável pela maioria das comparticipações é o SNS, em regime normal e em regime especial para pensionistas. Contactei ainda com

regimes de participação especial para determinadas patologias, diplomas legais, subsistemas de participação dos CTT, Medis, Multicare e o Serviço de Assistência Médico Social (SAMS) do Sindicato dos Bancários.

## **6.2. Medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM)**

Os MNSRM podem ser adquiridos, tal como o nome indica, sem apresentação de uma receita médica, no entanto, estes medicamentos devem ser utilizados de acordo com as indicações terapêuticas.

A automedicação é considerada como a prática associada à utilização de MNSRM, quer por iniciativa própria dos doentes, quer por aconselhamento farmacêutico, de forma responsável para alívio e tratamento de episódios pouco graves e passageiros.

É importante que a prática de automedicação não seja banalizada e que seja precedida de aconselhamento farmacêutico, uma vez que esta poderá mascarar sintomas, impedir futuros diagnósticos, favorecer a ocorrência de reações adversas e interações farmacológicas. Tendo isto em conta, as situações passíveis de automedicação encontram-se descritas no anexo do Despacho n.º 17690/2007, de 23 de julho [23].

Dentro desta categoria de medicamentos podem ainda ser distinguidos os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia (MNSRM-EF). Estes medicamentos apenas podem ser cedidos em farmácias, sob intervenção farmacêutica, caso a sua DCI conste na lista do Anexo I do Regulamento dos Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia [24], [25].

O farmacêutico é detentor de conhecimentos que permitem a reunião de informação relevante para avaliação do problema de saúde e aconselhamento das medidas mais corretas, quer seja o encaminhamento para o médico, quer seja a utilização de medidas farmacológicas ou não farmacológicas.

Durante o meu estágio procedi à dispensa de MNSRM e MNSRM-EF, sob supervisão farmacêutica. A maioria das situações foram referentes a sintomas de tosse seca e/ou produtiva, dores de garganta, sintomas de constipação e gripe, afeções gastrointestinais como diarreia e obstipação, e ainda alguns casos de dores músculo-esqueléticas, ansiedade e insónia, herpes labial e hemorroidas.

O grupo Holon disponibiliza protocolos de aconselhamento que se mostraram extremamente valiosos durante o aconselhamento. Estes indicam que para avaliação do doente é importante colocar determinadas questões, tais como, quais os sintomas, há quanto tempo persistem e grau de intensidade, se já tomou alguma medida terapêutica, se tem alguma doença para a qual realize tratamento ou se faz habitualmente alguma medicação. No caso das mulheres em idade fértil é fundamental determinar se esta está grávida ou a amamentar.

Após análise da situação, procedia ao aconselhamento de medidas farmacológicas e não farmacológicas, explicando a posologia da medicação dispensada e indicando que em caso de pioria ou alteração dos sintomas deveria procurar aconselhamento médico.

### **6.3. Medicamentos sujeitos a legislação especial**

#### **6.3.1. Medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (MEP)**

Os Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEP) são compostos por substâncias que atuam diretamente sobre o sistema nervoso central, podendo atuar como depressores ou estimulantes e com consequências em todo o organismo.

Devido à sua utilização ilícita e associação a criminalidade e consumo de drogas, estas substâncias são alvo de controlo e sujeitos a lei especial.

O Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro, alterado pela vigésima terceira vez pela Lei n.º 8/2019, de 1 de fevereiro determina que para dispensa destas substâncias ao público é necessária a apresentação de uma receita médica especial, podendo o farmacêutico recusar a cedência destes medicamentos caso a receita não cumpra os devidos requisitos [26], [27].

No caso de Receita Manual estes medicamentos têm de ser prescritos isoladamente, na Receita Eletrónica não há esta necessidade.

Durante o ato da dispensa o adquirente deve apresentar um documento de identificação pessoal. Ao processar a receita com o *Sifarma2000* é emitido um alerta e remete para um menu de preenchimento obrigatório. O farmacêutico deve registar o nome do doente, data de nascimento, número e data de validade do documento de identificação pessoal e os mesmos dados referentes à pessoa a quem os medicamentos são dispensados. No caso de prescrições manuais o utente ou o seu representante devem assinar o verso da receita [18].

No final do atendimento é emitido um documento com o número de registo do MEP que deverá ser assinado pelo requerente e arquivado na farmácia por um período de 3 anos [18].

### **6.3.2. Dispensa de produtos ao abrigo de protocolo específico**

O Programa Nacional de Prevenção da Diabetes Mellitus foi criado para permitir uma maior adesão à prevenção e autocontrolo da Diabetes Mellitus e permitir a acessibilidade de reagentes para determinação de glicémia, agulhas, seringas e lancetas a todas as pessoas com diabetes [28].

O valor máximo da comparticipação na aquisição de tiras de teste para pessoas com diabetes deverá corresponder a 85% do PVP definido no artigo 3º da Portaria n.º 222/2014, de 4 de novembro. No caso das agulhas, seringas e lancetas o valor máximo de comparticipação será de 100% do PVP estabelecido no artigo anteriormente referido [28].

Durante o meu estágio dispensei vários produtos ao abrigo deste protocolo, que demonstra ser uma medida crucial para aumento da análise diária dos valores de glicémia e conseqüente melhoria da adesão à terapêutica.

## **7. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde**

### **7.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene**

Segundo o Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de Setembro, um produto cosmético pode ser definido como qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais [29].

Apesar destes produtos serem de venda livre, devem ser aconselhados por um farmacêutico, que poderá analisar a situação e identificar a necessidade do utente, quer patológica, quer cosmética e o produto mais adequado, ou poderá referenciar para consulta médica.

Na farmácia onde estagiei os produtos encontram-se dispostos em lineares na zona de entrada da farmácia, por marcas e gamas. As principais marcas vendidas são A-Derma®, Bioderma®, Uriage®, Avène®, Lierac®, Filorga®, Ducray®, Klorane® e René®.

Durante o meu estágio foi-me solicitado aconselhamento para situações como queda de cabelo, onde tive de perceber se esta seria crónica ou difusa, onde aconselhei champôs anti-queda de cabelo, ampolas e suplementos anti-queda. Prestei ainda aconselhamento em casos de caspa, onde tive de determinar se esta seria oleosa ou seca e aconselhar produtos de tratamento intensivo e posteriormente champôs de manutenção.

Pude ainda realizar vários aconselhamentos de produtos para pele atópica, pele acneica, rosácea e produtos antirrugas e anti-manchas, entre outros produtos de dermofarmácia e dermocosmética.

Esta farmácia possui uma grande oferta de produtos de higiene íntima, desde gel para higiene íntima diária, soluções antissépticas, gel hidratante íntimo, entre outros produtos de marcas como ISDIN®, Lactacyd® e Saugella®.

Por último a FHC dispõe de uma vasta secção de produtos de higiene oral, onde se realçam marcas como a Elgydium®, Paradontax®, Elugel® e Bexident®. Realizei múltiplas vezes o aconselhamento e dispensa de pastas para fixação de próteses, elixires, pastas dentárias, escovilhões e escovas de limpeza. Procedi ainda ao aconselhamento de produtos para tratamento de aftas.

## **7.2. Produtos para alimentação especial e dietética**

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que os bebés sejam, sempre que possível, exclusivamente amamentados até aos 6 meses de vida e continuamente até aos 2 anos, com introdução de alimentos complementares [30]. Sempre que o aleitamento materno não seja possível, existem no mercado produtos dietéticos infantis adaptados para suprimir as necessidades do bebé. Estes produtos são desenvolvidos para se adaptarem às exigências nutricionais das crianças, que aumentam com o crescimento.

Por este motivo, existem fórmulas para lactentes, para os primeiros meses de vida e leites de transição, para crianças com idade superior a 6 meses. Existem ainda leites para bebés prematuros, leites anti-regurgitação, sem lactose, hipoalergénicos e anti-obstipantes. Para

além disto existe uma grande variedade de papas preparadas ou em pó. A farmácia possui produtos das marcas Novalac® , Aptamil® e Nestlé®.

Os produtos para alimentação especial destinam-se a colmatar as deficiências nutricionais de idosos mais frágeis e desnutrição associada a determinadas patologias. Estes produtos poderão ser hiperproteicos de baixo índice glicémico no caso de diabéticos, hipercalóricos no caso de patologias que comprometam a ingestão alimentar ou hiperproteicos e hipercalóricos em caso de anorexia e desnutrição associada a tratamentos oncológicos. Existem ainda gamas de produtos específicos para situações de dificuldade de mastigação e/ou deglutição. Na farmácia onde estagiei existe uma vasta seleção de produtos da Nestle Health Science®, nomeadamente da gama Resource e Meritene.

Durante o meu estágio aconselhei produtos líquidos para alimentação especial em situações de dieta de preparação intestinal para realização de colonoscopia, pois, esta implica dieta líquida no dia anterior ao exame e, deste modo, os utentes sentiriam uma maior saciedade e menor sensação de fraqueza.

### **7.3. Fitoterapia e suplementos alimentares**

Um medicamento à base de plantas pode ser definido, segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, como qualquer medicamento que contenha exclusivamente substâncias ativas derivadas de plantas ou preparações à base de plantas [11].

Os produtos à base de plantas mais solicitados na farmácia durante o meu estágio foram produtos contendo valeriana, devido à ação sedativa e hipnótica, para pessoas com dificuldade em adormecer e produtos à base de arando e uva ursina, utilizados como primeira linha no tratamento de infeções urinárias.

Segundo o Decreto-Lei n.º 136/2003, de 28 de junho, os suplementos alimentares são géneros alimentícios constituídos por fontes concentradas de nutrientes, ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico que se destinam a complementar e/ou suplementar o regime alimentar normal, não devendo ser utilizados como substitutos de uma dieta variada [31]. É importante salientar que os suplementos alimentares não são medicamentos, e como tal, são regidos pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e não pelo INFARMED, I.P.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de aconselhar produtos auxiliares da capacidade cognitiva e concentração, de marcas como Centrum® e MentalAction® e suplementos vitamínicos e minerais diversos.

É importante realçar que o aconselhamento destes produtos deve ter em conta o historial medicamentoso do utente. O farmacêutico deverá realizar um levantamento de toda a medicação regular, outros suplementos, produtos à base de plantas e produtos homeopáticos que a pessoa possa estar a tomar, avaliando o risco de potenciar interações e efeitos adversos e só depois proceder ao aconselhamento e dispensa.

#### **7.4. Produtos e medicamentos de uso veterinário (MUV)**

Segundo o Decreto-Lei n.º 148/2008, de 29 de julho, um Medicamento de Uso Veterinário (MUV) é toda a substância ou associação de substâncias que possua propriedades curativas, preventivas, ou de diagnóstico, utilizada ou administrada num animal, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica e que restaure, corrija ou modifique as funções fisiológicas dos animais [32].

No aconselhamento destes produtos o farmacêutico deverá inquirir sobre o tipo de animal, idade e peso do mesmo, proceder à explicação de como administrar o medicamento e cuidados a ter. Durante o meu estágio procedi à dispensa de MUV, principalmente para animais de companhia de pequeno porte, tais como cães e gatos, sendo os produtos mais solicitados desparasitantes internos e externos e pílulas contraceptivas. No caso de solicitação de desparasitantes internos de animais que habitassem em residências procedi ainda ao aconselhamento de desparasitantes internos de uso humano para os respetivos donos como medida profilática.

#### **7.5. Dispositivos médicos**

Tendo por base o Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho, um Dispositivo Médico é qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, que seja utilizado em seres humanos para fins de diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença, lesão ou deficiência física, para estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico, ou para controlo da concepção. Os dispositivos são integrados nas classes I (baixo risco), IIa (baixo médio risco), IIb (alto médio risco) e III (alto risco), tendo em conta o grau

de invasibilidade, duração do contacto, zona anatómica de aplicação e vulnerabilidade da mesma e atendendo a potenciais riscos [33].

Durante o estágio contactei diariamente com uma grande variedade de dispositivos médicos, nomeadamente termómetros, tensiómetros, seringas com e sem agulha, compressas diversas, luvas, preservativos, material ortopédico, ligaduras de compressão, palmilhas e outros dispositivos de correção de pés e marcha. Realço a importância de um bom aconselhamento farmacêutico para garantir que o produto é o correto para a situação e, no caso de aconselhamento de produtos ortopédicos e de compressão, deve ainda garantir que o produto tem o tamanho e compressão adequada para que não se comprometa a circulação ou movimento.

## **8. Medicamentos manipulados e preparações extemporâneas**

Os medicamentos manipulados podem ser divididos em preparações officinais e fórmulas magistrais. Uma preparação officinal é definida como todo o medicamento preparado na farmácia segundo indicações de uma Farmacopeia ou Formulário que será dispensado na farmácia a um determinado doente. Uma fórmula magistral será todo o medicamento preparado numa farmácia segundo uma receita médica e destinado a um determinado doente [34].

A preparação de medicamentos manipulados é cada vez menos praticada nas farmácias comunitárias. Por este motivo, a farmácia onde estagiei não efetua preparações de medicamentos manipulados, sendo as prescrições destes medicamentos remetidas para a Farmácia Diamantino no Fundão, reduzindo assim os custos associados à manutenção dos equipamentos e matérias primas.

Durante o meu período de estágio não foram solicitados medicamentos manipulados na FHC e, como tal, não tive a oportunidade de acompanhar a preparação dos mesmos.

Relativamente às preparações extemporâneas tive a oportunidade de preparar com alguma regularidade antibióticos de uso pediátrico, que se encontram em forma de pó para suspensão oral por questões de estabilidade. Para reconstituir um pó para suspensão oral é importante agitar bem o frasco para soltar as partículas de pó aderidas ao fundo do frasco, depois disto adiciona-se água purificada em frações, agitando-se entre adições, até perfazer

o volume indicado pelo frasco. No final deve homogeneizar-se bem a suspensão e garantir que não existe separação de fases.

Depois de reconstituída a preparação deverá ser dispensada ao utente realçando-se as condições de conservação, a necessidade de agitar antes de usar e a estabilidade após reconstituição.

## **9.Outros cuidados de saúde prestados na farmácia**

O Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto, determina que as farmácias podem prestar serviços farmacêuticos de promoção de saúde e bem-estar dos utentes em termos a definir por portaria [3], [8]. A Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro, alterada pela Portaria n.º 97/2018, de 9 de abril, prevê os serviços farmacêuticos que podem ser prestados pelas farmácias [35], [36].

As farmácias podem prestar apoio domiciliário, administrar primeiros socorros, medicamentos e vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação (PNV). Podem ainda ter consultas de nutrição, programas de adesão à terapêutica, Preparação Individualizada de Medicação e programas de educação, realizar testes rápidos para rastreio de infeções, prestar serviços simples de enfermagem e cuidados de nível I na prevenção e tratamento do pé diabético [35], [36].

A FHC disponibiliza o serviço *Check Saúde*, Serviço de Preparação individualizada de Medicação (PIM), de Administração de Vacinas e injetáveis, Serviço de Consulta Farmacêutica, Serviço de Nutrição, Serviço de Pé-Diabético, Serviço de Podologia, Serviço de Dermofarmácia e Serviço de Reabilitação Auditiva.

### **9.1.Serviço *check* saúde**

O Serviço de *Check Saúde* consiste na medição de parâmetros bioquímicos como o colesterol total e HDL, triglicérideos, glicémia capilar e ácido úrico e parâmetros fisiológicos como a pressão arterial e medidas antropométricas.

As medições do *Check Saúde* são realizadas no gabinete de atendimento individualizado para garantir um ambiente calmo e privado, que permita não só efetuar as medições, mas

também inquirir o utente sobre patologias e terapêuticas que possam ser relevantes e aconselhar medidas não farmacológicas complementares à terapêutica.

Durante o meu estágio procedi à prestação deste serviço em inúmeras ocasiões, tendo denotado uma maior adesão da população mais idosa. Este serviço demonstra-se fundamental na avaliação do estado de saúde dos utentes, permitindo identificar precocemente patologias não diagnosticadas e referenciar para consulta médica. Este serviço permite ainda ao farmacêutico monitorizar a efetividade da terapêutica.

## **9.2. Serviço de preparação individualizada de medicação (PIM)**

A OMS estima que 50% dos cidadãos, em todo o mundo, não tomam corretamente os seus medicamentos [1]. A Preparação Individualizada de Medicação (PIM) permite ao farmacêutico fazer a organização da medicação sólida oral do doente, auxiliando na gestão da medicação e minimizando os erros e esquecimentos associados à toma de medicamentos.

O serviço de PIM pode ser prestado para tomas semanais, quinzenais ou mensais, consoante a disponibilidade e vontade do doente ou respetivo cuidador. Para que se garanta a estabilidade e segurança dos medicamentos não deve ser excedido o período de 4 semanas de cada PIM, uma vez que é necessário retirar os medicamentos das embalagens originais e por vezes fracionar alguns medicamentos.

Este serviço consiste na utilização de uma moldura com forma de livro que contém um *blister*, composto por alvéolos cúbicos que são selados a frio, dentro dos quais são colocadas formas farmacêuticas orais sólidas. No exterior da moldura é identificado o nome do doente, a data de nascimento, a farmácia e o farmacêutico que preparou o PIM, a data de início e de fim. No interior da moldura encontra-se identificada a terapêutica dentro do *blister*, com nome, dosagem do medicamento e posologia, observações sobre a medicação e recomendações de toma. O *blister* propriamente dito é composto por linhas identificadas com os dias da semana e colunas com horário de toma dividido em jejum, pequeno-almoço, almoço, jantar e deitar.

Ao iniciar o serviço é feita uma consulta farmacêutica para perceber que medicamentos o doente toma, quem foi o médico prescritor, patologias, reações adversas anteriores e possíveis interações. Durante a preparação o farmacêutico deve consultar o histórico e

prescrições do doente e realizar uma venda da medicação a utilizar. As embalagens são armazenadas em local próprio na farmácia, em saco identificado com o nome do doente, para realizar os vários serviços de PIM que esse doente possa necessitar. São registados informaticamente os lotes e validades dos medicamentos usados em cada PIM.

Depois disto o farmacêutico regista na moldura do PIM toda a medicação a incluir, respetivas dosagens e posologias e, preenche os campos de informação anteriormente mencionados. Por fim, identifica cada coluna de alvéolos consoante o horário de toma necessário e aplica carimbos com pictogramas, caso seja necessário.

Posto isto, procede de forma sequencial ao desblisteramento da embalagem original e colocação das formas farmacêuticas nos alvéolos correspondentes. Terminado o processo, o farmacêutico procede a uma dupla verificação da medicação constante no *blister* e sela-o retirando o involucro autocolante.

Durante o meu estágio procedi à realização deste serviço para períodos semanais e quinzenais sob supervisão e validação farmacêutica.

### **9.3. Serviço de administração de vacinas e injetáveis**

A administração de medicamentos injetáveis e vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação é realizada na farmácia onde estagiei por farmacêuticas com formação reconhecida pela Ordem dos Farmacêuticos, nomeadamente pela Dr.<sup>a</sup> Patrícia Amaral e Dr.<sup>a</sup> Patrícia Pais [5], [6].

Para proceder à administração de um injetável deve ser registado no sistema *Sifarma2000* o nome do utente, data de nascimento, medicamentos ou outras vacinas administradas, o lote e validade do injetável, via de administração e identificação do administrador. Depois deverá ser preenchido um questionário com a colaboração do utente onde constem efeitos secundários que já tenha experimentado em situações anteriores, medicação e vacinas recentemente administradas, entre outras informações.

Depois disto o utente é encaminhado para o gabinete de injetáveis que contem todos os meios necessários para resposta em caso de reação anafilática, tais como caneta de adrenalina e oxigénio [5].

Como realizei o meu estágio na farmácia entre setembro e final de novembro assisti a inúmeras administrações de vacinas tetravalentes inativadas contra o vírus da gripe, Influvac Tetra® e Vaxigrip Tetra®.

#### **9.4.Serviço de consulta farmacêutica**

A intervenção farmacêutica é uma extensão do atendimento e deve ser realizada e aconselhada sempre que as situações requeiram um acompanhamento personalizado com avaliação da evolução por parte de um farmacêutico. Dentro da intervenção farmacêutica pode ser destacada a consulta farmacêutica ou seguimento farmacoterapêutico. Este serviço é destinado a todas as pessoas tenham problemas de saúde, doenças crónicas, que tomem múltiplos medicamentos ou tenham dúvidas à cerca da medicação.

Durante a consulta farmacêutica é analisada toda a farmacoterapia e a sua adequação às patologias do doente, deste modo é possível a deteção, correção e prevenção de problemas relacionados com a medicação tais como duplicações, uso incorreto de dispositivos ou falta de adesão à terapêutica. Durante o meu estágio não tive a oportunidade de assistir à prestação deste serviço.

#### **9.5.Serviço de nutrição, podologia, pé diabético, dermofarmácia e reabilitação auditiva**

A Farmácia onde estagiei disponibiliza aos seus utentes serviços prestados por profissionais de saúde com formação noutras áreas. Estes serviços representam uma mais-valia para a farmácia e são cada vez mais solicitados pelos utentes, que cada vez menos veem a farmácia como um local de venda exclusiva de medicamentos, mas sim como um espaço de promoção da saúde.

O serviço de Nutrição é um dos serviços mais requisitados sendo realizado duas a três vezes por semana. Este serviço é maioritariamente solicitado para perda de peso e em situações onde a nutrição pode influenciar o curso de uma patologia.

O serviço de Podologia é realizado aproximadamente de quinze em quinze dias por um podologista, tratando principalmente situações de unhas encravadas, micoses, calos e correção plantar e dos dedos.

O serviço de Pé-Diabético é efetuado mensalmente por um enfermeiro, sendo que este serviço é fundamental na prevenção de complicações decorrentes da neuropatia diabética.

O serviço de Dermofarmácia é prestado mensalmente por uma farmacêutica que avalia o tipo de pele e possíveis patologias dermatológicas. Depois da avaliação aconselha os produtos mais adequados e cuidados a ter no dia-a-dia.

O Serviço de Reabilitação Auditiva é realizado por um audiologista que, através de testes específicos de rastreio, realiza uma avaliação da perda auditiva e posterior aconselhamento de soluções de correção adequadas. O audiologista realiza ainda a manutenção e limpeza de aparelhos auditivos.

## **10. Farmacovigilância**

A farmacovigilância é a atividade de monitorização dos fármacos após comercialização e das possíveis interações, efeitos indesejáveis e reações adversas aos medicamentos (RAM) junto dos utentes.

Em Portugal existe um Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF) que consolida toda a informação adquirida a nível nacional, para que possa ser analisada e processada com a maior celeridade. O SNF é coordenado pelo INFARMED I.P. [37]. Caso se detete uma RAM esta deverá ser notificada no Portal RAM [38].

Apesar de não ter assistido a nenhuma reportagem de RAM na farmácia onde estagiei, encontrava-se a decorrer um estudo promovido por uma empresa que tinha como finalidade monitorizar a resposta e efeitos decorrentes da utilização de um fármaco para patologia cardíaca. Para tal, as farmacêuticas responsáveis por este estudo realizavam consultas farmacêuticas onde mediam parâmetros relevantes ao controlo da patologia e obtinham informações adicionais através do preenchimento de um questionário.

## **11. Reciclagem de medicamentos**

Os medicamentos não utilizados ou fora de prazo de validade e as respetivas embalagens devem ser considerados como resíduos especiais e, como tal, devem ser recolhidos e processados em locais de tratamento adequados para o efeito. A VALORMED é uma sociedade sem fins lucrativos que assume a responsabilidade pela gestão destes resíduos [39].

A VALORMED disponibiliza às farmácias contentores próprios exclusivos para a recolha de medicamentos e embalagens vazias, excluindo objetos cortantes ou perfurantes como agulhas e lancetas. Os utentes apenas têm de trazer até à farmácia os medicamentos que já não utilizem ou que se encontrem fora da validade e coloca-los nestes contentores.

Quando o contentor atinge a capacidade máxima este é selado e é imputado no *Sifarma2000* o lote e número de série do contentor e é alertada uma entidade para recolha do mesmo, neste caso a OCP.

## **12. Receituário e faturação**

Para que a farmácia possa receber a comparticipação associada a uma receita é necessário realizar o devido processamento do receituário.

No caso das receitas em papel, tanto Receitas Manuais como REM, o processo não é informatizado, e como tal, é necessário proceder à conferência das receitas dispensadas. Estas devem ser sujeitas a dupla verificação diariamente para detetar o mais precocemente possíveis eventuais erros.

Nas Receitas Manuais deverá ser verificada a identificação, assinatura e vinheta do prescriptor, o local de prescrição, nome do utente, organismo e número de beneficiário e data. Deverá ainda ser garantido que as receitas não contêm rasuras. Depois disto deve ser confirmado se todos os medicamentos cedidos correspondem aos prescritos e se são cumpridas as especificações legais referentes ao número de embalagens e dimensão das mesmas. É ainda verificada a assinatura do utente, do farmacêutico, data de dispensa e carimbo da farmácia.

No caso das REM são verificados os medicamentos dispensados, número da receita, a assinatura do médico, do utente e do farmacêutico, a data da dispensa e carimbo da farmácia.

Depois de conferidas uma primeira vez as receitas são separas pelos respetivos organismos ou planos de comparticipação. Após a segunda conferência as receitas são organizadas por lotes com um máximo de 30 receitas. Quando o lote se encontra completo é emitido um Verbete de Identificação do Lote, rubricado por um farmacêutico, carimbado e anexado às receitas a que diz respeito. Caso exista mais do que um lote deverá ser organizado o conjunto de lotes por organismo e anexado um Resumo Relação de Lotes.

No caso de serem detetados erros na prescrição como rasuras, ausência de assinatura do médico, da Portaria ou Despacho adequado, data no formato incorreto, número de embalagens que excede o preconizado, entre outros, a receita é separada das restantes para que possa ser corrigida. No decorrer do meu estágio observei e colaborei na conferência de receituário, tendo observado alguns destes erros.

No início de cada mês procede-se ao envio das receitas do mês anterior para os respetivos organismos de comparticipação. A documentação a ser enviada deve conter as receitas agrupadas por lotes, os respetivos Verbetes de Identificação de Lote anexados a cada lote, o Resumo de Relação de Lotes, a Fatura e o Guia de Fatura. No caso das receitas referentes ao SNS, estas são enviadas ao Centro de Conferência de Faturas (CCF), pelos CTT - Correios de Portugal.

As receitas referentes a outras entidades são enviadas para a ANF, acompanhadas dos mesmos documentos que as Receitas Manuais, acrescentando-se os recibos de complementaridade, devidamente assinados pelos utentes, anexados à cópia do cartão de beneficiário.

As RED constituem apenas um único lote eletrónico, sendo que o *Sifarma2000* fecha todos os lotes automaticamente à meia-noite do último dia do mês e inicia automaticamente uma nova sequência de lote. É apenas necessário conferir o número de receitas e garantir que se encontram sem erros no organismo de receitas eletrónicas sem erros (97X).

### **13. Projetos na comunidade**

Durante o meu estágio tive a oportunidade de participar em projetos na comunidade extremamente enriquecedores.

Primeiramente pude realizar uma apresentação e exposição oral sobre “Osteoporose, uma doença silenciosa” a idosos no Centro de Atividades no *Sporting Shopping Center* da Covilhã. Este projeto consistiu na exposição de informação simples e de fácil compreensão sobre a Osteoporose, sintomas da patologia, fatores de risco e medidas não farmacológicas a adotar para prevenção da doença, tais como tipos de exercícios mais adequados, alterações na dieta e medidas de prevenção de quedas em casa e na rua.

Acompanhei e participei ativamente no projeto “As Farmácias Holon vão à Escola!”, com o tema “Higiene Oral” na APPACDM da Covilhã e no Colégio Externato Imaculada Conceição.

Este projeto teve como missão explicar ao utentes da APPACDM, e às crianças da pré-escola e ensino primário as funções dos dentes e os cuidados a ter para manter uma correta higiene oral, utilizando jogos e demonstrando a técnica de escovagem.

Colaborei ainda num Rastreio Cardiovascular na Freguesia da Bouça e num Rastreio Nutricional e de Risco de Diabetes organizado em conjunto com o Centro Municipal de Marcha e Corrida da Covilhã.

Por fim participei, no Projeto Abraço de Natal organizado pela Farmácia Pedroso e o MedUBI no Centro de Atividades no *Sporting Shopping Center* da Covilhã, que teve como objetivo trazer alguma alegria e animação aos idosos do Centro e de vários Lares e Residências Sénior da zona.

## **14. Conclusão**

O estágio em farmácia comunitária é, sem dúvida, um complemento fundamental à formação de um futuro farmacêutico e durante o estágio na FHC constatei o quão importante é o papel do farmacêutico no acompanhamento e aconselhamento do utente.

Durante este período tive a oportunidade de consolidar conhecimentos obtidos durante o curso e adquirir novos conhecimentos e valências. Este estágio permitiu melhorar a minha capacidade de comunicação interpessoal e escuta ativa e tornou-me numa pessoa mais empática. O constante desafio nesta farmácia proporcionou-me um ambiente de trabalho aliciante e gratificante.

Aproveito para agradecer a toda a equipa da FHC por me terem acolhido e integrado da melhor maneira possível, por estarem sempre disponíveis para me auxiliar e esclarecer todas as minhas dúvidas. Deixo um agradecimento especial ao Sr. Eugénio por me desafiar todos os dias a ser mais e melhor e à Dr.<sup>a</sup> Raquel Bento e ao Dr. Cristiano Alves por terem oferecido um contributo fundamental e excelente à minha aprendizagem, por me terem acompanhado não só no meu percurso académico, mas também ao longo deste estágio.



## 15. Bibliografia

- [1] Ordem dos Farmacêuticos - Conselho Nacional da Qualidade. Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF). 3a Edição. 2009.
- [2] «Visão | Farmácias Holon». [Em linha]. Disponível em: <https://www.farmaciasholon.pt/quem-somos/visao>. [Acedido: 09-Out-2019].
- [3] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-Lei n.o 307/2007, de 31 de agosto de 2007. Legis Farm Comp. 2007; 1-35.
- [4] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.o 1502/2014, de 3 de julho. Legis Farm Comp. 2014; 1-3.
- [5] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.o 139/CD/2010, de 21 de outubro. Legis Farm Comp. 2010; 1-3.
- [6] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.o 145/CD/2010, de 4 de novembro. Legis Farm Comp. 2010; 1-2.
- [7] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.o 1500/2004, 7 de dezembro. Legis Farm Comp. 2004; 1-2.
- [8] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-Lei n.o 0171/2012, de 1 de agosto de 2012. Legis Farm Comp. 2012; 1-35.
- [9] Ordem dos Farmacêuticos. Linhas de Orientação: Biblioteca de Farmácia. 2006.
- [10] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-lei n.o 97/2015, de 1 de junho. Legis Farm Comp. 2015; 1-25.
- [11] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-Lei n.o 176/2006, de 30 de agosto. Legis Farm Comp. 2006; 1-250.
- [12] Diário da República. Portaria n.o 195-C/2015, de 30 de junho. 2015; 4542-(6)-4542-(11).
- [13] Diário da República. Portaria n.o 154/2016, de 27 de maio. 2016; 1707-1708.

- [14] Diário da República. Portaria n.o 262/2016, de 7 de outubro. 2016; 3514 - 3515.
- [15] Diário da República. Portaria n.o 290-A/2016, de 15 de novembro. 2016; 4048-(2).
- [16] Diário da República. Portaria n.o 405-A/2019, de 20 de setembro. 2019; 8-(2) - 8-(4).
- [17] Ordem dos Farmacêuticos. Código Deontológico dos Farmacêuticos. 1998; 1-9.
- [18] INFARMED I.P. ACSS. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. 2019; 1-42.
- [19] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Portaria n.o 224/2015, de 27 de julho. Legis Farm Comp. 2015; 1-15.
- [20] Diário da República. Portaria n.o 195-D/2015, de 30 de junho. 2015; 4542-(11)-4542-(15).
- [21] Diário da República. Portaria n.o 154/2018, de 28 de maio. 2018; 2302.
- [22] Diário da República. Portaria n.o 287/2016, de 10 de novembro. 2018; 1-2.
- [23] INFARMED I.P.- Gabinete Jurídico e Contencioso. Despacho no. 17690/2007, de 23 de julho. Legis Farm Compil. 2007; 1-3.
- [24] INFARMED I.P. Lista de DCI identificadas pelo Infarmed como MNSRM-EF e respetivos protocolos de dispensa [internet]. [citado 26 de novembro de 2019] obtido de [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes\\_transferencia\\_titular\\_aim/lista\\_dci](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci).
- [25] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.o 25/CD/2015, de 18 de fevereiro. Legis Farm Comp. 2010; 1-5.
- [26] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-Lei n.o 15/93, de 22 de janeiro. Legis Farm Comp. 1993; 1-43.
- [27] Diário da República. Lei n.o 8/2019 de 1 de fevereiro. 2019; 780-785.

- [28] INFARMED I.P.- Gabinete Jurídico e Contencioso. Portaria n.o 222 / 2014, de 4 de novembro. Legis Farm Compil. 2014;1-4.
- [29] Diário da República. Decreto-Lei n.o 189/2008, de 24 de setembro. 2008. 6926-6905.
- [30] Levy L, Bértolo H. Manual de Aleitamento materno. UNICEF. 2012 [Internet]. [citado 30 de novembro de 2019]. Obtido de: <https://unicef.pt/media/1581/6-manual-do-aleitamento-materno.pdf>.
- [31] Diário da República. Decreto-Lei n.o 136/2003, de 28 de junho. 2003; 3724-3728.
- [32] Diário da República. Decreto-Lei n.o 148/2008, de 29 de julho. 2008; 5048-5095.
- [33] Diário da República. Decreto-Lei n.o 145/2009, de 17 de junho. 2009; 3707-3765.
- [34] INFARMED I.P.-Gabinete Jurídico e Contencioso. Portaria no594/2004, de 2 de junho, Legis Farm Compil. 2004; 1-8.
- [35] INFARMED I.P.-Gabinete Jurídico e Contencioso. Portaria n.o 1429/2007, de 2 de novembro, Legis Farm Compil. 2007; 1-2.
- [36] Diário da República. Portaria n.o 97/2018, de 9 de abril. 2018. 1556-1557.
- [37] INFARMED I.P. Farmacovigilância [internet]. [citado 22 de dezembro de 2019] obtido de <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia>.
- [38] INFARMED I.P. Portal RAM [internet]. [citado 11 de dezembro de 2019] obtido de <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/submissaoram>.
- [39] Valormed - [Internet].[citado 21 de dezembro de 2019]. Obtido de: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>.



# Capítulo 3 – Estágio em Farmácia Hospitalar

## 1. Introdução

A farmácia hospitalar é uma área farmacêutica reconhecida pelo Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar da Ordem dos Farmacêuticos (OF), sendo uma parte indispensável e integrante dos cuidados de saúde prestados aos utentes em contexto hospitalar [1].

A farmácia hospitalar assume um papel de extrema importância, tendo em conta que, a maioria dos cuidados de saúde prestados em contexto hospitalar engloba a utilização de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos.

Cada vez mais o farmacêutico assume e desempenha um papel ativo nas diversas equipas de prestação de cuidados de saúde, assegurando o tratamento e acompanhamento dos doentes, bem como a difusão de informação técnico-científica.

Por ser, na minha opinião, uma área fundamental à formação do farmacêutico, realizei parte do meu estágio curricular em farmácia hospitalar nos Serviços Farmacêuticos Hospitalares do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB), entre o dia 2 de dezembro de 2019 e o dia 24 de janeiro de 2020, com um total de 280 horas, sob orientação da Diretora dos Serviços Farmacêuticos, professora Dr<sup>a</sup>. Maria Olímpia Fonseca.

### 1.1. Definição e competências dos serviços farmacêuticos hospitalares

Entende-se por Serviços Farmacêuticos Hospitalares o conjunto de atividades farmacêuticas desenvolvidas por organismos hospitalares e os seus respetivos serviços, cuja direção é assegurada obrigatoriamente por um farmacêutico hospitalar [1]. No caso do CHUCB a direção é responsabilidade da Dr<sup>a</sup>. Maria Olímpia Fonseca.

Neste tipo de serviço é praticada a atividade de farmácia hospitalar, assegurando-se a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos e a correta dispensa da terapêutica medicamentosa aos doentes, em conjunto com várias equipas de cuidados de saúde do hospital [1].

As competências dos Serviços Farmacêuticos (SF) englobam a seleção e aquisição de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos, garantia das condições de aprovisionamento, armazenamento e correta distribuição dos mesmos, produção de medicamentos, análise das matérias-primas e produtos finalizados [1], [2].

São ainda incumbências deste serviço a participação em comissões técnicas, a promoção de áreas de intervenção farmacêutica como a farmacocinética, farmacovigilância, farmácia clínica e participação em ensaios clínicos, disponibilização de informações relevantes inerentes ao medicamento e suas utilizações, desenvolvimento de ações formativas e garantia da correta gestão de recursos [1], [2].

## **1.2. Caracterização do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira**

O CHUCB é uma unidade do Serviço Nacional de Saúde português, sendo o Hospital Nuclear da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, tendo por base o Protocolo nº 11/2001, publicado em Diário da República, II Série de 16 de abril de 2001.

Este centro tem como missão a prestação de cuidados de saúde eficientes, eficazes e de elevada qualidade, a custos comportáveis à população em geral e o ensino pré e pós-graduado em várias áreas de prestação de cuidados de saúde [3].

## **1.3. Organização dos serviços farmacêuticos e recursos humanos**

Os Serviços Farmacêuticos do CHUCB encontram-se localizados no piso da entrada principal do hospital, sendo acessíveis pelo interior do hospital junto à zona de refeitório e pelo exterior do edifício.

As áreas que constituem este serviço englobam:

- Armazém Central;
- Armazém de apoio à Dose Unitária;
- Armazém de Injetáveis de Grande Volume;
- Biblioteca e Arquivo;
- Copa;
- Gabinete de Direção;

- Gabinete de Ensaios Clínicos;
- Gabinete de Farmacêuticos;
- Farmácia de Ambulatório;
- Gabinete de Farmacotecnia;
- Laboratório de Farmacotecnia;
- Sala de Águas;
- Sala de Conferências e Reuniões;
- Sala de Validação de Dose Unitária;
- Sala de Reembalagem;
- Secretariado;
- Vestiários e instalações sanitárias;
- Zona de recepção e conferência de encomendas.

Os SF do CHUCB funcionam 24 h por dia, todos os dias do ano sendo que o Setor de Ambulatório na Covilhã funciona em dias úteis das 9 h às 17 h, e no Hospital do Fundão às segundas e quintas-feiras das 9 h às 13 h e das 14 h às 16 h.

Fora do horário de serviço, a farmácia funciona em regime de prevenção, com um farmacêutico de serviço que poderá fornecer medicação urgente, ou que não faça parte do *stock* do serviço, bem como facultar medicamentos em dose unitária no caso de alterações terapêuticas.

Por sua vez, os recursos humanos são a base essencial de qualquer serviço, pelo que a correta alocação do número mínimo de farmacêuticos, técnicos superiores de diagnóstico e terapêutica (TSDT), administrativos e assistentes operacionais (AO), aos respetivos setores assume extrema importância na garantia do correto funcionamento da farmácia hospitalar. [1].

Os SF do CHUCB contam com a presença de 10 farmacêuticos, 6 TSDT, 1 técnica administrativa e 7 AO. A alocação aos diferentes setores é variável periodicamente, sendo que de momento os profissionais se encontram organizados tal como esquematizado na tabela 8.

Tabela 8. Organização dos recursos humanos nos Serviços Farmacêuticos do CHUCB

| <b>Recursos Humanos dos Serviços Farmacêuticos do CHUCB</b>                  |  |
|--|--|
| <b>Diretora dos Serviços Farmacêuticos</b>                                   | Dr <sup>a</sup> . Maria Olímpia Fonseca  |
| <b>Secretariado</b>  | Helena Mioludo   |
| <b>Setor Ambulatório</b>   | Dr <sup>a</sup> . Andreia Gaspar<br>Dr <sup>a</sup> . Rute Duarte<br>Dr <sup>a</sup> . Inês Eusébio  |
| <b>Setor de Farmacotecnia</b>  | Dr. Manuel Morgado<br>Dr <sup>a</sup> . Marta Mendes<br>TSDT Flávio Pinto  |
| <b>Setor de Aquisições e logística</b>                                       | Dr. João Ribeiro   |
| <b>Setor de Validação de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária</b> | Dr <sup>a</sup> . Idalina Freire<br>Dr <sup>a</sup> . Sandra Morgado<br>Dr <sup>a</sup> . Mafalda Silva  |
| <b>Setor de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária</b>              | TSDT Cristina Granado<br>TSDT Elisabete Bogas<br>TSDT Maria Pedro<br>TSDT Flávio Pinto<br>TSDT Telma<br>AO Lurdes Brito<br>AO Paulo Fernandes<br>AO David Martins<br>AO Silvia Gonçalves<br>AO José Bernardino<br>AO Bruno Algarvio<br>AO Juliana Miguel |
| <b>Armazenamento</b>   | TSDT Vera Nascimento<br>Todos os AO supramencionados   |

## **2. Gestão dos serviços farmacêuticos:**

A gestão de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos pode ser definida como o conjunto de procedimentos realizados pelos Serviços Farmacêuticos Hospitalares que garante a dispensa, boa utilização e segurança destes produtos [1]. O processo de gestão engloba a seleção e aquisição, o correto armazenamento, distribuição e administração [1].

É fundamental que exista um bom controlo das existências de medicamentos nos diferentes serviços do CHUCB para que possa ser garantido o uso e dispensa dos mesmos e se evitem longos tempos de espera por tratamentos, custos elevados associados à terapêutica ou desperdício de produtos.

## **2.1. Seleção e aquisição**

A seleção e aquisição de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos de forma correta, tendo em conta as existências e saídas dos produtos e os recursos económicos do serviço, garante a sua utilização e dispensa aos utentes do hospital com a melhor qualidade e com o menor custo possível [1].

A seleção de medicamentos a adquirir deve ser realizada por um farmacêutico tendo em conta o Formulário Nacional de Medicamentos (FNM) e adendas elaboradas pela Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) baseadas nas necessidades apresentadas pelos pacientes do hospital [1].

Para todos os novos pedidos de introdução, pertencentes ou não ao FNM, é reunida a CFT que realiza uma análise extensa das necessidades do doente e onde é ponderada a relação qualidade de vida/fatores fármaco-económicos [1].

É extremamente importante que o farmacêutico estabeleça as necessidades de consumo tendo por base estimativas de anos anteriores e análise das tendências, *stock* existente, número de tratamentos para determinadas patologias, variações sazonais, entre outros fatores que poderão afetar o consumo. Após esta análise é elaborado um plano de aquisições que seguirá para aprovação pelo Serviço de Logística Hospitalar (SLH) e posterior seleção de fornecedores e adjudicação.

Para obter uma boa seleção de fornecedores são avaliados fatores como o tempo médio de entrega de encomendas, custos, prazos e facilidades de pagamento e qualidade geral do serviço. Posteriormente, é emitido um parecer técnico da escolha de fornecedores.

As aquisições devem obedecer ao Código da Contratação Pública, sendo obrigatória a aquisição ao abrigo do Contrato Público de Aprovisionamento quando o artigo se encontra disponível online no Catálogo dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS) [4], [5]. No CHUCB a aquisição pode ainda ser realizada após concurso público de contratação

limitado, ou diretamente ao laboratório caso não se encontre no SPMS, ou fique por adjudicar em concurso.

Em caso de rutura de *stock*, e conseqüente urgência na aquisição, poderão ser contactados distribuidores ou farmácias comunitárias locais para suprimir as necessidades mínimas. No caso de produtos de uso exclusivo hospitalar, poderão ser realizados empréstimos entre hospitais, que serão posteriormente devolvidos ou creditados.

Para proceder à aquisição de Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEP) é necessário preencher manualmente o impresso constante do Anexo VII ao abrigo do Decreto-Lei nº. 15/93 de 22 de janeiro alterado pela vigésima terceira vez pela Lei nº. 8/2019 de 1 de fevereiro [6], [7]. Este impresso deverá conter o código do produto, designação por Denominação Comum Internacional (DCI), forma farmacêutica, dosagem e quantidade solicitada, deve ser assinado pelo diretor técnico ou farmacêutico responsável, datado e carimbado. A requisição é posteriormente enviada ao secretariado dos SF onde lhe é atribuído um número sequencial e é enviada ao serviço de logística.

Diariamente o farmacêutico analisa os artigos abaixo do ponto de encomenda e verifica os consumos diários e mensais para selecionar os artigos a encomendar. Depois de selecionados elabora um pedido de compra na aplicação do Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento (SGICM) que é encaminhado para os SLH. Os SLH analisam todos os pedidos e enviam uma nota de encomenda ao fornecedor, acompanhando e monitorizando a data de entrega.

### **2.1.1. Autorização de Utilização Excecional (AUE)**

Existem três tipos de autorização de comercialização em Portugal, a Autorização de Utilização Excecional (AUE), a Autorização de Utilização Excecional de Lotes de Medicamentos em Rutura de Fornecimento e Sem Alternativa Terapêutica (AUE por lotes), e a Autorização de Comercialização de Medicamentos Sem Autorização ou Registo Válido em Portugal (SAR) [8]–[10].

Em casos específicos é elaborado um pedido de AUE à Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED) ao abrigo do Decreto-Lei nº. 176/2006, de 30 de agosto e posterior Deliberação nº. 105/CA/2007 de 1 de março [8], [9]. Os pedidos de AUE destinam-se individualmente a um medicamento e o INFARMED poderá aprovar o pedido

ou indeferir o mesmo caso não se demonstre a segurança, eficácia ou qualidade do medicamento [8], [9].

A AUE de SAR surge da necessidade de recorrer a um medicamento que não possua AIM em Portugal caso se verifique uma situação clínica para a qual o medicamento é imprescindível à prevenção, diagnóstico ou tratamento devidamente justificada, para evitar potenciais propagações de agentes que possam causar efeitos nocivos ou ainda quando há necessidade de adquirir um medicamento para tratamento de um doente específico [8], [9].

Em casos excecionais poderá ser solicitada ao INFARMED uma AUE por lotes autorizando-se a colocação no mercado português de lotes de medicamento estritamente necessários, mesmo que rotulados em língua diferente, que se encontrem em rutura de fornecimento, quando manifestamente não existir uma alternativa terapêutica [10], [11].

A AUE para um doente específico é normalmente solicitada no caso de tratamentos que ainda se encontrem em processo de avaliação fármaco-económica para comparticipação e cedência pelo Sistema Nacional de Saúde (SNS) ou que já se encontrem comparticipados pelo SNS para determinadas patologias mas não incluam a patologia ou determinantes patológicas apresentadas pelo doente para o qual é feita a requisição. Nestes casos deve ser submetido no portal SIATS – Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde da responsabilidade do INFARMED uma requisição em impresso próprio [10].

O INFARMED avalia todos os requerimentos e justificações clínicas submetidas, o valor terapêutico do medicamento, história clínica do doente e alternativas terapêuticas, comunicando o parecer ao requerente.

Após criação do pedido este é avaliado pela Comissão de Farmácia e Terapêutica e Conselho de Administração do INFARMED e poderá ser validado ou rejeitado. Na eventualidade de ser indeferido poderá ser realizada uma reclamação num prazo de 10 dias úteis.

Durante o meu estágio acompanhei o processo de requerimento de AUE para um doente específico. Neste processo, o farmacêutico responsável por aquisições e logística acedeu ao portal SIATS e preencheu o formulário com a caracterização e história clínica do doente para o qual o pedido estava a ser solicitado. De seguida, procedeu à caracterização do tratamento, duração prevista, indicação terapêutica proposta, estratégia terapêutica e justificação da

imprescindibilidade e ausência de alternativas terapêuticas. Por fim, anexou todos os documentos necessários à requisição.

### **2.1.2.Receção e conferência de produtos adquiridos**

A conferência dos medicamentos e outros produtos farmacêuticos do CHUCB inicia-se com a receção e registo de entrada dos mesmos por um funcionário do Serviço de Logística Hospitalar. Os produtos farmacêuticos são então encaminhados para os SF, onde se procede à sua conferência na zona de receção de encomendas.

Esta zona apresenta acesso direto ao exterior e encontra-se próxima do armazém central para facilitar o processo de receção e posterior armazenamento. É composta por uma bancada metálica, uma câmara frigorífica onde os artigos de cadeia de frio devem ser colocados enquanto aguardam conferência, e prateleiras sinalizadas com fita vermelha e branca identificadas como zona destinada a medicamentos citotóxicos.

A conferência é realizada em dias úteis normalmente no período da tarde por um TSDT do armazém central dos SF e um Assistente Técnico do Serviço de Logística Hospitalar. A encomenda é acompanhada por duas guias de receção.

Através da consulta de uma guia de receção são observados vários itens, nomeadamente se o produto pedido corresponde ao produto enviado, conferência qualitativa, análise a quantidade pedida e enviada, e análise quantitativa. É ainda conferido o lote, prazo de validade e as condições de armazenamento.

No processo de recessão e conferência destacam-se alguns casos particulares, nomeadamente, a conferência de derivados do plasma que deverão ser acompanhados do respetivo Boletim de Análise e Certificado de Libertação do Lote emitido pelo INFARMED. As matérias-primas devem ser acompanhadas de Boletim de Análise e os estupefacientes devem ser acompanhados do Anexo VII assinado pelo Diretor Técnico do respetivo laboratório. Por último, os gases medicinais transportados em cisterna devem ser acompanhados de Certificado de Libertação do Lote.

Os produtos com validade inferior a 6 meses apenas poderão ser rececionados após autorização do farmacêutico do Setor de Aquisições ou Diretor do Serviço.

Averiguada a integridade e conformidade dos produtos, o TSDT assina e carimba a guia em duplicado, arquivando a guia referente aos SF. Depois da conferência técnica, o produto será declarado como conforme, não conforme ou destinado a quarentena.

Se forem detetadas não conformidades, se os artigos forem rececionados pela primeira vez ou o fornecedor tiver sido alterado, deverá ser contactado o farmacêutico afeto ao Setor de Aquisições e Logística.

No caso de receção de embalagens danificadas, ou interrupção da cadeia de frio, uma das guias de receção permanece nos SF e a outra volta para o SLH.

Os produtos citotóxicos devem ser rececionados separadamente dos outros produtos para garantir a segurança dos profissionais. Por este motivo, existe na zona de receção de encomendas uma lista com todos os citotóxicos disponíveis no CHUCB para que possa ser realizada a respetiva separação.

A manipulação destes produtos e respetivas embalagens exige a utilização obrigatória de luvas. As embalagens primárias devem ser inspecionadas para garantir que não ocorreu derrame ou quebra de frascos ou ampolas durante o transporte. Em caso de derrame deverá ser utilizado o *kit* de derrames de citotóxicos existentes nesta área.

Os produtos prosseguem então para o armazenamento de acordo com as Boas Práticas em farmácia hospitalar, sendo que os produtos citotóxicos são transportados em caixas identificadas e destinadas exclusivamente a este efeito. É dada a entrada informática dos produtos no armazém central antes de se proceder ao armazenamento.

Durante o meu estágio acompanhei a conferência de produtos e procedi à análise e correção da lista de citotóxicos disponíveis no CHUCB.

## **2.2.Armazenamento**

Depois da receção e conferência, os medicamentos e outros produtos farmacêuticos devem ser acondicionados de forma segura em espaços que garantam as condições necessárias de espaço, luz, temperatura e humidade, atendendo às especificações individuais de cada artigo [1].

De um modo geral, os medicamentos encontram-se armazenados protegidos da luz solar direta, com humidade inferior a 60% e a temperaturas que não ultrapassam os 25°C. Para monitorizar as condições de temperatura e humidade são utilizados sensores *IT2 Wireless* com sistema de alarme automático caso os parâmetros se desviem dos preconizados. Estes parâmetros são verificados e registados por um TSDT.

Os medicamentos e produtos farmacêuticos são armazenados nas prateleiras por um AO, sob orientação de um TSDT, exceto no caso dos MEP cujo armazenamento é responsabilidade do TSDT. Os produtos são organizados por ordem alfabética de DCI, segundo o princípio de armazenamento de “*first expire – first out*”, ou seja, os produtos de validade mais reduzida são colocados na zona frontal das prateleiras para que sejam os primeiros a ser dispensados.

Todos os produtos são organizados de modo a haver circulação de ar entre as embalagens, nunca em contacto direto com o chão, em locais devidamente rotulados com DCI do produto e dosagem [1].

Para evitar confusões entre medicamentos com a mesma DCI é utilizado um sistema de sinalética de cores, que determina que a dose mais alta é marcada a vermelho, a dose intermédia a amarelo, e a dose mais baixa a verde. Os medicamentos de risco elevado são sinalizados com um sinal de perigo amarelo e os medicamentos cujas embalagens sejam semelhantes são sinalizados com um sinal de “*STOP*”. Por fim, os medicamentos cujo nome possa ser confundido, medicamentos LASA “*Look alike, sound alike*” são rotulados segundo o método “*Tall man lettering*”, onde determinadas letras do nome são maiúsculas, segundo regras específicas.

O armazém dos SF do CHUCB encontra-se dividido em vários armazéns numerados, para promover o acesso eficaz e eficiente aos produtos necessários e garantir as condições de conservação.

O armazém 10 corresponde ao Armazém Central, o armazém 11 à farmácia do Hospital do Fundão, o armazém 12 acomoda o Setor de Dose Unitária, o armazém 13 pertence ao Setor de Farmacotecnia, os armazéns 14 a 17 correspondem aos *Pyxis™* dos vários serviços, o armazém 18 cujo propósito é armazenar produtos em quarentena, o armazém 20 referente ao Setor de Ambulatório e por fim o armazém 120 de Desinfetantes e Inflamáveis.

O armazém 10, ou Armazém Central comporta a maioria dos produtos, existentes nos SF do CHUCB, que não necessitam de condições especiais de armazenamento. A partir deste armazém é realizada a distribuição para os armazéns periféricos dos SF e dos serviços clínicos (SC).

O armazém 10 é constituído por uma divisão principal com prateleiras deslizantes e estantes fixas, uma zona para o armazém 18 de quarentena, uma central de comando do sistema *Pyxis™*, uma zona de medicamentos para rotulagem, uma bancada de trabalho com dois computadores e uma cassete com gavetas para medicamentos com maior rotatividade. Fazem ainda parte deste armazém duas salas para injetáveis de grandes dimensões, conhecidas como armazém 120, uma sala de armazenamento de desinfetantes e antissépticos, duas câmaras frigoríficas, e um armazém de produtos inflamáveis.

Nas prateleiras deslizantes são armazenados artigos de uso geral e artigos de grupos específicos. Os produtos mais específicos são organizados em prateleiras deslizantes separados dos restantes produtos, como é o caso dos anestésicos, colírios, antibióticos, material de penso, tuberculostáticos, medicamentos do Setor Ambulatório, estomatologia, hemoderivados, leites pediátricos e anticoncepcionais.

Os produtos de reserva, cuja quantidade não permite acondicionamento na totalidade nas prateleiras deslizantes, são colocados em prateleiras fixas específicas para este fim. A nutrição parentérica e entérica é de igual modo armazenada em prateleiras fixas.

Por serem medicamentos que exigem um controlo mais rigoroso, os Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEP) encontram-se armazenados em cofres metálicos com dupla fechadura, tanto no armazém 10 como no armazém 20. As benzodiazepinas são ainda armazenadas em armário metálico com fechadura.

Os medicamentos citotóxicos devido à sua perigosidade estão segregados dos restantes produtos em estantes sinalizadas com fita vermelha e branca, com as prateleiras viradas ao contrário para possuírem uma borda protetora. Próximo destes produtos existe um *kit* de contenção de derrame de citotóxicos.

Por fim, na divisão central do armazém 10 existe uma cassete com gavetas para medicamentos com maior rotação que facilitam o processo de distribuição aos SC.

Os produtos termolábeis, ou seja, produtos sensíveis à temperatura, são armazenados em duas câmaras frigoríficas pertencentes ao armazém 10, as câmaras 1 e 2, cujas temperaturas são mantidas entre os 2º e 8ºC e regularmente verificadas e registadas por TSDT.

Os produtos inflamáveis são armazenados numa sala com porta de retenção de fogo, com fecho automático, paredes reforçadas à prova de chama, chão inclinado com sistema de retenção de líquidos, detetor de fumo, chuveiro de teto para retardação de chama e instalação elétrica antideflagrante [1].

As duas salas para armazenamento de injetáveis de grandes dimensões pertencem ao armazém 10, contudo constituem um armazém secundário, o armazém 120. Neste são armazenados os injetáveis de grande volume e outros produtos de grandes dimensões. O mesmo acontece com a sala de desinfetantes e antissépticos pertencente ao armazém 120.

Por fim as matérias-primas são armazenadas no Laboratório de Farmacotecnia segundo compatibilidade química.

Sempre que se justifique, devem ser rotulados os medicamentos que se destinam ao sistema de distribuição individual. Não é necessário proceder à rotulagem de artigos que saiam em grandes quantidades no Setor Ambulatório ou que se destinem ao sistema de reembalamento.

Os rótulos são etiquetas individuais com a identificação do medicamento por DCI, dose, forma farmacêutica, lote e prazo de validade. Estes devem ser emitidos e impressos por um TSDT e conferidos por outro TSDT. De forma a garantir o controlo da rotulagem o TSDT preenche um impresso onde constam todas as informações referentes ao medicamento rotulado e respetivo rótulo. A rotulagem é realizada pelos AO e posteriormente existiu um controlo de qualidade da rotulagem.

Durante o meu estágio neste setor auxiliei no armazenamento de medicamentos e produtos farmacêuticos, observei o procedimento para emissão de rótulos e procedi à rotulagem de medicamentos.

### **2.2.1. Controlo de validades**

De modo a controlar e rentabilizar ao máximo os produtos em *stock* são regularmente emitidas listas de produtos cuja validade é reduzida para todos os armazéns dos SF. É

realizada uma verificação física de todos os produtos que se encontrem nessa situação e registada a quantidade real dessas existências. Após confirmação do prazo de validade reduzido, os produtos são assinalados com um autocolante contendo a inscrição “validade reduzida” em letras verdes.

Mensalmente, é emitida uma lista de produtos cuja validade termina no prazo de 4 meses para todos os armazéns dos SF e depois de verificação física das existências reais, estas são registadas em impresso próprio.

De igual modo, é realizado o controlo mensal de validades de todas as gavetas do armazém 12 e, caso existam medicamentos com validade inferior a seis meses, estes são registados em impresso próprio para o efeito.

No armazém 11 do Hospital do Fundão o controlo de validades é realizado aquando da receção dos produtos enviados pelo armazém 10. Caso se detetem produtos com validade inferior a um ano estes são registados.

Trimestralmente é verificado o *stock* dos diversos SC do CHUCB para que possam ser realizadas as devidas regularizações. Os produtos que se encontrem em fim de prazo de validade são transferidos para o armazém 10.

Sempre que se procede à reposição por *stocks* nivelados por carregamento e troca de carros, realiza-se o controlo das validades dos produtos existentes. Caso se detetem produtos cuja validade expirou, estes são imputados como consumos do serviço correspondente.

É ainda verificado o *stock* dos sistemas de distribuição semiautomática *Pyxis™*. O sistema emite um aviso sobre a existência de produtos em fim de validade, e o TSDDT procede à confirmação da existência real de produtos nestas condições, contabiliza os produtos a retirar do *Pyxis™*, declara-os como caducados e atualiza a validade dos produtos que continuem no sistema de distribuição.

O farmacêutico afeto ao Setor de Aquisições e Logística procede à análise de viabilidade de consumo ou possibilidade de escoamento em serviços com maior rotatividade de todos os produtos perto do *terminus* da validade. Caso não seja provável o escoamento dos produtos em fim de validade, o farmacêutico procederá ao contacto com os fornecedores correspondentes para possível devolução, creditação ou troca dos artigos.

No final de cada mês e na eventualidade de existirem produtos expirados de validade estes serão transferidos dos diferentes armazéns para o armazém 18, armazém de quarentena, onde aguardarão recolha, ou abate. Se o fornecedor determinar a recolha dos produtos, para troca ou crédito, estes serão transferidos para o armazém informático 202 e enviados para os Serviços de Logística Hospitalar acompanhados do impresso da transferência.

Até ao dia 10 de cada mês o farmacêutico deve ainda elaborar um relatório com todos os produtos para os quais pede crédito aos fornecedores pela primeira vez, com os produtos que apesar dos pedidos anteriores de crédito ainda não foram regularizados e com os produtos propostos para abate. Depois disto, o relatório é enviado pelo secretariado dos serviços farmacêuticos à Direção do Serviço de Logística Hospitalar. Durante o meu estágio auxiliei nesta tarefa referente aos produtos expirados em dezembro de 2019.

É importante referir que constituem indicadores de qualidade do setor de armazenamento, a monitorização do número de artigos detetados cujo prazo de validade expira dentro de quatro meses e do valor das intervenções, para evitar o desperdício de medicamentos. A monitorização da taxa de abate de medicamentos constitui um objetivo de qualidade. Durante o meu estágio no Setor Ambulatório procedi à realização do controlo de validades relativo ao mês de abril.

### **2.2.2. Contagem de *stock***

Nos SF do CHUCB são realizadas contagens de *stocks* nos vários armazéns em dias específicos. No armazém 10 é realizada auditoria aos *stocks* às terças, quartas e sextas-feiras, no armazém 12 é realizada a verificação do *stock* dos medicamentos termolábeis e nutrição entérica duas vezes por mês. Nos armazéns 11, 13 e 20 são realizadas contagens físicas de *stock* semanalmente para que caso tenha ocorrido um erro na dispensa de medicamentos este possa ser detetado e corrigido o mais rapidamente possível, garantindo assim que o doente tenha acesso à medicação correta, na dose e quantidade prescrita. No armazém 120 são realizadas contagens às sextas-feiras.

Mensalmente procede-se à contagem de produtos segundo a classificação ABC, dando particular importância aos produtos da categoria A e B por serem os que envolvem mais custos.

Para proceder à contagem e confirmação de *stocks* físicos, é emitida uma listagem do *stock* informático de todos os produtos existentes em cada um dos armazéns. Caso se detete uma

irregularidade no *stock* esta será confirmada e regularizada. Importa salientar que a monitorização e registo do número de regularizações efetuadas no armazém 10 constitui um indicador de qualidade.

Durante o meu estágio efetuei contagens semanais do Setor Ambulatório e Setor de Farmacotecnia. No armazém central realizei ainda contagens gerais e segundo a classificação ABC.

### **2.2.3.Recolha de lotes ordenada**

Entende-se recolha de lotes de medicamentos, como a recolha de um ou mais lotes de medicamentos ordenada pelo INFARMED, pelos laboratórios produtores, ou pelos distribuidores.

Caso se manifeste qualquer anomalia de qualidade de um medicamento o fabricante deverá informar com a maior celeridade o INFARMED e caso seja posta em causa a saúde pública internacional deverá ser informada a Organização Mundial de Saúde (OMS). O fabricante deverá ainda informar sobre todas as ações realizadas para recolha dos lotes [8].

Caso os SF recebam um pedido de recolha de lotes de medicamentos, este deve ser remetido ao farmacêutico afeto ao Setor de Aquisições e Logística para que possa confirmar a existência destes lotes nos SF e SC do CHUCB.

Na eventualidade de existências destes lotes, estes serão recolhidos e transferidos para o armazém de quarentena, armazém 18. Depois disto, o farmacêutico redige um relatório dos lotes e respetivas quantidades existentes em *stock*, que remete para o SLH para verificação da possibilidade de emissão de nota de crédito ou substituição dos medicamentos. Caso seja possível o crédito ou substituição, os medicamentos serão transferidos para o armazém informático 202, emitindo-se uma guia de transferência que deve acompanhar os medicamentos.

Se estiver disponível um novo lote para encomenda realiza-se um pedido de compra urgente para reposição do *stock* em falta.

## **3. Distribuição**

A distribuição de medicamentos tem como objetivo garantir o cumprimento da prescrição médica e a correta administração do medicamento, diminuindo assim os erros relacionados com a medicação por aumento da monitorização e racionalizando os medicamentos, reduzindo os custos associados a desperdícios [1].

Seguidamente serão descritos os sistemas de distribuição efetuados pelos SF no CHUCB, iniciando com o sistema de distribuição tradicional, seguido do sistema de distribuição a doentes em regime de internamento como é o caso da reposição de *stocks* nivelados e distribuição em dose unitária, distribuição a doentes em regime de ambulatório, e por fim o sistema de dispensa de medicamentos sujeitos a legislação restritiva.

No CHUCB a distribuição efetua-se através do armazém central, armazém 10, para os respetivos armazéns do serviço farmacêutico e posteriormente para os SC ou domicílios. Durante o meu estágio observei e colaborei em todos os sistemas supramencionados.

### **3.1. Sistema de distribuição tradicional**

O sistema de Distribuição Clássica ou Tradicional engloba o fornecimento de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos pré-definido a determinados serviços do centro hospitalar, após requisição efetuada pelo enfermeiro chefe, ou em quem ele delegue essa tarefa, e validada por um farmacêutico. Este fornecimento pode ser fixo no caso de *stock* permanente, ou variável no caso de *stocks* temporários. No CHUCB o sistema de distribuição tradicional clássico é pouco praticado.

Para iniciar o circuito de distribuição é gerado um perfil de consumo para um determinado serviço, estabelecido pelo farmacêutico responsável pela distribuição tradicional, o diretor de serviço e o enfermeiro chefe do serviço em causa, com uma composição qualitativa e quantitativa de stock.

No caso de se tratar de um armazém periférico dos SF é gerado um perfil semelhante de acordo com as necessidades desse armazém.

Para requisitar um produto é necessário gerar uma requisição eletrônica. No caso dos armazéns periféricos a requisição é responsabilidade do TSDT ou farmacêutico afeto a esse setor.

A requisição é impressa e atendida por um TSDT afeto ao armazém central sendo que, os pedidos de reposição de stock efetuados até as 14 h são atendidos no próprio dia e os realizados depois deste horário serão atendidos no dia seguinte, ou caso se trate de uma sexta-feira serão atendidos na segunda-feira seguinte. Os diferentes SC efetuam a requisição em dias específicos, para agilizar e rentabilizar o processo de distribuição.

Depois de preparado, o TSDT confere e dá saída dos produtos. Caso se detete uma rotura de stock ou possíveis substituições, estas devem ser comunicadas ao solicitante. Os produtos e material preparado são enviados para os respetivos serviços onde devem ser conferidos pelo enfermeiro que valida a entrega dos produtos solicitados.

### **3.2.Sistema de distribuição por reposição por stocks nivelados**

À semelhança do que ocorre no sistema anteriormente descrito, na reposição por *stocks* nivelados é gerado um perfil qualitativo e quantitativo de consumo para um determinado serviço. Este sistema permite a manutenção dos medicamentos utilizados nos diferentes serviços através de um armazenamento sob a forma de carros.

Os carros de armazenamento de medicamentos permitem reposição dos níveis de *stock* e existem na Unidade de Cuidados Intensivos (UCI), Unidade de Acidentes Vasculares Cerebrais (UAVC), na Neonatologia, Unidade de Cirurgia Ambulatório, Urgência Obstétrica e na Viatura Médica de Emergência e Reanimação (VMER). A composição dos carros é fixa e existe uma periodicidade de reposição pré-estabelecida entre o serviço clínico e os SF.

Os carros são transportados até aos SF por um AO do serviço clínico no dia e horário pré-acordado, onde são verificadas todas as existências e necessidades de reposição. Depois de carregado, o carro é transportado pelo AO dos SF até ao serviço clínico no próprio dia.

Na UCI e UAVC a medicação deve encontrar-se constantemente disponível e, por este motivo, estes serviços possuem dois carros. Em dias específicos os carros são trocados, sendo que um permanece no serviço e outro é enviado para a farmácia para ser preparado. O carro é preparado e repostado no dia anterior à realização da troca.

É responsabilidade do TSDT confirmar todas as gavetas do carro e verificar se o número de produtos existentes na gaveta corresponde ao número indicado na etiqueta identificativa da gaveta. Com vista a esse fim, é utilizado um leitor de código de barras para registar os produtos que é necessário repor e a quantidade a adicionar. Os artigos que sejam colocados nos carros são imputados ao respetivo serviço informaticamente.

No final de cada mês, o TSDT verifica todas as validades existentes no carro e caso algum artigo esteja próximo do prazo de validade este será retirado, imputado ao serviço, colocado no armazém de quarentena e repostado o artigo em falta.

Durante o meu estágio auxiliei na reposição do *stock* dos carros de armazenamento de medicamentos e realizei um inventário de todos os artigos constantes em cada um deles.

### **3.2.1. Sistema de distribuição semiautomática: *Pyxis*<sup>TM</sup>**

Em alguns serviços do CHUCB, nomeadamente Urgência Geral, Unidade de Cuidados Agudos Diferenciados, Bloco Operatório e Urgência Pediátrica, encontra-se implementado um sistema de distribuição com reposição por *stocks* nivelados semiautomático, *Pyxis*<sup>TM</sup>.

Este sistema consiste num armário eletrónico informatizado, utilizado pela equipa de enfermagem para retirar, em nome do doente, os medicamentos necessários ao tratamento.

O sistema *Pyxis*<sup>TM</sup> otimiza a gestão dos medicamentos, minimiza eventuais ruturas de *stocks*, melhora as condições de armazenamento, facilita o supervisionamento da utilização de substâncias controladas, e garante uma dispensa de fármacos extremamente segura e controlada sujeita a menos erros, uma vez que existe uma prescrição associada à distribuição.

O *stock* de medicamentos existente em cada *Pyxis*<sup>TM</sup> é previamente definido entre o Farmacêutico responsável pela logística, o Enfermeiro-Chefe e o Diretor de Serviço de cada unidade, assim como qualquer alteração ou aumento de *stock* temporário. Tendo em conta as necessidades do serviço são definidos *stocks* mínimos de reposição e dependendo da capacidade de armazenamento do sistema, definidos *stocks* máximos para cada medicamento.

O *Pyxis*<sup>TM</sup> encontra-se conectado a uma unidade de controlo remoto do armazém 10 que fornece informações em tempo real sobre as existências e necessidades de reposição.

A reposição dos medicamentos gerais e produtos farmacêuticos é realizada por um TSDT do armazém 10. Para tal, é impresso a lista de necessidades de reposição, é preparada a medicação e transportada até ao serviço correspondente. Para realizar a reposição é necessário a inserção do número mecanográfico e impressão digital, é selecionada a opção de reposição, são selecionados os fármacos a repor e de seguida o sistema abre automaticamente uma gaveta de cada vez, é efetuada uma contagem do *stock* real existente, atualizada a validade mínima dentro da gaveta, inserido o número de unidades a repor e a gaveta é fechada.

É responsabilidade do farmacêutico afeto ao Setor de Ambulatório realizar a verificação informática de *stocks* de benzodiazepinas, MEP e determinar a necessidade de reposição para que se assegurem, na medida do possível, *stocks* máximos. Apesar de existirem dias estipulados para a reposição de cada serviço esta pode ser variável tendo em conta os consumos durante a semana. É importante que o farmacêutico garanta a reposição às segundas e sextas-feiras uma vez que não se realizam reposições deste tipo ao fim de semana.

Durante o meu estágio no Setor Ambulatório acompanhei e auxiliei diariamente a reposição dos diferentes sistemas *Pyxis*<sup>TM</sup> nos serviços supramencionados.

### **3.2.2.Sistema de distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU)**

A distribuição individual diária em dose unitária de medicamentos (DIDDU) apresenta-se como um modelo de preparação e distribuição de medicação em dose individual unitária para um período de 24 h [1].

Este sistema permite racionalizar e gerir a terapêutica individual de cada doente, diminuir as interações ou duplicações medicamentosas, reduzir os medicamentos desperdiçados e ainda reduzir o tempo dedicado pela equipa de enfermagem aquando da administração da medicação [1].

O modelo de distribuição descrito permite que o farmacêutico desempenhe um papel ativo na farmacoterapia dos doentes, ao interpretar e validar as prescrições, formulando assim um perfil fármaco-terapêutico.

No serviço farmacêutico do CHUCB existem dois espaços físicos para a realização deste circuito de distribuição, uma sala de dose unitária, onde é realizada a distribuição de

medicamentos em dose unitária pelas respetivas cassetes individuais de cada doente conhecido como armazém 12, e uma sala de validação, onde é validada a prescrição médica e onde é conferida toda a medicação preparada.

O serviço de DIDDU é fornecido aos vários serviços de internamento de doentes do CHUCB, aos serviços de Medicina Interna, Medicina Paliativa e Unidade de Infeciologia do Fundão, e ainda ao departamento de psiquiatria e saúde mental do CHUCB.

A medicação é habitualmente preparada para um período de 24 h exceto à sexta-feira em que é preparada medicação individualizada para 72 h nas respetivas cassetes de cada dia. Para o hospital do Fundão é enviada a medicação se prescrita até às 17 h nos dias úteis e ao fim de semana se prescrita até às 16 h.

O circuito de DIDDU é iniciado com a prescrição efetuada pelo médico, informatizada (ou em casos excecionais manualmente) que é enviada pelo sistema informático até aos SF. A prescrição contém o registo da medicação e outras informações relevantes tais como patologia, alergias, interações medicamentosas e permite o acesso às análises clínicas do doente internado.

As prescrições são agrupadas por SC e cada serviço encontra-se atribuído a um dos farmacêuticos deste setor, que deverá validar as prescrições por ordem de horário de saída da medicação. A validação farmacêutica permite detetar possíveis duplicações, posologias ou vias de administração incorretas, possíveis interações ou futuras complicações, e analisar justificações de utilização de antibióticos de uso restrito.

Após validação é emitido e impresso um mapa de distribuição por cama para cada serviço que é enviado para os sistemas semiautomáticos KARDEX e FDS. É responsabilidade dos TSDT, auxiliados pelos AO, a identificação de cada gaveta de medicação com o nome, número do processo, serviço, número da cama do doente e a data para a qual se destina a medicação. Durante a identificação das gavetas é importante sinalizar nomes idênticos, ou qualquer outra situação que possa induzir em erro.

Depois de identificadas as gavetas, é distribuída a medicação separada em 4 momentos de toma, manhã, tarde, noite e SOS, ou no caso da psiquiatria, separada em manhã, tarde, jantar e noite/SOS.

Esta distribuição é realizada pelo TSDT com o auxílio do AO utilizando o KARDEX e FDS e o *stock* de apoio do armazém 12. Os equipamentos semiautomáticos permitem a redução do tempo necessário à preparação e garantem uma diminuição dos erros associados a este processo, melhorando assim a qualidade do serviço.

Toda a medicação que não caiba nas gavetas é rotulada com uma etiqueta identificativa do doente e colocada na caixa do respetivo serviço de internamento. No caso de algum medicamento não poder ser enviado por rutura de *stock* deverá ser colocada uma etiqueta que informe desta situação dentro da gaveta.

Depois de preparadas, as cassetes e caixas dos serviços são transportadas pelos AO até à sala de validação onde os farmacêuticos conferem, com auxílio do mapa de distribuição, toda a medicação preparada, e onde retificam ou alteram medicação caso existam alterações na prescrição. São ainda identificadas as doses parciais de medicamentos injetáveis em que não se pretenda administrar a totalidade da ampola e condições específicas de acondicionamento após abertura, por meio de etiquetas informativas.

Caso se detetem erros na preparação é efetuado o registo num documento partilhado das não conformidades e respetiva descrição da ocorrência. Este registo e monitorização é um dos objetivos de qualidade mensais deste setor.

Finalizada a conferência e após a realização de todas as alterações necessárias a medicação é imputada. Importa ainda referir que no caso de alguns medicamentos é necessário efetuar o registo do respetivo lote sempre que houver um movimento para garantir que este possa ser rastreado em caso de problemas relacionados com a medicação.

Os módulos são enviados para os respetivos SC pelos AO do serviço farmacêutico, tendo em conta os horários pré-estabelecidos para o efeito, exceto aos sábados, domingos e feriados. O cumprimento dos horários pré-definidos é considerado um indicador de qualidade.

Para garantir a terapêutica até ao próximo momento de envio de medicação podem ser realizados pedidos de medicação urgentes que podem ser levantados pelos AO dos diferentes serviços, ou que são entregues nos serviços em horários específicos.

Relativamente aos SC do Hospital do Fundão, os módulos de medicação são enviados às 16 h para o Hospital do Fundão, e as cassetes de medicação do dia anterior são transportadas de volta e entregues aos SF do CHUCB.

Os medicamentos que não forem administrados nos serviços são devolvidos, e caso a sua integridade e prazo de validade sejam confirmados, são revertidos informaticamente no perfil do doente por um TSDT, podendo ser distribuídos novamente. No caso de a medicação ser devolvida sem identificação esta será revertida ao serviço em causa.

Durante o meu estágio nesta secção observei a validação farmacêutica e a revertência de medicação, auxiliei durante a conferência de medicação, colaborei na preparação de pedidos urgentes e alterações de prescrição/serviço, e auxiliei na procura de informação relativa a questões colocadas por outros profissionais de saúde relativamente à possibilidade de administração de fármacos por sonda nasogástrica.

### **3.3. Distribuição de medicamentos em regime de ambulatório e medicamentos sujeitos a circuitos especiais de distribuição**

#### **3.3.1. Setor de ambulatório**

O Setor Ambulatório é o único espaço dos SF do CHUCB com entrada exterior para atendimento dos doentes do hospital. Este espaço contém todo o equipamento e condições necessárias descrito pelo Manual da Farmácia Hospitalar [2].

Este setor assume extrema importância na medida em que permite que os doentes realizem os seus tratamentos fora do ambiente hospitalar, reduzindo assim os custos e riscos inerentes ao internamento e possibilita a realização do controlo de terapêuticas cujos efeitos secundários sejam potencialmente graves, cuja adesão à terapêutica seja fundamental ao sucesso do tratamento, ou cuja participação seja de 100% quando a terapêutica é obtida em contexto hospitalar [2].

Neste setor, para além de ser realizada a dispensa de medicamentos e dispositivos médicos é, também, fornecida informação técnico-científica sob a forma de folhetos informativos que permite ao doente estar alerta para determinados efeitos secundários, e realizar a toma do medicamento de forma correta.

O gabinete de atendimento é um espaço reservado que assegura as condições de privacidade para a realização de uma dispensa confidencial aos doentes, e funciona de segunda a sexta-feira das 9 h às 17 h, normalmente assegurado por dois farmacêuticos.

Para além do espaço para cedência dos medicamentos, a Farmácia de Ambulatório é um espaço de armazenamento, designado por armazém 20, onde existem duas câmaras verticais de refrigeração para medicamentos termolábeis, um armário metálico com compartimentos para armazenamento de embalagens de grandes dimensões, medicamentos reembalados, ou medicamentos sem embalagem para acertos de medicação e um cofre metálico com dupla fechadura onde são armazenados os MEP e benzodiazepinas. Todos os medicamentos armazenados nestes três locais encontram-se organizados por ordem alfabética de DCI.

Para além dos sistemas tradicionais de armazenamento, este setor possui um sistema semiautomático de dispensa de medicamentos (*Consis*®), onde podem ser armazenadas e dispensadas caixas de medicamentos por comunicação com o sistema informático.

Durante o meu estágio auxiliiei na dispensa de medicamentos e cedência de informações, tendo obtido bastante contacto com os doentes do CHUCB, que regularmente obtêm a sua medicação no Setor de Ambulatório e com as AO dos vários serviços do hospital.

Participei ainda ativamente, em todas as atividades diárias do setor, desde contagem e reposição de *stock*, pedidos de reposição, verificação de validades, regularização de cedências de hemoderivados, MEP e benzodiazepinas, revisão de folhetos informativos, idas aos diferentes serviços do hospital para reposição dos medicamentos supramencionados no *Pyxis*™.

### **3.3.2. Distribuição de medicamentos em regime de ambulatório**

Os SF do CHUCB dispensam medicamentos abrangidos por legislação ou autorizados pelo conselho de administração do hospital, sem qualquer custo para o utente desde que este provenha das Consultas Externas, do Hospital de Dia, do Internamento no momento da alta e em alguns casos a doentes do Serviço de Urgência.

Para que ocorra dispensa de medicamentos em regime de Ambulatório, é necessário que estes sejam prescritos por via manual em caso de falência informática, ou por via eletrónica, sendo que no último caso após inserção do nome do doente ou número do processo no programa informático este fornece ao farmacêutico informações sobre o doente, as consultas

já efetuadas e futuras, o médico prescriptor, histórico terapêutico, esquema posológico e medicamentos a ceder, entre outras informações que facilitam a dispensa.

Nas prescrições de doentes externos ao hospital, é exigido um modelo materializado da prescrição, principalmente relativamente aos medicamentos e patologias abrangidos pela Portaria nº. 48/2016, de 22 de março [12].

As patologias legisladas para a cedência de medicamentos, pela farmácia hospitalar em regime de ambulatório encontram-se organizadas na tabela X, sendo que algumas patologias são abrangidas por enquadramento legal específico como é o caso da Esclerose Múltipla e Hepatite C [13], [14].

Tabela 9. Patologias com enquadramento legal para a cedência de medicamentos.

|   |                    |                                |
|---|--------------------|--------------------------------|
| Foro oncológico                               | Esclerose Múltipla | Esclerose Lateral Amiotrófica  |
| Foro psiquiátrico                             | Acromegalia        | Planeamento familiar           |
| Insuficiência Renal Crónica                   | Fibrose Quística   | Paramiloidose                  |
| Medicina de Transplantação (Renal e Cardíaca) | Artrite Reumatóide | Síndrome de Allagille e Fallot |
| Hepatite C                                    | Tuberculose        | Doença de Machado Joseph       |
| Seropositivos (VIH/SIDA)                      | Hemofilia          | Síndrome Lennox-Gastaut        |
| Hormona do Crescimento                        |                    |                                |

Por outro lado, existem patologias para as quais é realizada cedência de medicamentos apesar de não serem legisladas, devido ao facto de serem medicamentos sujeitos a receita médica restrita (MSRMR) ou medicamentos com autorização de utilização excecional (AUE) [15].

Tabela 10. Patologias sem enquadramento legal, cuja cedência de medicamentos é efetuada nos Serviços Farmacêuticos do CHUCB.

|   |  |
|---|--|
| Hipertensão pulmonar                    | VIH/ SIDA (outros anti-infecciosos)                          |
| Osteoporose grave                       | Outros (Xaropes, papéis, colírios fortificados, AUE, Órfãos) |
| Transplantados hepáticos e de intestino | Transplantação (novos imunossupressores e antivíricos)       |

Em certos casos podem ainda ser dispensados medicamentos de uso não exclusivo hospitalar quando as condições socioeconómicas do doente estejam documentadas e assim o exijam para que possa usufruir da terapêutica [15].

Para dispensa da medicação, o doente deve dirigir-se à Farmácia de Ambulatório, identificado por cartão de cidadão ou bilhete de identidade, sendo que na primeira dispensa é assinado um termo de responsabilidade por parte do doente responsabilizando-o pelo cumprimento e boa utilização da terapêutica e concordando que foram prestadas todas as informações necessárias no ato de cedência do medicamento. As dispensas subsequentes poderão ser realizadas por cuidadores do doente desde que providos de identificação do doente e do cuidador.

O farmacêutico valida a prescrição e cede a medicação, no caso de a prescrição ser superior a um mês são realizadas cedências mensais do medicamento ou cedências até ao momento da próxima consulta para que exista um maior controlo da terapêutica. As exceções são os anticoncecionais, antirretrovirais, doentes que solicitem a dispensa por um período superior ao normal por se ausentarem do país, ou por residirem a mais de 25km do CHUCB.

Caso o custo da terapêutica exceda o valor de 200 euros é emitido um documento relativo ao custo da medicação dispensada que é entregue ao doente para fins informativos, e de sensibilização sobre a necessidade de adesão à terapêutica tendo em conta o custo da mesma [15].

O farmacêutico cede ainda informação verbal e escrita, sob a forma de folhetos informativos com informação acerca do armazenamento, cuidados especiais, advertências, modo de administração e potenciais efeitos secundários, e etiquetas com esquema posológico, procedendo ao registo da medicação dispensada e notas relevantes à data da dispensa.

Todos os dias são conferidas as cedências e dispensas do dia anterior com o intuito de detetar qualquer erro de dispensa sendo este um indicador de qualidade do setor. Deste modo confirma-se o medicamento, a quantidade dispensada, lote, número de imputação e o serviço do qual provem o doente. Esta foi uma tarefa que realizei diariamente durante o meu estágio neste setor.

Após distribuição dos medicamentos é realizado o seguimento fármaco-terapêutico dos doentes, utilizando-se um documento *Excel* partilhado onde podem ser encontrados os

fármacos cujo seguimento é realizado, e dentro de cada fármaco são registados os doentes a realizar esta medicação e as datas de levantamento da terapêutica. Durante o meu estágio, uma das minhas funções foi realizar este registo, após confirmação por parte das farmacêuticas, e no caso de incumprimento das datas foram preenchidos impressos para notificação do médico prescriptor.

### **3.4. Distribuição de medicamentos sujeitos a controlo especial**

#### **3.4.1. Estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas**

Os MEP são regidos por legislação especial nomeadamente o Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro, alterado pela vigésima terceira vez pela Lei n.º 8/2019, de 1 de fevereiro, que define o “Regime Jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos” [6], [7]. Para impedir o tráfico ilícito destas substâncias, foi elaborada ainda a Portaria n.º 981/98, de 8 de junho que estabelece a “Execução das medidas de controlo de estupefacientes e psicotrópicos” [16].

As requisições de MEP são realizadas através de um impresso próprio, o Anexo X da Imprensa Nacional-Casa da Moeda, sendo que o documento original fica arquivado nos SF e o duplicado no livro de requisições do serviço requerente. Neste documento, é obrigatório preencher a identificação do serviço requerente, o nome do doente, número do processo, quantidade prescrita, quantidade fornecida, data e rubrica do enfermeiro que administrou, data e assinatura do diretor de serviço, data e assinatura do farmacêutico que dispensa, data e assinatura de quem levanta a prescrição [16].

O impresso do Anexo X é relativo a um único medicamento identificado por DCI, forma farmacêutica e dosagem, podendo, no entanto, ser registados vários doentes no mesmo impresso para o mesmo medicamento [16]. Em caso de constituição de *stock* temporário ou devoluções, a identificação do doente é substituída pela respetiva informação. O farmacêutico remove o impresso original, sendo que o duplicado acompanha o medicamento até ao serviço requisitante.

Caso sejam retirados medicamentos destas classes do *Pyxis*<sup>TM</sup>, não é necessário o preenchimento de impressos, visto que o sistema informático informa da necessidade de reposição do *stock* removido.

Finalizada a dispensa procede-se à imputação informática, registrando-se o lote cedido e o número de imputação no original do Anexo X. No dia seguinte são confirmadas as cedências e separadas as benzodiazepinas dos restantes. Trimestralmente é enviada ao INFARMED uma relação dos estupefacientes utilizados em tratamento médico e todos os movimentos de MEP.

Estes fármacos encontram-se armazenados no armazém 10 e 20. Semanalmente o farmacêutico e a assistente administrativa do serviço farmacêutico realizam contagem física no cofre dos armazéns, comparando o *stock* informático, e registando o número de não conformidades que será utilizado como indicador de qualidade.

Todos os meses o farmacêutico confere o *stock* físico destes medicamentos nos diferentes serviços, conferindo ainda as validades, realocando os medicamentos com validade reduzida a serviços com maior rotatividade. Esta avaliação constitui um indicador de qualidade fundamental no controlo desta medicação. No final do meu estágio nesta área tive a oportunidade de auxiliar nesta tarefa na Medicina 1. Realizei ainda diariamente a imputação destes fármacos, e procedi à reposição nos *Pyxis*<sup>TM</sup> quando conveniente dos serviços de Urgência Geral, Unidade Cuidados Agudos Diferenciados, Bloco Operatório e Urgência Pediátrica.

### **3.4.2. Medicamentos hemoderivados**

Os medicamentos hemoderivados podem ser definidos como todos os medicamentos derivados de plasma humano, como é o caso da albumina humana e Imunoglobulina G humana.

Os SF do CHUCB efetuam a distribuição de medicamentos hemoderivados aos SC e aos doentes em regime de ambulatório, atendidos nas consultas externas. A única exceção é o caso do plasma fresco congelado que é distribuído pelo Serviço de Imuno-Hemoterapia [17].

Tendo em conta que a utilização deste tipo de terapêutica pode causar a eventual disseminação de doenças transmissíveis por via sanguínea é extremamente importante que todas as dispensas possam ser rastreadas e investigadas, e por este motivo a requisição deste tipo de medicamentos é feita por um impresso próprio conforme regulado pelo Despacho n.º 1051/2000, de 14 setembro [17].

Este impresso é constituído por duas vias. A “Via Farmácia” que fica arquivada nos SF e contem um Quadro A com a identificação do médico prescriptor e do doente, um Quadro B com a respetiva requisição e um Quadro C que é preenchido pelo Farmacêutico no momento da dispensa, onde é incluído o medicamento dispensado, dose, quantidade, lote, fornecedor e número do Certificado de Autorização de Utilização de Lotes de Medicamentos derivados do sangue ou plasma humano (CAUL). A “Via Serviço” é um duplicado que fica incorporado no processo do doente no serviço onde este se encontra e onde é preenchido o Quadro D no momento de administração pelo enfermeiro responsável [17].

Após dispensa, o farmacêutico regista informaticamente a dispensa do medicamento associando-o ao doente para o qual foi requisitado, e escreve na “via Farmácia” o número de registo. No dia seguinte são realizadas as confirmações de todas as dispensas.

Na eventualidade destes medicamentos não serem administrados devem ser devolvidos aos SF no prazo máximo de 24 h.

Durante o meu estágio participei na dispensa destes medicamentos e procedi ao registo e validação das informações no sistema informático.

Adicionalmente, participei no fecho anual do circuito dos hemoderivados para efeitos de auditoria interna do ano 2019 e do ano 2018 por não ter sido concretizado até à data. Para tal, realizei a seleção de uma amostragem do número total de hemoderivados dispensados durante o ano, abrangendo todos os serviços aos quais estes medicamentos são dispensados. Posteriormente, cabe ao farmacêutico proceder à visita aos respetivos SC, conferir se os vários parâmetros avaliados estão conforme o padronizado e registar as não conformidades. O encerramento do circuito de hemoderivados constitui um objetivo de qualidade.

### **3.4.3. Medicamentos extra-formulário (FHNM)**

Segundo o Despacho n.º 2061-C/2013, de 1 de fevereiro de 2013 é estabelecida a obrigatoriedade da utilização do Formulário Nacional de Medicamentos (FNM) no processo de aquisição e utilização de medicamentos em estabelecimentos, serviços hospitalares e de ambulatório do SNS [18].

O FNM é na sua essência uma ferramenta de apoio à aquisição e utilização de medicamentos que permite a utilização racional dos recursos do SNS. O FNM surge como uma alteração do Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos (FHNM) e ainda se encontra em

reestruturação, pelo que o FHNM se mantém válido para as áreas terapêuticas para as quais ainda não tenha sido publicado em módulo no FNM.

Segundo o Despacho n.º 2061-C/2013, de 1 de fevereiro de 2013 aditado pelo Despacho n.º 8333/2014, de 19 de junho, caso as necessidades terapêuticas dos doentes exijam a utilização de medicamentos não contemplados neste formulário poderão ser incluídas adendas pela CFT do respetivo estabelecimento hospitalar, com base na melhoria da qualidade de vida e critérios fármaco-económicos [18], [19]. Para tal o médico prescriptor preenche um impresso próprio para o efeito onde apresenta o caso clínico do doente e justificações de utilização da terapêutica em causa.

#### **3.4.4. Antibióticos de reserva**

Atualmente assistimos a um aumento das taxas de resistência dos microrganismos aos antibióticos habitualmente utilizados, o que gera uma preocupação a nível nacional e mundial. Com o aumento das resistências, observa-se a utilização de antibióticos de largo espectro que têm o potencial para gerar resistências ainda mais complexas e nenhuma instituição prestadora de cuidados de saúde pode ignorar as implicações destas infeções e o seu impacto nos utentes, quer nas unidades de saúde, quer na comunidade [20].

Tendo em conta esta problemática, no CHUCB alguns antibióticos são sujeitos a protocolos específicos e apenas podem ser dispensados após validação, por parte do farmacêutico, da respetiva justificação de prescrição acompanhada por antibiograma. O farmacêutico assume assim, um papel fundamental na inversão das resistências e no uso racional dos antibióticos.

#### **3.4.5. Desinfetantes e antissépticos**

Define-se como antisséptico um produto que impeça a multiplicação de microrganismos patogénicos na pele e mucosas por destruição ou inibição microbiana, podendo provocar ação irritativa e reações de hipersensibilidade. O termo desinfetante é aplicado exclusivamente no caso de substâncias utilizadas para descontaminar materiais inertes, equipamentos e superfícies. Algumas preparações poderão ter as duas finalidades.

No contexto hospitalar, a utilização de desinfetantes e antissépticos assume um papel de extrema importância na prevenção da transmissão de microrganismos aos profissionais do hospital e visitas e na prevenção de infeções nosocomiais aos doentes de internamento e ambulatório.

É responsabilidade do Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (GCL-PPCIRA) a elaboração de procedimentos de utilização dos desinfetantes e antissépticos [15].

Todos os desinfetantes possuem uma ficha de dados de segurança do produto. A escolha do produto certo implica uma análise das suas propriedades, dados de segurança e fins a que se destinam.

#### **3.4.6.Eritropoietinas**

O Despacho n.º 3/91, de 8 de fevereiro, alterado pelo Despacho n.º 8680/2011, de 17 de Junho; e pelo Despacho n.º 9825/98, de 13 de maio, alterado pelos Despacho n.º 6370/2002, de 7 de março e Despacho n.º 22569/2008, de 22 de agosto regulamentam a prescrição, distribuição e comparticipação de eritropoietinas a doentes com insuficiência renal crónica que se encontrem a realizar diálise ou internados num centro hospitalar [21]–[25].

#### **3.4.7.Gases medicinais**

Os gases medicinais podem ser definidos como, gases ou misturas de gases, liquefeitos ou não, destinados a entrar em contacto direto com o organismo humano e a desenvolver uma atividade terapêutica. Estes podem ser utilizados em terapia de inalação, como anestésicos, técnicas de diagnóstico ou para conservação ou transporte de órgão, tecidos ou células destinadas a transplantes. Os gases medicinais devem cumprir as exigências técnicas de qualidade constantes da Farmacopeia Portuguesa ou, na sua falta, da Farmacopeia Europeia [8].

No CHUCB para proceder à aquisição de gases medicinais é realizada uma seleção de fornecedores pelo Conselho de Administração para um determinado período tendo em conta informações fornecidas pelos Serviços de Logística Hospitalar. O procedimento de aquisição é realizado às quartas-feiras.

No caso dos gases medicinais acondicionados em garrafa, os vários serviços que utilizam estes gases verificam as necessidades de reposição de stock e informam os SF através de uma pasta partilhada. O farmacêutico afeto ao Setor de Aquisições e Logística efetua um pedido de compra que envia informaticamente aos Serviços de Logística Hospitalar, estes por sua vez emitem uma nota de encomenda que será validada pelo Conselho de Administração e remetida novamente ao Serviço de Logística Hospitalar para envio ao fornecedor.

A aquisição de gases medicinais para utilização no Hospital do Fundão é realizada pelos SF do CHUCB. Os pedidos são, no entanto, realizados por quadros de 12 garrafas de um mesmo código do produto.

Os gases medicinais acondicionados em cisterna são controlados por um sistema de medição de níveis por telemetria, sendo realizada a comunicação telefónica ao fornecedor com as necessidades de reposição, e depois da receção dos gases é enviado aos SF uma guia de remessa e certificado de análises para que seja validado o produto recebido, a marca, o código, o número de unidades, a quantidade em Litros, o lote e validade. Depois de validado é realizado um pedido de compra tendo em conta a quantidade rececionada. A emissão de nota de encomenda é realizada do modo anteriormente descrito. Os certificados de análise são arquivados em arquivo próprio para o efeito.

O consumo de gases medicinais é realizado mensalmente imputando-se a cada serviço um determinado número de litros de gás dependendo da percentagem de camas e necessidades do dito serviço.

## **4. Farmacotecnia**

Nos últimos 25 anos, assistimos a uma mudança de paradigma não só do papel do farmacêutico nos hospitais como das suas funções, sendo que atualmente são poucos os medicamentos produzidos ou reconstituídos em contexto hospitalar. As preparações farmacêuticas atualmente preparadas destinam-se essencialmente a doentes individuais e específicos, como é o caso de formulações pediátricas, reembalagem de doses unitárias sólidas, preparações asséticas e preparações estéreis ou citotóxicas individualizadas [1].

Apesar de serem preparados menos medicamentos em contexto hospitalar, os requisitos de segurança e eficácia são cada vez mais exigentes e necessários para garantir não só a segurança do doente, mas também a do operador. Para que isto aconteça, o CHUCB dispõe de procedimentos e protocolos padronizados que são regularmente atualizados, e os farmacêuticos realizam formações frequentes.

O Setor de Farmacotecnia do CHUCB é composto por várias áreas de produção e manipulação. A sala preparação de estéreis é composta por uma zona de armazenamento de material clínico, o armazém 13, uma zona de validação farmacêutica, uma de arquivo em papel e dois sistemas modulares de salas limpas *Misterium*, um destinado à preparação de

nutrição parentérica e outras preparações estéreis, e um à manipulação e preparação de medicamentos citotóxicos, anticorpos monoclonais e outros fármacos para tratamento oncológico. As salas *Misterium* são compostas por uma pré-sala e uma sala de trabalho.

Neste setor existe ainda um laboratório de farmacotecnia onde é realizada a preparação de manipulados não-estéreis e água purificada, e uma sala de reembalagem de medicamentos.

O Setor da Farmacotecnia realiza, à semelhança dos restantes setores, farmacovigilância dos fármacos Nivolumab e Pembrolizumab.

Alguns fármacos utilizados neste setor requerem autorização da CFT para que possam ser prescritos, é o caso da Azacitidina, Bevacizumab, Bortezomib, Cladribina, Nivolumab, Pembrolizumab, Rituximab, Transtuzumab, Vinflunina.

Durante o meu estágio nesta secção participei na reestruturação do sistema de arquivo em papel, otimizando assim a procura de informação relativa aos protocolos de administração de citotóxicos de cada doente. Neste setor tive ainda a oportunidade de observar e auxiliar nas atividades a seguir descritas.

#### **4.1.Preparação de nutrição parentérica**

O estado nutricional do doente pode condicionar a evolução patológica e o êxito da terapêutica e por este motivo, a utilização de nutrição artificial pode ser considerada uma terapêutica segura e eficaz [26].

A nutrição artificial consiste no aporte de macronutrientes, como proteínas, hidratos de carbono e lípidos, e micronutrientes como os eletrólitos, oligoelementos e vitaminas, de modo adequado para a manutenção ou correção do estado nutricional do doente [26].

A nutrição parentérica é constituída por uma fonte proteica composta por aminoácidos essenciais à síntese proteica somática e visceral, pelos hidratos de carbono que constituem a principal fonte calórica e pelos lípidos que são administrados sob a forma de emulsões que podem conter misturas de triglicéridos de cadeia média e/ou longa [26].

A nutrição parentérica de média a longa duração provoca um aumento na deficiência de eletrólitos, oligoelementos e vitaminas devido ao anabolismo proteico sendo que os eletrólitos devem ser administrados diariamente em doses de manutenção ou terapêuticas.

Os oligoelementos de especial importância como o ferro, zinco, manganésio e cobre e as multivitaminas são adicionados durante a reconstituição das bolsas [26].

No CHUCB são prescritos e preparados três tipos de bolsas de nutrição parentérica como é possível verificar no Anexo III. Estas bolsas apresentam composições quantitativas e aporte calórico diferentes. A osmolalidade da preparação condiciona o tipo de veia para realização da administração, sendo que as preparações de maior osmolalidade são administradas exclusivamente em veia central, devido ao risco de tromboflebite e as de menor, em veia periférica ou central.

As bolsas disponíveis no CHUCB são todas compostas por três compartimentos selados que separam a solução de glicose monohidratada, a solução de aminoácidos com eletrólitos e a emulsão lipídica. Estas devem ser preparadas em condições estéreis para garantir a segurança do doente, e por isso a sua reconstituição e aditivação é realizada num dos sistemas modulares *Misterium* existente no Setor de Farmacotecnia.

O sistema modular de salas limpas *Misterium* é constituído por duas zonas, uma pré-sala onde o operador efetua a higienização e desinfeção das mãos e se equipa e uma sala de preparação onde existe uma Câmara de Fluxo de ar Laminar Horizontal (CFLH) onde se procede à preparação das bolsas de nutrição parentérica.

Para garantir a esterilidade ambas as zonas do sistema *Misterium* possuem pressão positiva relativamente à pressão atmosférica, garantindo que as partículas contaminantes não entrem na sala de preparação. A CFLH contém ainda um filtro HEPA (*High efficiency particulate air*) que filtra todo o ar circulante na zona de preparação e origina uma pressurização positiva que garante a esterilidade microbiológica das preparações. A temperatura neste sistema deve ser inferior a 25°C para garantir as boas condições de manipulação.

O farmacêutico deve ligar o sistema modular de salas limpas 20 a 30 minutos antes da manipulação assegurando que a pressão na sala de preparação se encontra entre 3 a 4 mmH<sub>2</sub>O, a pressão da pré-sala entre 1 a 2 mmH<sub>2</sub>O e a temperatura é inferior a 25°C, registando diariamente estas informações em impresso próprio.

O processo é iniciado com uma prescrição médica informática que é confirmada com os respetivos serviços e validada pelo farmacêutico afeto ao setor. Depois disto o farmacêutico

garante todas as condições necessárias à preparação. Caso o material de manipulação ou as bolsas não se encontrem disponíveis no armazém 13 é realizado um pedido ao armazém 10 que é entregue por um AO ao setor de Farmacotecnia.

As bolsas são retiradas do invólucro protetor e são ordenadas por doente. Reunido todo o material o farmacêutico procede ao levantamento do lote e número de série da bolsa, quando aplicável, e lotes de todos os aditivos, emitindo uma ficha de preparação relativa a cada bolsa e dois rótulos, um impresso juntamente com a ficha de preparação e um em papel autocolante que será colado no saco fotoprotetor que envolverá a bolsa, identificando-a inequivocamente quanto ao doente a que se destina e à composição. Ambos os rótulos devem conter o nome do doente e destacado a cor diferente a via de administração da bolsa.

O sistema *Misterium* contém um *transfer* de dupla porta com um mecanismo de duplo encravamento que impede a abertura simultânea de ambas as portas, interna e externa. O farmacêutico coloca neste *transfer* os materiais necessários à preparação, como as bolsas, seringas, agulhas, compressas esterilizadas e ampolas de aditivos, sem perturbar o ambiente assético e a pressurização da câmara.

Depois disto o farmacêutico entra na pré-sala e coloca protetores de sapatos, touca e máscara, procede à lavagem das mãos e secagem das mesmas, coloca uma bata descartável esterilizada, realiza a desinfecção das mãos com solução alcoólica e coloca luvas esterilizadas. Devidamente equipado o farmacêutico entra na sala de preparação desinfeta a câmara com álcool isopropílico estéril a 70% e coloca o material necessário dentro da câmara.

A reconstituição e aditivação das bolsas deve ser realizada segundo as indicações do fornecedor. No caso das bolsas *SmofKabiven*® é enrolado e pressionado o compartimento com a solução de glucose para que seja quebrado o selo e ocorra mistura com a solução de aminoácidos, de seguida é pressionado o compartimento contendo a emulsão lipídica e homogeneização. Posteriormente é retirada a tampa branca da porta de adição e adicionados os oligoelementos e multivitaminas lipo e hidrossolúveis por auxílio de seringas e uma homogeneização final.

Por outro lado, na *NuTRIflex*® realiza-se a mistura da solução de glucose com a solução de aminoácidos pressionando o compartimento da glucose, homogeneiza-se a mistura, adicionam-se os oligoelementos pela porta de adição com tampa vermelha, e pressiona-se o

compartimento dos lípidos seguido de nova homogeneização, e adição de multivitaminas lipo e hidrossolúveis e uma homogeneização final.

Concluída a preparação procede-se a um controlo de qualidade, inspecionando a integridade física da embalagem, verificando a ausência de partículas em suspensão e a inexistência de precipitados ou separações de fases. A bolsa é colocada no *transfer* e o material é descartado adequadamente. O farmacêutico sai da sala e retira o equipamento pela ordem contrária em que foi colocado, higienizando as mãos no final do processo.

A bolsa é validada e é confirmado o rótulo, e caso tudo esteja conforme é embalada num saco fotoprotetor de alumínio rotulado e armazenada em câmara frigorífica até ao seu transporte para o serviço a que se destina.

Após reconstituição as bolsas possuem aproximadamente 6 a 7 dias de estabilidade se armazenadas no frio e 24 h a 48 h à temperatura ambiente, dependendo das especificações de cada laboratório (Anexo III).

Caso uma bolsa seja preparada e não seja utilizada, esta poderá ser reenviada aos SF, e caso se encontre dentro do prazo de utilização e conforme o controlo de qualidade supramencionado poderá ser reaproveitada para outro doente, procedendo-se a nova rotulagem, imputação da bolsa em nome do doente final e alteração da ficha de preparação da bolsa.

Às sextas-feiras são preparadas bolsas para 3 dias, sendo armazenadas por dias na câmara frigorífica, correspondendo a primeira prateleira a sexta-feira, a intermédia ao sábado, e a última prateleira a domingo.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de acompanhar e realizar a reconstituição e aditivção das bolsas *SmofKabiven®* e *NuTRIiflex Lipid peri®* sob supervisão farmacêutica. Como me encontrei neste setor na semana de ano novo, na segunda-feira foram preparadas bolsas correspondentes aos dias 30, 31 de dezembro e 1 de janeiro, e na sexta-feira procedeu-se à preparação de bolsas para sexta-feira, sábado e domingo.

## 4.2.Reconstituição de fármacos citotóxicos

Os SF dispõem de uma Unidade Centralizada para a Preparação de Citotóxicos (UCPC), onde são preparados todos os citotóxicos injetáveis administrados no CHUCB, proporcionando um local seguro e estéril para a manipulação deste tipo de preparações [15].

Esta unidade centralizada, encontra-se localizada na sala de preparações de estéreis do Setor de Farmacotecnia e, conta com um sistema modular de salas limpas *Misterium* semelhante ao sistema anteriormente descrito.

O sistema *Misterium* utilizado é composto por uma pré-sala e uma sala de preparação de citotóxicos injetáveis onde existe uma Câmara de Fluxo de ar Laminar Vertical (CFLV). Este tipo de câmara confere proteção ao produto, ao operador e ao ambiente externo por possuir dois filtros HEPA que filtram, respetivamente, o fluxo de ar descendente que entra na zona de trabalho e o ar expulso da câmara para o exterior.

O farmacêutico deve iniciar o sistema 30 minutos antes da manipulação assegurando que a pressão na sala de preparação se encontra inferior a 0 mmH<sub>2</sub>O, a pressão da pré-sala superior a 1 mmH<sub>2</sub>O e a temperatura é inferior a 25°C, registando diariamente estas informações em impresso próprio. A sala de preparação de citotóxicos deve ser mantida a uma pressão negativa, contrariamente ao descrito para a sala de preparação de nutrição parentérica, para que no caso de derrame as partículas de citotóxicos fiquem confinadas à sala de preparação.

O processo é iniciado com uma prescrição médica informática que é confirmada diariamente pelos respetivos serviços. O processo de produção apenas é iniciado após telefonema por parte da equipa de enfermagem com confirmação de que o doente se encontra no Hospital de Dia e que as análises clínicas permitem a continuação do tratamento.

Um dos objetivos de qualidade deste setor é a monitorização do tempo de preparação e entrega de citotóxicos, e para isso a hora do telefonema é registada e é contabilizado o tempo que decorre desde a confirmação até à entrega do produto que idealmente deve ser inferior a 2 h.

Depois disto o farmacêutico valida a prescrição, verificando se o protocolo é adequado à patologia, o número e dia do ciclo e se as doses estão corretas em função dos parâmetros do doente, peso, altura, sexo, creatinina sérica. Durante o meu estágio auxiliei no cálculo da

posologia adequada calculando a superfície corporal pelo método de Du Bois que tem em conta o peso e altura do doente.

O farmacêutico procede à impressão em duplicado do formulário do citotóxico onde consta a identificação do serviço e do doente, os dados do doente, o protocolo prescrito e periodicidade, descrição de toda a medicação a preparar, dosagens, via, ordem e tempo de administração, designação e volume do solvente de diluição do citotóxico e identificação do médico prescriptor. É impresso ainda um rótulo com as mesmas informações do formulário e informações sobre a preparação, estabilidade e conservação. Neste rótulo é sublinhada a palavra “Citotóxico” para que se destaque.

A administração de fármacos citotóxicos injetáveis provoca na grande maioria das vezes efeitos secundários. Por este motivo os protocolos contêm fármacos usados como pré-medicação, para administração prévia à infusão com citotóxicos.

Esta pré-medicação é constituída por antieméticos como Ondansetrom e Metoclopramida, fármacos para minimizar as reações de hipersensibilidade como os anti-histamínicos H1 e H2, a Clemastina e Ranitidina e corticosteroides como a Dexametasona. No caso de tratamento com fármacos que provoquem estimulação colinérgica são administrados anticolinérgicos, por exemplo a atropina. Por vezes são administrados fármacos que garantam a eliminação do fármaco por aumento do débito urinário como a Furosemida, e no caso de o doente apresentar um estado de agitação ou ansiedade, poderá ser administrado Lorazepam.

Garantidas todas as condições necessárias à preparação, é ligada a CFLV e reunido o material necessário e os fármacos certos nas quantidades descritas no protocolo. Caso o material de manipulação não se encontre disponível no armazém 13 é realizado um pedido ao armazém 10. Procede-se então ao registo de todos os lotes, validades e quantidades de fármacos, solventes, filtros, e bombas a utilizar.

O material para a preparação de medicação de um doente é colocado num tabuleiro metálico e transferido para o *transfer* do sistema modular, tal como acontece na preparação de nutrição parentérica, anteriormente descrita.

Depois disto, o farmacêutico entra na pré-sala e coloca protetores de sapatos, touca e máscara, procede à lavagem das mãos e secagem das mesmas, coloca uma bata descartável

esterilizada, realiza a desinfecção das mãos com solução alcoólica e coloca luvas esterilizada, um par por baixo da bata, e um par de luvas própria para manipulação de citotóxicos por cima da bata. Devidamente equipado o farmacêutico entra na sala de preparação desinfeta a câmara e coloca o material necessário dentro da câmara.

A manipulação dentro da câmara deve ser realizada segundo um determinado sentido, colocando o material e medicamentos a utilizar de um lado e o material já utilizado e que deve ser retirado da câmara do outro, para evitar possíveis erros ou derrames. Deve ser sempre garantida a técnica assética durante todo o processo, procedendo-se à desinfecção das superfícies das ampolas e frascos e locais de inserção de agulhas com álcool isopropílico estéril a 70%.

Sempre que possível, devem utilizar-se filtros hidrófobos para diminuir a sobrepressão dentro dos frascos, conexões “*luer-lock*” nas seringas para diminuir o risco durante a manipulação, *spikes* para facilitar a reconstituição e aspiração do fármaco e seringas de volume superior ao necessário. Os materiais devem ser utilizados apenas para um princípio ativo de cada marca e descartados após manipulação.

Caso um frasco contendo um fármaco com estabilidade de algumas horas não seja utilizado na íntegra, este será colocado à parte na CFLV para posterior utilização no mesmo dia, evitando-se assim desperdícios e aumentando a racionalização de custos.

As seringas que contêm citotóxicos devem ser devidamente fechadas com obturador plástico, e os frascos ou sacos com citotóxicos diluídos devem conter um sistema de administração.

Após reconstituição e diluição do citotóxico este é envolto em papel de alumínio, no qual é colado o rótulo anteriormente mencionado. O produto final é colocado no *transfer* e antes de ser acondicionado em saco de plástico transparente é etiquetado com sinalética de segurança em função da sua agressividade tecidual, podendo ser classificado como neutro/não agressivo, irritante ou vesicante. Depois de validado, o citotóxico é colocado dentro de um saco próprio para transporte de citotóxicos “*Codan Cyto Chemoprotect*” e é enviado para os serviços em mala térmica disponível exclusivamente para o efeito e devidamente sinalizada com “Transporte de citotóxicos”.

O AO que transporta o citotóxico deve levar consigo um dos duplicados da prescrição médica para que seja assinado pelo enfermeiro do serviço, com a hora a que recebeu a medicação e devolvido aos SF para arquivo. Dentro do saco procede também um dos duplicados do protocolo do doente para consulta aquando da administração.

Após conclusão do trabalho realiza-se uma nova limpeza da câmara e o farmacêutico sai da sala de preparação, retira o material de proteção e higieniza as mãos. O sistema modular é mantido em funcionamento durante 20 minutos para estabilizar e garantir a esterilidade do espaço.

Durante o meu estágio neste setor pude observar a preparação de vários protocolos de fármacos citotóxicos resumidos no Anexo IV. Incluo também neste anexo fármacos que apesar de não serem citotóxicos necessitam de ser preparados nas mesmas condições como é o caso da Alfaglicosidade Alfa. São ainda produzidas preparações oftálmicas de cefuroxima para profilaxia durante a cirurgia às cataratas, sempre que necessário.

Realizei diariamente a conferência de rótulos, preparação de pré-medicação, rotulagem com sinalética de segurança, acondicionamento do citotóxico e terminando com o pedido a um AO para transporte dos fármacos até aos serviços requisitantes.

Colaborei ainda no levantamento dos protocolos dos doentes previstos para a semana seguinte, de modo a poderem ser realizadas estimativas de consumo de medicamentos e impedindo a rotura de *stocks*.

#### **4.2.1. Procedimento em caso de derrame de citotóxicos**

Tendo em conta o potencial de perigosidade dos citotóxicos todos os profissionais que os manuseiam devem saber como proceder em caso de exposição acidental. Por este motivo, tive a oportunidade de participar numa formação sobre o procedimento em caso de derrame de citotóxicos durante o meu estágio.

Nos SF do CHUCB existem *kits* para contenção de derrames no interior da sala limpa de preparação de citotóxicos, na sala de preparação de estéreis, no armazém central e na área de receção de medicamentos.

Este *kit* encontra-se de acordo com o Manual de Preparações de Citotóxicos da OF, contendo equipamento de proteção individual (EPI) composto por bata impermeável, com frente

fechada, mangas compridas e punhos elásticos, máscara de proteção respiratória (P3), luvas apropriadas para manusear citotóxicos, óculos de segurança, touca, protetor de sapatos. Para além disto contem ainda material para recolha do produto como é caso de material para demarcação do local, contentor rígido amarelo para cortantes, pá e pinça, compressas e resguardos absorventes, saco de plástico espesso vermelho, solução de irrigação de cloreto de sódio a 0,9%, e por fim detergente alcalino para neutralização dos resíduos citotóxicos.

Perto das zonas de armazenamento dos *kits* existem irrigadores de olhos de emergência.

Todo o material corto-perfurante utilizado na manipulação destes fármacos deve ser colocado numa *biobox*, um contentor rígido estanque desenvolvido para este fim, que será colocado num saco de plástico vermelho identificado com “Lixo Citotóxico”. Todo o material não cortante deve ser colocado nestes mesmos sacos.

### **4.3. Controlo microbiológico**

Para controlar microbiologicamente as preparações e meio envolvente são realizados controlos microbiológicos regulares garantindo assim a segurança de todas as preparações e consequentemente a segurança do doente.

O controlo microbiológico, nomeadamente o número de ensaios microbiológicos negativos sobre o número total de ensaios realizados constituiu um indicador de qualidade do Setor de Farmacotecnia.

São realizados quatro tipo de ensaios de controlo, o controlo do produto, de superfície, de “dedadas de luvas” e o controlo de ar passivo das camaras de fluxo de ar laminar e salas limpas. Todos estes ensaios são realizados na sala de preparação de citotóxicos e na sala de preparação de nutrição parentérica. O ensaio de controlo do produto é realizado semanalmente, o controlo de ar ativo semestralmente e os restantes são efetuados quinzenalmente.

No caso da nutrição parentérica, são recolhidas amostras de uma bolsa reconstituída, mas tendo em conta a perigosidade dos citotóxicos é preparada uma amostra de água com cloreto de sódio a 0,9% segundo as mesmas condições de preparação de um citotóxico injetável.

No ensaio de superfície, é recolhida uma amostra com o auxílio de uma zaragatoa embebida em meio de cultura em duas zonas da câmara de fluxo, uma zona fixa central, e uma zona

variável quinzenalmente. São ainda recolhidas amostras mensalmente, com locais diferentes por rotatividade, de uma parede de cada sala de preparação.

Para avaliar as “dedadas de luvas” o operador pressiona os dedos, com luva de cada mão, numa placa de gelose de sangue que é enviada para análise.

Por fim, o controlo de ar passivo consiste em colocar 4 placas contendo meio de cultura durante 4 horas no interior da câmara de fluxo e na sala limpa no exterior da câmara. Para cada amostra são utilizadas duas placas, uma que fica aberta para deposição de partículas, e uma fechada para controlo negativo.

Após a recolha as amostras, são identificadas e enviadas para o laboratório de patologia clínica para análise.

Durante o meu estágio observei e auxiliei na realização dos ensaios referidos, sendo que no controlo de produto e superfície se registaram resultados positivos, tendo os ensaios sido repetidos após limpeza exaustiva de todas as áreas. Foi ainda garantido que o doente a quem foi administrada a bolsa parentérica que serviu de amostra se encontrava bem e sem sinais de infeção. Os resultados foram comunicados à Comissão de Controlo de Infeção.

#### **4.4.Preparação de formas farmacêuticas não estéreis**

As Formas farmacêuticas Não Estéreis (manipulados) são regulamentadas pelo Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril e Portaria n.º 594/2004, de 2 junho, que descrevem as “Boas Práticas a Observar na Preparação de Medicamentos Manipulados em Farmácia de Oficina e Hospitalar” [27], [28].

Nos SF do CHUCB a preparação de manipulados é realizada por um TSDT, com a supervisão e validação de um farmacêutico, no Laboratório de Farmacotecnia próprio e exclusivo para este fim.

Neste laboratório, o material utilizado na manipulação de preparações de uso interno e uso externo encontra-se dividido, existindo armários e materiais destinados às diferentes formulações, devidamente assinalados com “uso interno” com cor verde, e “uso externo” a vermelho. A limpeza das áreas também é realizada de modo separado e caso seja preciso preparar um manipulado de uso interno e um de uso externo, o de uso interno deve ser

realizado primeiro. Esta separação garante a segurança do doente ao prevenir contaminações cruzadas.

Dentro dos armários do laboratório, as matérias-primas encontram-se armazenadas segundo compatibilidade química para em caso de derrame, ou erro de manipulação, não ocorram acidentes graves. Os produtos inflamáveis são armazenados em área específica anteriormente mencionada.

A preparação de manipulados começa com uma prescrição médica, ou um pedido de um serviço clínico ou um setor dos SF. Caso se trate de uma prescrição médica, esta deve ser validada por um farmacêutico e remetida para o laboratório de farmacotecnia. Os SC podem ainda realizar o pedido de preparações destinadas para fins diagnóstico ou laboratoriais, que são preparados em dias específicos da semana para cada serviço para aumentar a eficiência da reposição.

Depois do envio ao laboratório de farmacotecnia o TSDT afeto ao setor procede à validação da requisição e respetivas quantidades a preparar e gera uma guia de produção. Posteriormente, é emitida uma ficha de preparação e um rótulo em duplicado, um para anexar à ficha de preparação e um para rotular a embalagem do manipulado. A ficha de preparação contém informação referente a todas as matérias-primas a utilizar, local para registo do lote, prazo de validade e origem das matérias-primas, assim como uma descrição de toda a técnica de preparação e os ensaios de verificação a realizar para a preparação em causa.

Antes de iniciar o processo de manipulação, deve verificar-se o estado e limpeza do laboratório, do material e dos equipamentos a utilizar, assim como a existência de todo o material e equipamento necessário para a realização da formulação. O operador deve estar devidamente equipado com touca, máscara, bata, e luvas para garantir que não haja contaminação da preparação.

As pesagens e medições de volume devem ser efetuadas pelo farmacêutico ou supervisionadas pelo mesmo. O farmacêutico deve validar qualquer cálculo que seja necessário realizar.

A preparação propriamente dita deve ser realizada segundo a ficha de preparação e no final devem ser realizados ensaios de verificação de qualidade. A verificação das características

organoléticas é de cariz obrigatório em todas as preparações, e a determinação de pH é obrigatória no caso de administração oral ou otológica. Devido à inexistência de um medidor de pH digital este parâmetro é considerado como desconhecido.

Após finalização da preparação esta deve ser embalada segundo as especificações descritas na ficha de preparação. Os frascos de vidro âmbar utilizados são esterilizados pela Central de Esterilização do CHUCB, onde são atribuídos prazos de validade de garantia de esterilidade, data e referência. Sempre que possível deve ser realizado um registo da data de validade e lote de esterilização do material de embalagem.

Depois de acondicionado, deve ser colado na embalagem um rótulo que contém a identificação do doente (se aplicável), o serviço clínico, condições de conservação, validade do manipulado, via de administração, precauções e cuidados, entre outras informações. Caso o manipulado seja de uso externo este deve ser sinalizado com um autocolante de fundo vermelho com “uso externo” para evitar erros de administração.

As preparações que se destinem aos SC para fins laboratoriais ou de diagnóstico, devem ser identificadas com pictogramas relativos ao grau de toxicidade.

O farmacêutico deve supervisionar toda a preparação de manipulados e validar o processo de produção, desde a receção das matérias-primas e registo das mesmas em impresso próprio, até ao momento em que o produto é enviado para distribuição, após validação da sua conformidade. As matérias-primas devem satisfazer as exigências da monografia correspondente da Farmacopeia Portuguesa ou Farmacopeia Europeia e devem ser sempre acompanhadas de boletim de análise de matérias-primas que é arquivado neste serviço para fins de controlo de qualidade.

Durante o meu estágio acompanhei o processo de validação e supervisão da preparação de manipulados, e colaborei ainda na preparação de manipulados não estéreis para o Serviço de Neonatologia, nomeadamente uma Solução de Sacarose a 24% (m/V), um Xarope de Cafeína Anidra a 1% e uma Solução de Hidrato de Cloral a 10%.

#### **4.5. Produção de água purificada**

Para produzir água purificada deve submeter-se água a operações de purificação para remover contaminantes tornando-a apropriada para utilização farmacêutica.

No laboratório de Farmacotecnia existe um purificador de água *Micromeg*® utilizado para a produção de água purificada para preparações de uso externo, e para distribuição pelos SC caso necessário. Apesar desta purificação não pode ser garantido o grau de segurança exigido para a preparação de injetáveis.

A água é preparada diariamente em quantidade adequada às necessidades do serviço, não devendo ficar armazenada mais de 24h. Sempre que é usado o purificador deve ser preenchido um registo com a data, hora, volume extraído, verificação da bateria e da qualidade da água e assinatura do preparador

Anualmente é realizado um controlo microbiológico por um laboratório externo para verificar a qualidade dos filtros.

#### **4.6.Reembalagem de medicamentos**

A reembalagem e rotulagem de medicamentos orais sólidos realizada nos SF do CHUCB é efetuada de modo a assegurar a segurança e qualidade de medicamentos orais sólidos em embalagens multidose ou que não sejam comercializados pela indústria nas doses necessárias. Estes medicamentos destinam-se ao sistema de distribuição em dose unitária e aos doentes em regime ambulatorio.

Este processo permite que se administre a dose prescrita, de forma individualizada, com identificação completa e fácil de perceber do medicamento, numa embalagem pronta a administrar sem necessitar de outras manipulações por parte do doente ou prestador de cuidados de saúde. A reembalagem protege ainda o medicamento dos agentes ambientais [1].

A reembalagem de medicamentos permite reduzir o tempo dedicado à preparação de medicamentos, os erros de administração, diminuir a possibilidade de contaminações cruzadas e reduzir o desperdício.

Nos SF do CHUCB existe uma Sala de Reembalagem composta por uma área de fracionamento e desblisteramento, uma área de medicamentos reembalados não conferidos e uma de medicamentos reembalados conferidos, e ainda um arquivo. Esta sala dispõe de um sistema automático de reembalagem denominado *Fast Dispensing System* (FDS) e uma Máquina Semiautomática de Reembalagem (MSAR).

O FDS permite a preparação mais rápida da medicação individual em dose unitária. Neste sistema são embalados apenas comprimidos e cápsulas não fotossensíveis e não termolábeis. É embalado apenas um princípio ativo de um lote de cada vez para evitar erros. Caso sejam embalados comprimidos divididos deve ser adicionado um pictograma, identificativo do tipo de fração, à embalagem final.

A MSAR é utilizada para formas orais sólidas fotossensíveis, citotóxicos orais inteiros e comprimidos divisíveis.

O processo de reembalagem é realizado por um TSDT devidamente equipado com máscara, touca, bata e luvas, que procede à limpeza da área de desblisteramento com álcool a 70%, retira os fármacos dos *blisters* ou frascos e os fraciona caso necessário. Depois disto procede à desinfecção do FDS ou MSAR antes de introduzir os fármacos e iniciar o processo de reembalagem. É atribuída uma validade de reembalamento de 6 meses ao medicamento, expeto nas situações em que a validade original seja inferior a esse período, e nesse caso a validade atribuída é a original.

Seguidamente, o TSDT procede à impressão e rotulagem das mangas da MSAR, sendo que no FDS a rotulagem é automática. No caso de embalamento de comprimidos fracionados é necessário proceder à rotulagem com pictogramas coloridos para minimizar o risco de erros de administração, sendo a cor verde destinada a 1/4 ou 1/3, a cor amarela para 1/2 e a cor vermelha para 2/3 de comprimido.

O TSDT realiza o registo dos carregamentos em impresso próprio e é responsabilidade do farmacêutico validar o carregamento do FDS e MSAR, verificar as mangas com medicamentos reembalados para detetar possíveis falhas, analisar e validar todos os elementos do rótulo.

O farmacêutico analisa ainda os impressos verificando se o princípio ativo, forma farmacêutica, dosagem, laboratório, fornecedor, quantidade, lote e validade do medicamento se encontram conforme o descrito no impresso e anexa ao mesmo as cartonagens dos medicamentos embalados, e uma amostra da embalagem do FDS ou rótulo para as embalagens pela MSAR, para futura comprovação de conformidade. Caso se detete uma não conformidade esta é registada e corrigida. Monitorizar as não conformidades na reembalagem do FDS e MSAR constitui um indicador de qualidade deste setor.

Durante o meu estágio nesta área auxiliei na verificação e validação da reembalagem e colaborei no processo de reembalamento utilizando a MSAR de Furosemida 20 mg e Clonazepam 0,5 mg comprimidos fracionados em metades e Levodopa + Benserazida 100 mg + 25mg comprimidos.

## **5. Informação de medicamentos**

A área farmacêutica obriga a uma constante atualização e procura de informação relativamente a novas patologias, novos medicamentos e novas terapêuticas sendo responsabilidade do farmacêutico facultar ao doente informação sucinta e relevante sobre os tratamentos disponíveis.

A informação sobre medicamentos pode ser facultada a outros profissionais de saúde na sequência de questões colocadas ao serviço farmacêutico, tratando-se nesse caso de informação passiva [1]. Durante o meu estágio presenciei esta troca de conhecimentos relativamente a interações farmacológicas, posologias e indicações terapêuticas. Tive ainda a oportunidade de auxiliar as farmacêuticas na procura de informação, nomeadamente sobre a administração de vacinas profiláticas em contexto de saúde do viajante, tempos até atingir imunidade e interação com outros fármacos.

Por outro lado, a informação ativa é aquela que é elaborada e facultada por iniciativa própria dos SF, quando é detetada uma necessidade de esclarecimento aprofundado sobre um medicamento ou patologia [1]. São exemplos desta informação todos os documentos disponibilizados na intranet do CHUCB aos profissionais de saúde, bem como os folhetos informativos entregues aos doentes no momento da dispensa de medicamentos em regime de ambulatório.

Com o progresso científico e aumento dos conhecimentos é extremamente importante que a informação seja validada e atualizada periodicamente. Durante o meu estágio no Setor Ambulatório validei e atualizei 23 folhetos informativos realizados há 3 anos, e elaborei um novo folheto informativo sobre “Nutrição e Insuficiência Renal Crónica”, tendo assim colaborado ativamente para a conformidade do indicador de qualidade do Setor Ambulatório “Atualizar os folhetos informativos para fornecer ao doente aquando da dispensa”.

## 6. Farmacovigilância

A Farmacovigilância é a ciência e conjunto de atividades relacionados com a detecção, avaliação, compreensão e prevenção de efeitos indesejáveis ou reações adversas, ou qualquer outro problema de segurança relacionado com os medicamentos, que tem como objetivo melhorar a segurança dos medicamentos, promovendo a saúde do utente e em última instância a Saúde Pública [17].

O Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF) monitoriza a segurança dos medicamentos com autorização de introdução no mercado nacional, avaliando eventuais problemas relacionados com reações adversas a medicamentos e implementando medidas de segurança sempre que necessário [17]. A notificação de uma reação adversa deve ser feita logo que possível desde que haja suspeita de ocorrência da reação e pode ser realizada por qualquer profissional de saúde ou cidadão através do Portal RAM – Notificação de Reações Adversas a Medicamentos do INFARMED [17].

Entende-se por farmacovigilância ativa a intervenção farmacêutica pró-ativa de monitorização de determinados fármacos junto dos doentes, realizando entrevistas e seguimentos terapêuticos personalizados.

A farmacovigilância ativa é realizada em Medicamentos Sujeitos a Monitorização Adicional que se encontram introduzidos no mercado, mas sobre os quais ainda não existem dados de segurança robustos, e fármacos que são introduzidos *de novo* no guia fármaco-terapêutico do hospital, registando-se efeitos secundários experimentados pelo doente, parâmetros analíticos, alterações ao esquema posológico e alterações a outras terapêuticas. Em caso de reações adversas estas são reportadas ao INFARMED no Portal RAM [29].

Nos SF do CHUCB existe um impresso onde podem ser realizados registos relativos à farmacovigilância ativa. A monitorização do acompanhamento das terapêuticas e a interligação com os serviços constitui um objetivo de qualidade de farmacovigilância.

Durante o meu estágio acompanhei a ida ao Hospital de dia aquando da administração de Ocrelizumab a um doente, onde observei a interação farmacêutico-doente e o registo de informação relevante, do qual resultou uma reportação de reação adversa ao medicamento ao INFARMED.

## **7. Participação do farmacêutico em ensaios clínicos**

Um ensaio clínico pode ser definido segundo a Lei nº 21/2014 de 16 de abril, alterada pela Lei nº 73/2015 de 27 de julho, como “qualquer investigação conduzida no ser humano, destinada a descobrir ou a verificar os efeitos clínicos, farmacológicos ou outros efeitos farmacodinâmicos de um ou mais medicamentos experimentais, ou a identificar os efeitos indesejáveis de um ou mais medicamentos experimentais, ou a analisar a absorção, a distribuição, o metabolismo e a eliminação de um ou mais medicamentos experimentais, a fim de apurar a respetiva segurança ou eficácia” [30], [31].

É necessário que os ensaios clínicos sejam aprovados pelo INFARMED e obtenham um parecer positivo da Comissão de Ética para a Investigação Clínica e da Comissão Nacional de Proteção de Dados [30], [31].

No CHUCB são realizados ensaios clínicos sendo que os medicamentos experimentais são armazenados e distribuídos pelos SF de modo separado dos restantes circuitos de distribuição de medicamentos, garantindo assim a segregação dos produtos destinados aos ensaios clínicos [30].

Estão afetas a este setor cinco farmacêuticas a tempo parcial, responsáveis por gerir, rececionar, armazenar, dispensar e proceder à devolução ou destruição dos medicamentos em ensaio, participar nas reuniões de ensaios clínicos e estabelecer procedimentos internos com a equipa do ensaio.

Este setor possui um gabinete próprio para o efeito contendo um armário metálico com fechadura para armazenamento de medicamentos não termolábeis, uma câmara frigorífica onde são armazenados os medicamentos termolábeis e um armário de arquivo.

O armário de armazenamento de medicamentos encontra-se dividido em duas zonas. A zona SEC 1 encontra-se repartida por ensaio clínico devidamente identificado com o nome do ensaio, do promotor, do investigador principal, do medicamento em estudo e comparador. Os fármacos armazenados nesta zona necessitam de um controlo de temperatura e humidade. No mesmo armário na zona SEC 2 são armazenados os medicamentos devolvidos pelos participantes e que aguardam recolha por parte do promotor.

O armário SEC 3 contém a documentação referente aos ensaios clínicos em curso e registos de medição de temperatura, legislação entre outras informações. A documentação referente aos ensaios clínicos já encerrados encontra-se no armário SEC 4 no gabinete do diretor de serviço.

Por fim, são armazenados na câmara frigorífica SEC FRIO todos os medicamentos que necessitem de ser refrigerados entre 2 e 8°C.

A receção da medicação de ensaios clínicos é realizada pelas farmacêuticas responsáveis pelo setor, que acusam a receção assim que são notificadas da sua chegada aos SF. No caso de a medicação ser acompanhada por um equipamento de monitorização contínua de temperatura, *data logger*, este deve ser parado assim que chega ao serviço e a informação contida neste dispositivo deve ser descarregada informaticamente para que se possa verificar se ocorreu algum desvio de temperatura durante o transporte. Cada promotor fornece instruções de como proceder para comunicação das informações relevantes de receção.

Cada ensaio clínico possui um local de armazenamento bem identificado e pré-estabelecido de acordo com as especificações de fabrico. Para que sejam garantidas todas condições de conservação é realizada uma monitorização contínua da temperatura através de uma sonda e caso se verifique um desvio de temperatura este será comunicado ao promotor de cada ensaio, sendo os fármacos colocados em quarentena até que este indique como proceder.

A medicação em ensaios clínicos é prescrita em formulário específico pelo investigador do ensaio. O farmacêutico dispensa a medicação segundo a prescrição e procede ao devido registo de dispensa em formulário próprio e arquivo do mesmo. Dependendo do tipo de medicação esta poderá ser dispensada ao doente, a um enfermeiro ou ao investigador.

O farmacêutico presta ainda esclarecimentos e entrega informação escrita relevante para facilitar a compreensão e promover uma utilização adequada e uniforme do medicamento, cumprindo-se assim o protocolo. É importante que o doente seja informado da importância de aderir à terapêutica e de que deverá devolver todas as embalagens vazias e medicação sobrança na consulta seguinte.

Quando o participante devolve medicação o farmacêutico procede à contabilização da medicação segundo o protocolo, avalia e regista a *compliance* do doente. Esta medicação é então armazenada no SEC 2 até ser recolhida pelo promotor.

Durante o meu estágio procedi à conferência das validades de medicação de três ensaios clínicos diferentes e observei o processo de receção e dispensa de medicação.

## **8. Farmacocinética clínica**

A farmacocinética clínica pode ser definida como o ramo da farmácia hospitalar que visa a correta administração do fármaco decorrente do controlo terapêutico individualizado [1]. A monitorização das concentrações do fármaco, e das funções dos órgãos que participam na eliminação do mesmo permite que sejam administradas as doses ajustadas ao paciente e se minimizem os efeitos adversos derivados de sobredosagem ou a inatividade terapêutica associada à subdosagem [1].

Este processo inicia-se com o pedido de monitorização do fármaco e respetivo preenchimento de um impresso por parte do médico sendo que a monitorização poderá ser sugerida pelo farmacêutico. No CHUCB são atualmente monitorizados três antibióticos a Vancomicina, Gentamicina e Amicacina.

O médico deve requisitar ao laboratório de patologia clínica o doseamento sérico do fármaco em causa e restantes parâmetros analíticos. Dependendo do fármaco em estudo a colheita das amostras deve ser realizada em tempos apropriados para que possam ser inferidas informações relativas à concentração em pico, vale, intermédia, ou estado de equilíbrio estacionário.

Depois de realizadas as análises cabe ao farmacêutico interpretar e validar os parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos através do programa informático *Abbottbase PK System* [15]. Este permite determinar parâmetros farmacocinéticos como volume de distribuição, clearance e tempo de semivida, a partir da altura, peso, idade e creatinina do doente, da dose administrada, datas de administração e concentração sérica do fármaco a uma determinada hora.

A partir das determinações, é possível estimar as concentrações séricas do doente para um determinado período e estabelecer um regime posológico mais adequado que garanta que as

concentrações séricas se mantenham dentro da janela terapêutica e inferiores à concentração mínima.

Depois de realizada a análise farmacocinética o farmacêutico preenche e emite um relatório e contacta o médico prescritor propondo um regime posológico adequado. Constitui um objetivo de qualidade farmacocinética a monitorização da percentagem de propostas aceites

Durante o meu estágio auxiliei na monitorização farmacocinética de doentes a receber terapêutica com Gentamicina e Vancomicina, sendo que as monitorizações revelaram aumento da creatinina, diminuição da função renal e concentrações séricas de fármaco demasiado elevadas, tendo-se procedido a ajustes no intervalo posológico na maioria dos casos. Auxiliei ainda no preenchimento do relatório farmacocinético.

## **9. Visita médica com acompanhamento farmacêutico**

Nos últimos anos o papel do farmacêutico tem evoluído dentro dos hospitais. Atualmente este integra equipas multidisciplinares de profissionais de saúde o que permite melhorar os cuidados oferecidos pelos diferentes serviços. Em doentes crónicos e polimedicados torna-se indispensável a atuação farmacêutica na otimização terapêutica.

Em alguns serviços do CHUCB existem visitas clínicas semanais por parte de uma equipa composta por médicos, um farmacêutico, enfermeiros, um terapeuta da fala e um assistente social. Estas visitas podem ser meramente uma reunião de equipa ou uma visita a cada quarto, onde é exposto de forma breve o caso clínico de cada internamento e futuras intervenções.

Antes de cada visita, o farmacêutico faz o levantamento de toda a medicação do doente e caso detete interações ou duplicações de fármacos, posologias, dosagens ou vias de administração incorretas, delinea possíveis intervenções terapêuticas prevenindo possíveis problemas relacionados com medicamentos.

Durante o meu estágio acompanhei visitas clínicas à Unidade de AVC, Cirurgia 1 e Cirurgia 2 onde as farmacêuticas sugeriram alterações de posologia e via de administração e responderam a questões levantadas por outros profissionais de saúde.

## **10. Comissões técnicas**

As comissões técnicas são órgãos consultivos constituídos por profissionais com qualificações e experiência nas respetivas áreas que apoiam o Conselho de Administração. Estas comissões têm como objetivo assegurar a qualidade dos serviços prestados nos serviços hospitalares.

Devido à presença obrigatória de um farmacêutico na Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT), Comissão de Ética para a Saúde (CES), e Comissão de Controlo de Infecção (CCI), estas serão as únicas contempladas neste relatório, apesar da existência várias comissões no CHUCB.

### **10.1. Comissão de Farmácia e Terapêutica**

A Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) surge no contexto hospitalar como uma estratégia para aumentar o rigor e segurança da dispensa de medicamentos, assim como a sustentabilidade das despesas com terapêuticas. Os objetivos desta comissão são, portanto, a racionalização de custos por uso racional do medicamento, uniformização de critérios de seleção de medicamentos utilizados no CHUCB e garantia da eficácia dos tratamentos disponibilizados.

Ao abrigo do Despacho nº 2325/2017 de março de 2017 a CFT deve ser composta por três médicos e três farmacêuticos, um elemento administrativo, um elemento da logística hospitalar e um gestor da área da saúde. Poderão ainda ser incluídos outros membros consultivos ou executivos. A CFT deve ser presidida pelo Diretor Clínico e a sua composição deverá ser nomeada pelo mesmo, e aprovada pelo Conselho de Administração [32].

A CFT atua como um elo entre os SC e os SF, elaborando protocolos terapêuticos, divulgando normas de orientação clínica, pronunciando-se sobre a terapêutica dos doentes e potenciais correções. Esta comissão potencia o estabelecimento de procedimentos de informação e formação continuada dos profissionais de saúde do CHUCB [32].

É responsabilidade desta comissão elaborar e atualizar o guia fármaco-terapêutico de medicamentos aprovados no CHUCB, garantir o seu cumprimento, assim como emitir pareceres e relatórios sobre todos os medicamentos a incluir ou excluir deste guia. Caso

existam pareceres relativos a medicamentos extra ao FNM, estes são enviados ao INFARMED trimestralmente [32].

A CFT aprecia periodicamente os custos da terapêutica, associados a cada serviço hospitalar e elabora listas de medicamentos de urgência que devem existir obrigatoriamente nos diferentes SC [32].

É ainda de extrema importância o papel da CFT no incentivo à realização de estudos, implementação dos sistemas de farmacovigilância ativa para deteção de potenciais reações adversas e erros de medicação e a monitorização dos novos tratamentos efetuados. Qualquer problema relacionado com a prescrição de medicamentos será enviado à Direção do Hospital [32].

No CHUCB a CFT reúne às quartas-feiras para apreciar pedidos de novos fármacos a incluir no Guia Terapêutico do CHUCB, analisar os custos da terapêutica e confrontar com a eficácia do tratamento e racionalizar a gestão de stocks. As deliberações da CFT são divulgadas no CHUCB através de circulares informativas que são afixadas nos diferentes serviços.

## **10.2. Comissão de Ética para a Saúde**

A Comissão de Ética para a Saúde é regulamentada pelo Decreto-Lei n.º 80/2018 de 15 de outubro, assim como por códigos deontológicos, *guidelines* de boas práticas clínicas e epidemiológicas, legislação e regulamentação e por procedimentos internos do CHUCB [33].

Esta comissão foi criada nos serviços de saúde pública e unidades privadas de saúde, como um órgão de apoio técnico do Conselho de Administração, para garantir a observância dos padrões de ética no exercício das ciências e prática médica e desta forma proteger a dignidade e integridade humana de todos os doentes [33].

A composição da CES é multidisciplinar e deve incluir um número ímpar de membros. É assim constituída por um médico, um enfermeiro, um farmacêutico, um assistente social, um jurista, um psicólogo e um teólogo [33].

As funções da CES abrangem a monitorização dos aspetos de segurança, notificação de qualquer acontecimento adverso grave inesperado e compilação trimestral dos mesmos. Cabe ainda a esta comissão o dever de garantir a realização da revisão anual do regulamento

interno e regulamento geral da investigação no CHUCB assim como a realização de auditorias aos ensaios e estudos clínicos [33].

A CES emite pareceres sobre questões éticas e bioéticas relacionadas com a prestação de cuidados de saúde do CHUCB e divulga estes pareceres com os restantes profissionais do CHUCB. No final de cada ano civil a CES elabora um relatório de atividades que é enviado ao Conselho de Administração do CHUCB [33].

A Comissão de Ética para a Investigação Clínica (CEIC), um órgão independente que garante a proteção dos direitos e a segurança dos participantes em ensaios clínicos poderá solicitar à Comissão de Ética para a Saúde que emita um parecer sobre os ensaios clínicos e estudos clínicos com dispositivos médicos, ensaios de diagnóstico e terapêutica e técnicas experimentais que envolvam seres humanos ou produtos biológicos humanos. A CES realiza ainda auditorias aos ensaios e estudos clínicos comunicando todas as não conformidades detetadas aos responsáveis pelo estudo [33].

### **10.3. Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistências aos Antibióticos (GCL-PPCIRA)**

Portugal tem uma prevalência de Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde (IACS) superior à média Europeia. As IACS dificultam o tratamento dos doentes, aumentam as taxas de morbilidade e mortalidade e consequentemente aumentam o consumo de recursos [20].

Neste sentido o despacho n.º 2902/2013 de 22 de fevereiro no âmbito do Plano Nacional de Prevenção e Controlo da Infeção Associada aos Cuidados de Saúde (PNPCI) determina que existe a necessidade de criação de Comissões de Controlo de Infeção (CCI) nas diferentes unidades de prestação de cuidados, públicas e privadas, surgindo assim Grupos Coordenadores Locais de Prevenção e Controlo da Infeção [34].

O Programa de Prevenção e Controlo de Infeção e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA) resulta da fusão do Programa Nacional de Controlo da Infeção com o Programa Nacional de Prevenção da Resistência Antimicrobiana e tem como objetivo dar resposta à necessidade de uma nova abordagem para controlo das resistências microbianas e IACS [35].

Em cada unidade de saúde deverá existir um Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infecção e de Resistência aos Antimicrobianos (GCL-PPCIRA) que deverá ser composto por uma equipa multidisciplinar incluindo obrigatoriamente médicos, enfermeiros, farmacêuticos e técnicos de saúde ligados a esta área [35].

Compete ao GCL-PPCIRA supervisionar as práticas locais de prevenção e controlo de infeção, o uso adequado de antimicrobianos e a prevenção de resistências antimicrobianas. Este grupo garante ainda o cumprimento dos programas de Vigilância Epidemiológica (VE) e das notificações de microrganismos-problema assim como a prática de locais de isolamento para contenção de agentes multirresistentes. É obrigatória a participação dos diferentes serviços nos programas de VE [35].

Este grupo promove e corrige práticas de prevenção e controlo de infeção como é o caso da higiene das mãos, o uso adequado de equipamento de proteção individual e controlo ambiental [35].

Para promover o uso racional dos antibióticos foi criado o Programa de Assistência à Prescrição Antibiótica (PAPA), sendo incumbência da GCL-PPCIRA garantir a implementação e bom funcionamento da revisão e validação das prescrições nas primeiras 96 horas de terapêutica de pelo menos Carbapenemos e Fluoroquinolonas. Caso se detete o uso de antibióticos em situações sem indicação para tal, ou por tempo superior ao necessário o GCL-PPCIRA poderá determinar a interrupção do tratamento [35]. Por fim as atividades do GCL-PPCIRA deverão ser integradas no plano e relatório anual de atividades da Comissão de Qualidade e Segurança [35].

## **11. Informação e documentação**

Tendo em conta a evolução da informação relacionada com os medicamentos e novas terapêuticas e segundo o artigo 12º do Código Deontológico da OF, os farmacêuticos devem manter atualizadas as suas capacidades técnicas e científicas e assim melhorarem a sua atividade e obrigações profissionais [36].

Neste sentido durante o meu estágio tive a oportunidade de participar na formação interna intitulada “Procedimento de atuação para resolução de acidentes envolvendo citotóxicos” no dia 10 de dezembro de 2019 com duração de 1 h. Tive ainda a oportunidade de participar

numa Sessão Clínica do CHUCB intitulada “Prevenção de Infecções Respiratórias Agudas” no dia 16 de janeiro de 2020 com duração de 1 h.

## **12. Considerações finais e conclusões**

O meu estágio em farmácia hospitalar foi, na sua essência, uma experiência desafiante e muito enriquecedora que me permitiu consolidar os conhecimentos obtidos durante o meu percurso académico e adquirir novos conhecimentos inerentes à prática farmacêutica hospitalar e funcionamento dos SF do CHUCB.

A organização do estágio por períodos de duas semanas em cada setor proporcionou acima de tudo uma experiência pormenorizada das diferentes áreas e setores dos SF, potenciando a assimilação e integração de conteúdos.

Durante o meu estágio foi notável a importância que o farmacêutico assume, não só nos SF, mas também nos diferentes serviços do CHUCB e como o seu papel ativo é crucial na validação terapêutica, no uso responsável do medicamento e fundamentalmente, na saúde do doente.

A nível pessoal não poderia deixar de ressaltar que, apesar da exigência existente nos SF do CHUCB, me senti muito bem integrada pela equipa e agradeço a motivação, o incentivo diário e todas as horas despendidas na transmissão de conhecimento que permitiram a evolução do meu desempenho e autonomia profissional.

## 13. Bibliografia

- [1] Brou MHL, Feio JAL, Mesquita E, Ribeiro RMPF *et al.* Manual da Farmácia Hospitalar. Ministério da Saúde. 2005.
- [2] Ordem dos Farmacêuticos. Manual de Boas Práticas em Farmácia Hospitalar. 1999; 1–111.
- [3] Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira. Visão, Missão e Valores [Internet]. [citado 11 de dezembro de 2019] Obtido de <http://www.chcbeira.pt/?cix=569&ixf=seccao&lang=1>.
- [4] Diário da República. Decreto-Lei n.º 111-B/2017 de 31 de agosto. 2017; 5250-(1894-2052).
- [5] Serviços Partilhados do Ministério da Saúde. Catálogo de Aprovisionamento Público da Saúde [Internet]. [citado a 18 de janeiro de 2020] Obtido de: <https://www.catalogo.min-saude.pt/CEC/publico/consulta.aspx>.
- [6] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. Legis Farm Comp. 1993; 1-43.
- [7] Diário da República. Lei n.º 8/2019 de 1 de fevereiro. 2019; 780-785.
- [8] INFARMED I.P. – Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto. Legis Farm Comp. 2006; 1-250.
- [9] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.º 105/CA/2007. Legis Farm Compil. 2007; 1-20.
- [10] INFARMED I.P. Autorização de Comercialização [internet]. [citado 22 de janeiro de 2019] obtido de [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/autorizacao\\_de\\_utilizacao\\_especial](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/autorizacao_de_utilizacao_especial).
- [11] Diário da República. Deliberação n.º 1546/2015 de 6 de agosto. 2015; 21899-21904.

- [12] Diário da República. Portaria no. 48/2016, de 22 de março. 2016; 912-944.
- [13] Diário da República. Portaria no. 158/2014, de 13 de fevereiro. 2014; 5413-5413.
- [14] Diário da República. Portaria no. 330/2016, de 20 de dezembro. 2016; 4762-4763.
- [15] Serviços Farmacêuticos Hospitalares do CHUCB. Procedimentos Internos e Operativos. 2019.
- [16] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Portaria n.o 981/98, de 8 de junho. Legis Farm Compil. 1998; 1-12.
- [17] Farmacovigilância - INFARMED [Internet]. [citado a 12 de dezembro de 2019] Obtido de: [http://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/medicamentos\\_uso\\_humano/muh\\_farmacovigilancia](http://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/medicamentos_uso_humano/muh_farmacovigilancia).
- [18] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Despacho n.o 2061-C/2013, de 1 de fevereiro. Legis Farm Compil. 2013;1-4.
- [19] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Despacho n.o 8333/2014, de 19 de junho. Legis Farm Compil. 2013; 1-5.
- [20] DGS. Programa de Prevenção e Controlo de Infecções e de Resistência aos Antimicrobianos. Prevenção e Controlo de Infecções e de Resistência aos Antimicrobianos - 2017.
- [21] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Despacho n.o 3/91, de 8 de fevereiro. Legis Farm Compil. 1991; 1-6.
- [22] Diário da República. Despacho n.o 8680/2011, de 17 de junho. 2011; 27051.
- [23] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Despacho n.o 9825/98, de 13 de maio. Legis Farm Compil. 1998; 1-2.
- [24] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Despacho n.o 6370/2002, de 7 de março. Legis Farm Compil. 2002; 1-2.

- [25] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Despacho n.º 22569/2008, de 22 de agosto. Legis Farm Compil. 2008; 1.
- [26] Sousa A, Martins S, Freitas O, Lourenço R. Manual de Nutrição Artificial - Ordem dos Farmacêuticos. 2004.
- [27] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Decreto-lei n.º 95/2004, de 22 de abril. Legis Farm Compil. 2004; 1-4.
- [28] INFARMED I.P.-Gabinete Jurídico e Contencioso. Portaria nº594/2004, de 2 de junho, Legis Farm Compil. 2004; 1-8.
- [29] INFARMED I.P. Portal RAM [internet]. [citado 11 de dezembro de 2019] obtido de <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/submissaoram>.
- [30] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Lei n.º 21/2014, de 16 de abril. Legis Farm Compil. 2014; 1-12.
- [31] INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Lei n.º 73/2015 de 27 de julho. Legis Farm Compil. 2004; 1-5.
- [32] Diário da República. Despacho n.º 2325/2017, de 17 de março. 2017; 4913-4914.
- [33] Diário da República. Decreto-Lei n.º 80/2018 de 15 de outubro. 2018; 4965 - 4970.
- [34] Ministério de Saúde. Despacho n.º 2902/2013 de 22 de fevereiro. Diário da República. 2013; 2-3.
- [35] Ministério de Saúde. Despacho n.º 15423/2013, de 26 de novembro. Diário da República. 2013; 6-8.
- [36] Ordem dos Farmacêuticos. Código Deontológico dos Farmacêuticos. 1998; 1-9.



# Anexo I – Certificado de “Formação Profissional de Atendimento Holon Nível I”



## Certificado de Formação Profissional

Certifica-se que Alexandra Afonso natural de Guarda nascida em 09/01/1995, com o N.º de Identificação Civil 13929463 válido até 08/03/2021, concluiu com aproveitamento o curso de Formação Profissional de Atendimento Holon Nível I, em 24/09/2019, com a duração de 16:00 horas.

| Unidades de Formação/Módulos/Outras Designações | Horas (hh:mm) | Classificação |
|---|---------------|---------------|
| Atendimento Holon Nível I                       | 16:00         | -             |

Lisboa, 03 de dezembro de 2019

O(A) Responsável pelo curso de Formação Profissional de

HOLON S.A.  
NIF: 507 336 453

Rua General Firmigo, 3 - Piso 7  
1600-160 Lisboa

(Assinatura a selo branco) 212 256 100

Certificado n.º 128/2019 de acordo com o modelo publicado na Portaria n.º 474/2010

# Anexo II – Circular Informativa INFARMED: N.º 143/CD/550.20.001



## Circular Informativa

---

N.º 143/CD/550.20.001

Data: 20/09/2019

Assunto: **Recolha de lotes de medicamentos contendo Ranitidina**

Para: Divulgação geral

Contacto: Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde (CIMI); Tel. 21 798 7373;  
Fax: 21 111 7552; E-mail: [cimi@infarmed.pt](mailto:cimi@infarmed.pt); Linha do Medicamento: 800 222 444

---

Na sequência da deteção de uma impureza, N-Nitrosodimethylamine (NDMA), na substância ativa ranitidina, o INFARMED determina a recolha e suspensão imediata da comercialização dos lotes de medicamentos descritos no Anexo I.

O motivo desta determinação decorre da presença em alguns lotes da referida impureza, da classe das nitrosaminas, já identificada em 2018 em alguns fármacos anti-hipertensores.

Nestes casos, as autoridades atuam de acordo com o princípio da precaução, visando reduzir ao mínimo o risco e limitando a exposição a esta substância.

Face ao exposto:

- As entidades que possuam embalagens pertencentes a estes lotes em *stock* não as podem vender, dispensar ou administrar, devendo proceder à sua devolução.
- Os doentes que disponham de embalagens pertencentes a estes lotes devem contactar o farmacêutico para as poderem substituir por uma embalagem de outro lote ou o médico no caso de ser prescrito um medicamento alternativo.

Estes medicamentos dispõem de alternativas terapêuticas, as quais podem ser consultadas no Formulário Nacional de Medicamentos, elaborado pela Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica, disponível em <https://extranet.infarmed.pt/fnm-fo/#/FichaMedicamento/Ranitidina> e cuja informação se reproduz no Anexo II.

1/5

### **Anexo III - Bolsas de alimentação parentérica disponíveis no CHUCB.**

| Código   | Nome Comercial              | Designação  | Volume | Veia de administração | Aporte Calórico |
|----------|-----------------------------|---|--------|-----------------------|-----------------|
| 10004082 | <i>Nutriflex Lipid peri</i> | A. A. 4,6 g/L N + Glucose 64g/L + Lip 40 g/L + Elect Emul Inj sac triplo 1250mL | 1250   | Periférica ou central | 955 Kcal        |
| 10094547 | <i>Smofkabiven® Central</i> | A. A. 8 g/L N + Glucose 127g/L + Lip 38 g/L + Elect Emul Inj sac triplo 1477mL  | 1477   | Central               | 1600 Kcal       |
| 10094548 | <i>Smofkabiven® Central</i> | A. A. 8 g/L N + Glucose 127g/L + Lip 38 g/L + Elect Emul Inj sac triplo 1970mL  | 1970   | Central               | 2200 Kcal       |

## Anexo IV - Protocolos preparados pelos Serviços Farmacêuticos do CHUCB de 30 de dezembro de 2019 a 10 de janeiro de 2020.

| Serviço: Quimioterapia | Diagnóstico                  | Protocolo                            | Periodicidade   | Pré-medicação   | Fármacos  |
|------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---|---|---|
|                        | Neoplasia maligna do duodeno | FOLFOX 6                             | 14 dias   | Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV   | Oxaliplatina 85 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 400 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 2400 mg/m <sup>2</sup>                          |
|                        | Neoplasia maligna do reto    | FOLFIRI que transitou para DEGRAMONT | 14 dias   | Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 16 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV  | Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 300 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 1746,6 mg/m <sup>2</sup>   |
|                        | Neoplasia coloretal          | FOLFIRI                              | 14 dias   | Atropina 0,3 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV   | Irinotecano 144,01 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 320 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 1920 mg/m <sup>2</sup>                       |
|                        |                              | Bevacizumab + FOLFIRI                | 14 dias   | Dexametasona 8 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV<br>Atropina 0,3 mg IV   | Bevacizumab 332 mg<br>Irinotecano 144,02 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 320 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 1920 mg/m <sup>2</sup> |
| FOLFOX 4               |                              | 14 dias                              | Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV | Oxaliplatina mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 320 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 1200 mg/m <sup>2</sup> |   |

Continuação.

|                        | Diagnóstico                    | Protocolo               | Periodicidade | Pré-medicação   | Fármacos  |
|------------------------|--------------------------------|-------------------------|---------------|---|---|
| Serviço: Quimioterapia | Neoplasia colo-retal           | FOLFOX 6                | 14 dias       | Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV   | Oxaliplatina 85 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 400 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 2400 mg/m <sup>2</sup>                                    |
|                        | Neoplasia do colon metastizada | Cetuximab + FOLFIRI     | 14 dias       | Clemastina 2 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV<br>Atropina 0,3 mg IV | Cetuximab 500 mg/m <sup>2</sup><br>Irinotecano 180 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 400 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 2400 mg/m <sup>2</sup> |
|                        |                                | GRAMONT                 | 14 dias       | Metoclopramida 10 mg  | Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 400 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 2400 mg/m <sup>2</sup>   |
|                        |                                | Bevacizumab + DEGRAMONT |               | Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV   | Bevacizumab 425 mg<br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 400 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 2400 mg/m <sup>2</sup>   |
|                        |                                | Bevacizumab + FOLFIRI   | 14 dias       | Dexametasona 8 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV<br>Atropina 0,3 mg IV                       | Bevacizumab 295 mg IV<br>Irinotecano 90,36 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 2400 mg/m <sup>2</sup>  |
|                        |                                | Bevacizumab + FOLFOX    |               | Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV   | Bevacizumab 275 mg IV   |

Continuação.

| Serviço: Quimioterapia | Diagnóstico             | Protocolo                       | Periodicidade       | Pré-medicação   | Fármacos   |
|------------------------|-------------------------|---------------------------------|---------------------|---|--|
|                        | Neoplasia do Ovário     | Paclitaxel/Carboplatina (AUC 6) | 21 dias             | Clemastina 2 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV   | Paclitaxel 175 mg/m <sup>2</sup><br>Carboplatina 580.66 mg   |
|                        | Neoplasia Hepato-biliar | Gemcitabina + Cisplatina        | 21 dias             | Cloreto de potássio 7,45% - 10 mL IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV<br>Manitol 200mg/mL IV<br>Sulfato de magnésio 20% - 10mL IV | Cisplatina 25 mg/m <sup>2</sup><br>Gemcitabina 1000 mg/m <sup>2</sup>  |
|                        | Adenocarcinoma          | FOLFIRI                         | 14 dias             | Atropina 0,3 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV   | Irinotecano 180 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 320 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 1920 mg/m <sup>2</sup> |
|                        | Neoplasia da mama       | Paclitaxel                      | semanal             | Clemastina 2 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV  | Paclitaxel 63.99 mg/m <sup>2</sup>   |
| Transtuzumab SC        |                         | 21 dias                         | Paracetamol 1000 mg | Transtuzumab 600 mg sc  |  |

Continuação.

|                        | Diagnóstico                   | Protocolo                    | Periodicidade | Pré-medicação  | Fármacos  |
|------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------|--|---|
| Serviço: Quimioterapia | Neoplasia da Mama             | Paclitaxel                   | 7 dias        | Clemastina 2 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Metoclopramida 10 mg IV                    | Paclitaxel 80 mg/m <sup>2</sup>   |
|                        | Neoplasia do Pâncreas         | FOLFIRINOX                   | 14 dias       | Atropina 0,3 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV<br>Furosemida 20 mg IV | Irinotecano 108 mg/m <sup>2</sup><br>Oxaliplatina 51 mg/m <sup>2</sup><br>Levofolinato dissódico 200 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 300 mg/m <sup>2</sup><br>Fluorouracilo 1800 mg/m <sup>2</sup> |
|                        |                               | Gemcitabina + NAB-Paclitaxel | 28 dias       | Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV  | Fosaprepitant 150 mg IV<br>Paclitaxel 211,25 mg IV<br>Gemcitabina 1690 mg IV  |
|                        | Neoplasia                     | Gemcitabina                  | 28 dias       | Dexametasona 5 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV  | Gemcitabina 750 mg/m <sup>2</sup>   |
|                        | Neoplasia maligna da próstata | Cabazitaxel                  | 21 dias       | Clemastina 2 mg IV<br>Dexametasona 8 mg IV<br>Pantoprazol 40 mg IV<br>Metoclopramida 10 mg IV                    | Cabazitaxel 25 mg/m <sup>2</sup><br>Prednisolona 10 mg oral   |

Continuação.

|                      | Diagnóstico                              | Protocolo                       | Periodicidade | Pré-medicação                                | Fármacos   |
|----------------------|--|---------------------------------|---------------|--|--|
| Serviço: Pneumologia | Adenocarcinoma do pulmão                 | Pemetrexedo / Carboplatina      | 21 dias       | Dexametasona 10 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV | Pemetrexedo 500 mg/m <sup>2</sup><br>Carboplatina 642 mg IV        |
|                      | Adenocarcinoma primitivo do pulmão       | Nivolumab                       | 14 dias       | -  | Nivolumab 258,27 mg IV   |
|                      |  | Docetaxel monoterapia           | 21 dias       | Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV  | Docetaxel 35 mg/m <sup>2</sup>                                     |
|                      | Carcinoma pulmonar pleomórfico PD-L1 90% | Pembrolizumab                   | 21 dias       | -  | Pembrolizumab 200 mg IV  |
|                      | Carcinoma Epidermoide do Pulmão          | Pembrolizumab                   | 21 dias       | -  | Pembrolizumab 200g IV  |
|                      |  | Carboplatina / Vinorelbina oral | 21 dias       | Dexametasona 10 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV | Carboplatina 409,25 mg IV<br>Vinorelbina 60 mg/m <sup>2</sup> oral |

Continuação.

|                          | Diagnóstico                           | Protocolo          | Periodicidade | Pré-medicação                               | Fármacos                           |
|--------------------------|---------------------------------------|--------------------|---------------|---|------------------------------------|
| Serviço:<br>Pneumologia  | Carcinoma<br>Epidermoide do<br>Pulmão | Gemcitabina        | 28 dias       | Dexametasona 8 mg IV<br>Ondansetrom 8 mg IV | Gemcitabina 1000 mg/m <sup>2</sup> |
| Serviço:<br>Urologia     | Neoplasia da<br>Bexiga                | Mitomicina C       | 7 dias        | -   | Mitomicina 40 mg IV                |
| Serviço:<br>Reumatologia | Artrite<br>Reumatoide                 | Metotrexato        |               | -   | Metotrexato 25 mg IV               |
| Serviço:<br>Neurologia   | Doença de Pompe                       | Alglucosidade alfa | 14 dias       | -   | Alglucosidade alfa 1316 mg         |

Continuação.

|                      | Diagnóstico  | Protocolo   | Periodicidade | Pré-medicação       | Fármacos  |
|----------------------|--|-------------|---------------|---------------------|---|
| Serviço: Hematologia | Gamapatia Monoclonal de significado renal                                  | CYBORD      | 28 dias       | -                   | Ciclofosfamida 350 mg<br>Dexametasona 25 mg IV<br>Bortezomib 1,28 mg/m <sup>2</sup> |
|                      | Mieloma múltiplo sem menção de remissão                                    | VDR         |               | -                   | Dexametasona 20 mg IV<br>Bortezomib 1,28 mg/m <sup>2</sup><br>Lenalidomida 25 mg    |
|                      | Anemia Refratária com Excesso de Blastos (AREB)                            | Azacitidina | 28 dias       | Ondansetrom 8 mg IV | Azacitidina 66,23 mg/m <sup>2</sup> SC  |
|                      | Neoplasia de comportamento incerto tecido linfático ou hematopoiético NCOP |             |               |                     |   |