



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**Aplicação de MEPS em bioanálise de amostras de
tecidos**
**Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia
Comunitária e Investigação**

Alexandre Emanuel Ramos Marques

Relatório para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
(Ciclo de estudos Integrado)

Orientador: Prof. Doutor Gilberto Alves
Coorientador: Prof. Doutor Márcio Rodrigues

Covilhã, junho de 2015

Dedicatória

Este momento não teria chegado se a minha família não me tivesse apoiado para chegar até aqui, como tal dedico este trabalho ao meu pai e à minha mãe, irmã e avó.

Agradecimentos

Agradeço ao Prof. Doutor Gilberto Alves, por ter aceitado a orientação deste trabalho, por todo o apoio, sobretudo nas alturas mais difíceis, pela confiança em mim depositada e como não poderia deixar de ser pelo seu conhecimento técnico-científico e experiência profissional essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Doutor Márcio Rodrigues que me acompanhou durante todo o trabalho laboratorial, pelo apoio e ensinamentos que me transmitiu, essenciais para a realização da componente de investigação e também pela amizade que demonstrou.

Ao Dr. Carlos Tavares e toda a restante equipa da Farmácia São Cosme, na Covilhã, pela disponibilidade e simpatia com que me acolheram no estágio curricular e também pelos conhecimentos que me transmitiram durante a duração do mesmo.

Aos meus amigos, pelo incentivo e companheirismo não só ao longo deste trabalho, mas também de todo o meu percurso académico.

À minha família pelos valores que me ensinaram, pela motivação que me deram, pela paciência que demonstraram, sem os quais não teria chegado até aqui.

Resumo

A unidade curricular Estágio surge no final do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, dando-me a oportunidade de aplicar, em contexto prático, todos os conhecimentos adquiridos ao longo deste curso, permitindo-me não só tomar contacto com todas as tarefas e responsabilidades que um Farmacêutico possui no contexto da Farmácia Comunitária, como também me proporcionou um contacto com uma realidade distinta, a investigação, preparando-me melhor para as atividades que poderei vir a desenvolver no futuro.

Este relatório é composto por dois capítulos, o primeiro referente à componente de investigação laboratorial e o segundo referente ao estágio realizado em Farmácia Comunitária. Os dois capítulos estão estruturados de forma a descrever as atividades realizadas nestes dois campos de atividade de um Farmacêutico.

A componente de investigação laboratorial teve como principal objetivo demonstrar a aplicabilidade da microextração em seringa empacotada (MEPS - *microextraction by packed sorbent*) como técnica de preparação de amostras de tecidos para análise por cromatografia líquida. A preparação de amostra tem como principal objetivo pré-concentrar os analitos e remover os interferentes de matrizes complexas, que dificultam a quantificação destes, para que a sua quantificação e deteção se realize com maior sensibilidade e boa seletividade. A técnica de MEPS foi desenvolvida há cerca de uma década e consiste numa técnica de preparação/extração de amostras que tem sido amplamente utilizada na análise de fármacos ou outros compostos em matrizes líquidas (fluídos biológicos e águas); no entanto, a sua aplicabilidade para bioanálise em amostras de tecidos é quase inexistente. Para demonstrar esta possibilidade, considerou-se como analitos “modelo” a carbamazepina e o seu metabolito ativo (carbamazepina-10,11-epóxido), tendo-se procedido à validação de um método de HPLC-DAD para a quantificação destes dois analitos em amostras de plasma e em homogeneizados de cérebro e fígado de murganho. Adicionalmente, para demonstrar a aplicação do método a amostras reais, realizou-se um estudo *in vivo* em que se procedeu à administração oral de carbamazepina a murganhos; por fim, procedeu-se à quantificação da carbamazepina e do seu metabolito nas três matrizes, utilizando-se a técnica de MEPS no processo de preparação das amostras. Os resultados obtidos foram ainda sujeitos a uma análise farmacocinética e a qualidade dos parâmetros estimados permite inferir que a técnica de microextração é útil e vantajosa para a bioanálise de amostras biológicas, incluindo tecidos.

Relativamente ao estágio realizado em Farmácia Comunitária, este decorreu na Farmácia São Cosme, na Covilhã, entre os dias 26 de janeiro e 5 de junho. Este estágio permitiu-me

desenvolver competências em diversas áreas de responsabilidade de um farmacêutico comunitário, nomeadamente no que se refere às instalações, recursos humanos e materiais que uma farmácia deve possuir, aprovisionamento e armazenamento de medicamentos, interação com os utentes, dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde, prestação de outros cuidados de saúde, manipulação de medicamentos e tarefas referentes à contabilidade e gestão de uma farmácia.

Palavras-chave

Bioanálise; Farmácia Comunitária; MEPS; Preparação de amostras.

Abstract

The curricular traineeship appears at the end of the MSc in Pharmaceutical Sciences, giving me the opportunity to apply in practical context all the knowledge acquired during this course and allowing me not only make contact with all the tasks and responsibilities that a pharmacist has in Community Pharmacy, but also the access to a different reality, the laboratory research, preparing myself better for the activities that will be able to carry out in the future.

This report consists of two chapters, the first refers to laboratory research component and the second related to the traineeship in Community Pharmacy. The two chapters are structured in order to describe the activities carried out in these two fields of activity of a Pharmacist.

Laboratory research component aimed to demonstrate the applicability of microextraction by packed sorbent (MEPS) as sample preparation technique of tissues for analysis by liquid chromatography. Sample preparation aims to pre-concentrate the analytes and remove the interfering compounds of complex matrices, which make it difficult to quantify the analytes, so that its quantification and detection takes place with greater sensitivity and good selectivity. MEPS was developed nearly a decade ago and it is a sample preparation/extraction technique which has been widely used in the analysis of drugs or other components in liquid matrices (water and biological fluids); however, its applicability in tissues samples is almost absent. To demonstrate this possibility, carbamazepine and its active metabolite (carbamazepine-10,11-epoxide) were considered as “model” analytes and it was carried out the validation of a HPLC-DAD method to quantify these two analytes in samples of plasma, and brain and liver tissue homogenates of mice. In addition, to demonstrate the application of the method to real samples, an *in vivo* study was performed in which carbamazepine was orally administered to mice; finally, the concentrations of carbamazepine and its active metabolite were determined in the three matrices using MEPS in the sample preparation process. The obtained results were also subjected to a pharmacokinetic analysis and the quality of the estimated parameters allows to conclude that this microextraction technique is useful and advantageous for the bioanalysis of biological samples, including tissues.

Regarding the traineeship in Community Pharmacy, this took place in São Cosme Pharmacy in Covilhã, between January 26th and June 5th. This traineeship allowed me to develop skills in several fields of the responsibility of community pharmacist namely facilities, human and material resources that a pharmacy must have, provision and storage of medicines, interaction with the users, dispensing of medicines and other health products, the

provision of other health care, handling of medicines and the tasks related to accounting and management of a pharmacy.

Keywords

Bioanalysis; Community Pharmacy; MEPS; Sample preparation.

Índice

Capítulo I - Aplicação de MEPS em bioanálise de amostras de tecidos	1
1. Introdução	1
1.1. Técnicas de preparação de amostras	1
1.1.1. Precipitação de proteínas (PP)	2
1.1.2. Extração líquido-líquido (LLE)	3
1.1.3. Extração em fase sólida (SPE)	3
1.2. Microextração em seringa empacotada (MEPS - <i>microextraction by packed sorbent</i>)	5
1.2.1. MEPS: aplicação em bioanálise	9
2. Objetivos	15
3. Material e métodos	16
3.1. Reagentes e químicos	16
3.2. Matriz branca de plasma, cérebro e fígado	16
3.3. Soluções <i>stock</i> , padrões de calibração e amostras de controlo de qualidade	17
3.4. Preparação das amostras	18
3.5. Condições cromatográficas	18
3.6. Validação do método	19
3.7. Aplicação do método a amostras reais e análise farmacocinética	20
4. Resultados	22
4.1. Validação do método (MEPS/HPLC-DAD)	22
4.2. Aplicação do método a amostras reais e análise farmacocinética	26
5. Discussão	30
6. Conclusão	34
7. Referências bibliográficas	35
Capítulo II - Relatório de estágio em Farmácia Comunitária	43
1. Introdução	43
2. Localização e caracterização da Farmácia São Cosme	45
2.1. Organização das instalações da Farmácia São Cosme	45
2.2. Recursos humanos da Farmácia São Cosme	47
3. Informação, documentação científica e suporte informático da Farmácia São Cosme	49
4. Medicamentos e outros produtos de saúde disponíveis na Farmácia São Cosme	51
5. Aprovisionamento e armazenamento	54
5.1. Gestão de Encomendas	54

5.2. Receção de encomendas	56
5.3. Etiquetas de códigos de barras e preços	58
5.4. Armazenamento	59
5.5. Controlos dos prazos de validade e devoluções aos fornecedores	60
6. Atendimento ao público	62
6.1. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento	62
6.2. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica	64
6.3. Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica e Automedicação	69
6.4. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde	71
6.4.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene	71
6.4.2. Produtos dietéticos para alimentação especial	72
6.4.3. Produtos dietéticos infantis	74
6.4.4. Fitoterapia e suplementos alimentares	75
6.4.5. Medicamentos de uso veterinário	76
6.4.6. Dispositivos médicos	77
7. Cuidados de Saúde prestados na Farmácia São Cosme	78
8. Preparação de Medicamentos	80
9. Contabilidade e gestão	83
10. Conclusão	86
11. Referências bibliográficas	87
Anexos	91
Anexo I - Margens máximas de comercialização de medicamentos sujeitos a receita médica (Decreto-Lei nº112/2011, de 29 de novembro. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.)	91
Anexo II - Receita médica prescrita por via eletrónica por mim processada durante o período de estágio	92
Anexo III - Receita médica manual por mim processada durante o período de estágio.	93
Anexo IV - Regimes especiais de comparticipação de acordo com a patologia apresentada	94
Anexo V - Impressão de verso da receita, por mim registada eletronicamente, para faturação às entidades responsáveis.	96
Anexo VI - Exemplo de ficha de preparação de medicamento manipulado	97

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura química da carbamazepina (CBZ), da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) e da 10,11-dihidrocarbamazepina (PI). 16

Figura 2 - Cromatogramas, obtidos a 215 nm, de amostras extraídas: A) branco de plasma; B) plasma fortificado com carbamazepina (CBZ) e carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) às concentrações do limite de quantificação (LOQ); C) branco de homogeneizado de cérebro; D) homogeneizado de cérebro fortificado com CBZ e CBZ-E às concentrações do LOQ; E) branco de homogeneizado de fígado; F) homogeneizado de fígado fortificado com CBZ e CBZ-E às concentrações do LOQ. PI (padrão interno, 10,11-dihidrocarbamazepina). 23

Figura 3 - Cromatogramas, obtidos a 215 nm, de amostras obtidas às 2 horas após a administração oral de carbamazepina (CBZ; 50 mg/kg): A) Plasma; B) homogeneizado de cérebro; C) homogeneizado de fígado. CBZ-E (carbamazepina-10,11-epóxido), PI (padrão interno, 10,11-dihidrocarbamazepina). 27

Figura 4 - Perfis concentração-tempo da carbamazepina (CBZ) e da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E), após a administração oral de uma suspensão de CBZ (50 mg/kg) a murganços, em: A) plasma; B) homogeneizado de cérebro; C) homogeneizado de fígado. Os símbolos representam a média \pm erro padrão da média das quatro determinações por cada ponto no tempo ($n = 4$). 28

Lista de Tabelas

- Tabela 1 - Parâmetros médios das curvas de calibração obtidas para a carbamazepina (CBZ) e carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho ($n = 3$). 24
- Tabela 2 - Valores de precisão (% CV) e exatidão (% *bias*) intra e interdia para a quantificação da carbamazepina (CBZ) e da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho, nas concentrações correspondentes ao limite de quantificação (CQ_{LOQ}) e CQ_1 , CQ_2 e CQ_3 ($n = 3$). 25
- Tabela 3 - Recuperação absoluta (%) da carbamazepina (CBZ), da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) e da 10,11-dihidrocarbamazepina (PI) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho, nas concentrações correspondentes aos CQ_1 , CQ_2 e CQ_3 ($n = 3$). 26
- Tabela 4 - Parâmetros farmacocinéticos da carbamazepina (CBZ) e da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho, obtidos após a administração oral de uma dose única de CBZ (50 mg/kg). 29

Lista de Acrónimos

ADME	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
ANF	Associação Nacional de Farmácias
ATC	Anatómica, Terapêutica, Química (<i>Anatomical Therapeutic Chemical</i>)
AUC	Área Sob a Curva concentração-tempo (<i>Area Under the Curve</i>)
AUC _{0-t}	Área Sob a Curva concentração-tempo desde o tempo 0 até ao tempo (t)
AUC _{0-∞}	Área Sob a Curva concentração-tempo desde o tempo 0 até ao infinito
CBZ	Carbamazepina
CBZ-E	Carbamazepina-10,11-epóxido
CCF	Centro de Conferência de Faturas
CIM	Centro de Informação do Medicamento
CIMI	Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde
C _{max}	Concentração máxima
CNPEM	Código Nacional para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos
CQ	Controlo de Qualidade
CV	Coeficiente de Variação
DAD	Detetor de Díodos (<i>Diode Array Detector</i>)
DGS	Direção Geral de Saúde
DLLME	Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (<i>Dispersive Liquid-Liquid Microextraction</i>)
EMA	Agência Europeia do Medicamento (<i>European Medicines Agency</i>)
FC	Farmácia Comunitária
FSC	Farmácia São Cosme
GC	Cromatografia Gasosa (<i>Gas Chromatography</i>)
HF-LPME	Microextração em Fase Líquida com Fibra Oca (<i>Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction</i>)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P.
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado
K _{el}	Constante de velocidade de eliminação
LLE	Extração Líquido-Líquido (<i>Liquid-Liquid Extraction</i>)
LOQ	Limite de Quantificação (<i>Limit of Quantification</i>)
MEPS	Microextração em Seringa Empacotada (<i>Microextraction by Packed Sorbent</i>)
MIP	Polímero Molecularmente Impresso (<i>Molecularly Imprinted Polymer</i>)
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MNSRM-DEF	Medicamentos Não sujeitos a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácias
MRT	Tempo Médio de Residência (<i>Mean Residence Time</i>)
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
OF	Ordem dos Farmacêuticos
PI	Padrão Interno
PNV	Plano Nacional de Vacinação
PP	Precipitação de Proteínas
PSA	Antigénio Específico da Próstata
PVA	Preço de Venda ao Armazenista
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
RAM	Materiais de Acesso Restrito (<i>Restricted Access Materials</i>)
SBSE	Extração Sortiva em Barra de Agitação (<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>)
SDME	Microextração em Gota Suspensa (<i>Single Drop Microextraction</i>)
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SPE	Extração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Extraction</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (<i>Solid Phase Microextraction</i>)
$t_{1/2el}$	Tempo de semivida de eliminação
t_{max}	Tempo para se alcançar a concentração máxima
UV	Ultravioleta

Capítulo I - Aplicação de MEPS em bioanálise de amostras de tecidos

1. Introdução

O processo analítico é composto por quatro grandes etapas: a recolha da amostra; a preparação da amostra, etapa na qual se produz um maior número de resíduos; a análise da amostra propriamente dita; e a avaliação dos resultados [1].

A preparação de amostra, na qual se utilizam na maior parte das técnicas solventes orgânicos, tem como objetivo remover possíveis interferentes presentes em matrizes complexas que dificultam a determinação seletiva dos analitos, e pré concentrá-los para que a sua quantificação e deteção se possa realizar com maior sensibilidade [1-11]. Este procedimento é essencial para a análise de amostras biológicas; pois a adsorção irreversível das proteínas à fase estacionária, com a conseqüente perda da eficiência separativa da coluna e aumento da pressão, inviabilizam a análise direta de amostras biológicas nos aparelhos de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) [6,8,11-17]. No entanto, durante anos, o processo de preparação de amostra foi subvalorizado, por comparação com outras etapas do processo analítico, sendo mesmo considerada uma etapa limitante até que se percebeu que era necessário desenvolver métodos novos e melhorados de preparação de amostra [5,18-21].

1.1. Técnicas de preparação de amostras

Sendo a preparação de amostra uma das etapas fundamentais na análise de amostras biológicas e ambientais, é também onde acaba por ocorrer um maior número de erros e, ao mesmo tempo, é uma das etapas mais morosas, que envolve maior número de passos, de maior custo e que produz um maior número de resíduos poluentes devido à quantidade de solventes orgânicos utilizados [2-7,12,18,22-28]. Desta forma é também uma das etapas que maior influência poderá ter na performance analítica de um método, estando, portanto, a escolha da técnica de preparação de amostra dependente da matriz e da polaridade e volatilidade dos analitos que se pretendem quantificar [4]. Nesse sentido, nos últimos anos, tem-se procurado desenvolver técnicas de preparação de amostra melhoradas, que utilizem menor volume de solventes orgânicos tóxicos e que ao mesmo tempo sejam custo-efetivas para substituir os processos clássicos como a precipitação de proteínas (PP) a extração em fase sólida (SPE) e a extração líquido-líquido (LLE), os quais apresentam um conjunto de

desvantagens. Desde logo, muitos dos procedimentos são trabalhosos requerendo um elevado tempo de execução e consomem uma elevada quantidade de solventes orgânicos; além disso, particularizando, a LLE é difícil de aplicar quando o objetivo é extrair analitos de elevada polaridade, a PP não consegue eliminar muitas vezes todos os interferentes e leva à diluição da amostra, e a SPE dependendo da matriz em causa pode requerer a adição de um passo prévio de PP para prevenir o bloqueio do cartucho de SPE [1,3,4,6,10,13,14,22,29-34].

As novas técnicas de preparação de amostras que têm vindo a ser desenvolvidas têm assim permitido reduzir o volume de amostra que é submetido a extração e ao mesmo tempo automatizar o processo, sem comprometer a seletividade, precisão e exatidão do método [1,2,4,5,12,14,15,18,19,35,36]. Alguns destes novos métodos de preparação de amostra são a microextração em fase sólida (SPME), a microextração em seringa empacotada (MEPS), a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), a extração sortiva em barra de agitação (SBSE), a microextração em gota suspensa (SDME), a microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME), a extração com materiais de acesso restrito (RAM) e com polímeros molecularmente impressos (MIP) [1,3,4,6,12,18,22,32]. Muitos destes novos métodos de preparação de amostras baseiam-se na miniaturização dos processos clássicos permitindo reduzir o volume de solventes usado, o tempo, o custo e os resíduos produzidos, mas mantendo ao mesmo tempo os mesmos princípios no processo de extração [3,12,20,22,27].

A miniaturização das técnicas clássicas permitiu também a automatização e a integração da preparação de amostra com a componente analítica instrumental; esta inovação permitiu reduzir o tempo de análise de cada amostra [3,4,5,15,37]. Os novos métodos de preparação de amostra devem ser fáceis de executar, rápidos, automatizados, minimizar a quantidade de amostra necessária e maximizar a recuperação do analito, eliminar os interferentes da matriz, serem compatíveis com os restantes componentes envolvidos no procedimento analítico, produzirem poucos resíduos e serem custo-efetivos [5,10,18].

1.1.1. Precipitação de proteínas (PP)

Tal como referido acima, existem diversas técnicas de preparação de amostra. A PP é uma das técnicas clássicas e consiste na adição e mistura com a amostra de um agente precipitante de proteínas, que pode variar desde um solvente orgânico, um sal, ou um ácido, para que seja possível a extração, prévia à análise, do analito de interesse [3,6,38].

Devido à rapidez de execução, ao baixo custo e à simplicidade do procedimento, a PP é uma técnica bastante útil para a extração de compostos hidrofílicos e hidrofóbicos [6]. No entanto, tratando-se de um método não específico, muitos interferentes das amostras biológicas não são eliminados, uma vez que o sobrenadante continua com quantidades significativas de componentes da matriz que não precipitaram, daí que habitualmente se realize um passo de centrifugação para separar as proteínas precipitadas do analito de

interesse [6,13,39]. Ainda assim, em algumas amostras a seletividade é baixa, além de que a coprecipitação do analito pode reduzir o sinal [6,33]. Apesar destas limitações, a PP continua a ser usada em bastantes protocolos, tendo-se tornado nos últimos anos um método semiautomático e posteriormente automático, utilizando-se para tal microplacas de 96 poços para realizar a precipitação [6].

1.1.2. Extração líquido-líquido (LLE)

A LLE é também uma das técnicas clássicas de preparação de amostras, tendo sido uma das primeiras a ser desenvolvida [6,28,29,34]. O processo de extração baseia-se na diferente partição do analito entre dois líquidos imiscíveis, sendo o mais comum a extração a partir de amostras aquosas, às quais se adiciona um solvente orgânico, agitando-se para que a mistura se efetue e ocorra a extração [3,6,40]. Os principais parâmetros que condicionam a escolha do solvente extrator incluem a sua densidade, volatilidade, polaridade e a solubilidade que os analitos nele possuem, sendo que a polaridade do solvente determina a solubilidade dos analitos [40]. O solvente escolhido para o passo de extração deverá ser também compatível com a etapa seguinte do processo analítico [40].

As principais desvantagens desta técnica são a formação de emulsões, a inadequação para a extração de compostos hidrofílicos e o elevado volume de amostra e consequentemente de solvente orgânico que tem de se utilizar, tornando-a num processo dispendioso, moroso e poluente [6,32,33]. Os avanços recentes procuraram converter a técnica num processo semiautomático, fazendo uso, para tal, de microplacas de 96 poços para a preparação simultânea de diversas amostras, o que permite diminuir substancialmente o tempo de execução [6].

1.1.3. Extração em fase sólida (SPE)

A SPE, a par da LLE, continuam a ser as técnicas de preparação de amostra que mais se utilizam em bioanálise [7,14,22,23,34,41]. Esta técnica deriva da cromatografia líquida e, nos últimos anos, tem vindo a substituir a LLE como a técnica de preparação de amostras mais utilizada para a extração de analitos em amostras biológicas, uma vez que é uma técnica mais adequada para a extração de amostras aquosas com analitos altamente funcionalizados e posterior eluição destes com solventes orgânicos, permitindo uma eficiência e seletividade superiores aos da LLE, utilizando menor volume de solventes orgânicos [5,6,29,30,33,41,42].

A extração baseia-se na adsorção seletiva e concentração dos analitos através da passagem da amostra aquosa no adsorvente sólido e divide-se nos seguintes passos: acondicionamento do adsorvente, carregamento da amostra (*sample loading*), lavagem do adsorvente, secagem do adsorvente e eluição dos analitos [3,15,22]. A retenção dos analitos

pode ocorrer através de interações iônicas, polares e não polares e esta técnica pode utilizar-se para amostras líquidas, extratos de analitos não voláteis e semi-voláteis e amostras sólidas pré-extraídas com solventes [6].

A escolha de um adsorvente adequado é fundamental para a eficiência da SPE, dependendo este do analito que se pretende extrair e das suas propriedades físicas e químicas [6]. Para além da escolha do tipo e quantidade de adsorvente, a aplicação de um volume adequado de amostra que não comprometa a recuperação, o volume e composição da solução de lavagem e o volume e composição da solução de eluição são os fatores chave que influenciam a performance dos procedimentos de SPE [8].

O acoplamento da SPE ao equipamento analítico propriamente dito, permitindo uma análise em linha, aumenta a sensibilidade dos métodos analíticos, reduz os custos e o tempo de análise de cada amostra, possibilita a reutilização dos cartuchos de SPE e aumenta a segurança do método [5,6,15,22]. O aumento da sensibilidade deve-se ao facto de toda a amostra ser transferida para o aparelho analítico, após a extração, o que permite a pré-concentração dos analitos [5]. A redução no tempo e custo de análise de cada amostra deve-se ao facto de enquanto o aparelho efetua o acondicionamento do cartucho, a extração e eluição de uma amostra, o HPLC realiza a análise da amostra anterior [5]. O aumento da segurança do método justifica-se porque todo o processo ocorre num sistema fechado, o que diminui a exposição do analito a possíveis contaminações [22]. Utilizando este procedimento em linha, o adsorvente está habitualmente empacotado em pequenas colunas de aço inoxidável que fazem parte do próprio aparelho analítico, em que após a extração na coluna de SPE, os analitos são diretamente eluídos para a coluna analítica [22].

A automatização da SPE, sem estar acoplado ao HPLC, também é possível através da utilização de microplacas de 96 poços e de um *robot*, estando o adsorvente incorporado em pontas semelhantes às das micropipetas [5,6,15,23]. Nestes sistemas automáticos os poros existentes no adsorvente devem ser largos o suficiente para que a pressão no cartucho não seja demasiado elevada, além de que o adsorvente deve ser fisicamente estável na ponta. A utilização de monolitos como adsorventes permite que se forme uma ligação entre o adsorvente e a superfície de polipropileno, o que garante a estabilidade física. Os fatores que afetam a performance deste sistema automático são o formato, o volume e quantidade de adsorvente em cada ponta, o tipo de adsorvente utilizado, o solvente com que se efetua o acondicionamento do adsorvente, o volume de amostra utilizado, a solução de lavagem e por fim o solvente utilizado para a eluição dos analitos [5].

Apesar de todas as vantagens acima referidas, a SPE continua a ser uma técnica morosa e dispendiosa, uma vez que cada cartucho de SPE, regra geral, apenas pode ser utilizado para uma única amostra, existindo por vezes alguma falta de reprodutibilidade na performance entre diferentes lotes de cartuchos; salientar ainda que o elevado volume de adsorvente e de solvente orgânico que se utiliza obriga por vezes a um passo de evaporação para concentrar o analito antes da sua injeção no aparelho de análise e, por vezes, em algumas amostras

biológicas é necessário um passo prévio de PP para que não ocorra a obstrução do cartucho de SPE [6,14,23,43].

1.2. Microextração em seringa empacotada (MEPS - *microextraction by packed sorbent*)

A técnica de MEPS corresponde à miniaturização da SPE, permitindo trabalhar com menores volumes de amostras biológicas, desde os 10 aos 1000 µL, ao mesmo tempo que se utiliza o mesmo tipo de adsorventes e os mesmos princípios de extração [2-6,8,10,12,15,17,22,27-29,30,32,43-48]. A primeira utilização da MEPS como técnica de preparação de amostra foi realizada por Abdel-Rehim na determinação de anestésicos locais em amostras de sangue humano, utilizando como aparelho de quantificação um sistema de cromatografia gasosa (GC) acoplado a um espectrómetro de massa como detetor [10]. Esta técnica tem vindo a ser utilizada em diversas matrizes biológicas como sangue, plasma, urina e saliva e também em amostras de águas residuais e de carne animal utilizada para consumo humano [2-4,11,12,17,18,22,24,29,33,34,41,49-51].

Ao contrário do que acontece na SPE, onde o adsorvente se encontra num cartucho isolado, na MEPS o adsorvente está integrado numa seringa de manipulação de líquidos que permite trabalhar com baixos volumes de amostra, quer manualmente quer em procedimentos automatizados, ou mesmo em sistemas em linha em que o processamento da amostra, a extração e a injeção no aparelho de HPLC ou no de GC são efetuadas num único dispositivo [1-7,10,12,14,18,19,22,23,29,30,32,43,44,47,52,53]. A MEPS também pode ser realizada em modo semiautomático, através da pipeta eletrónica eVol[®], que permite utilizar menores volumes de amostra, mantendo um controlo preciso da velocidade de aspiração e rejeição da amostra o que minimiza os erros associados ao operador, aumentando a performance analítica [4,12,26-28,36,54,55]. Os analitos ao serem aspirados são retidos no adsorvente [56] de acordo com as suas propriedades químicas, principalmente a polaridade, que condiciona a eficiência de extração [4,12]. Outra das diferenças relativamente à SPE é a possibilidade de reutilização do cartucho de extração, se for efetuado um passo de lavagem do cartucho para limitar o *carryover*, sendo possível reutilizá-lo mais de cem vezes em amostras de plasma e urina, e mais de quatrocentas vezes em amostras de águas residuais, variando o número de reutilizações com a amostra utilizada e o próprio procedimento utilizado [2,4-7,10,12,13,15,18,19,21,22,28,29,33,44,45]. Em métodos automatizados em que todo o procedimento ocorre em linha, enquanto é feita a injeção e a corrida de uma amostra é possível efetuar simultaneamente o passo de lavagem, preparando a seringa para a amostra seguinte [3,5,30].

Apesar da MEPS ter sido desenvolvida como uma técnica de preparação de amostras automatizada e miniaturizada, acoplada a aparelhos de GC e HPLC, também se consegue obter bons resultados quando se utiliza esta técnica manualmente, utilizando para análise os

sistemas tradicionais de HPLC acoplados a um detetor de ultravioleta (UV) ou a um detetor de díodos (DAD), o que demonstra a versatilidade da MEPS como técnica de preparação de amostras [3,5].

As seringas têm um volume que varia entre os 100 e os 250 μL e possuem uma quantidade de adsorvente de 1 a 4 mg, inserido no interior da seringa ou entre a seringa e a agulha, como um cartucho [1,3-7,10,14,15,17,18,20,22,29,30,33,37,45,51,57]. Esta técnica é adequada para extrações em fase reversa (extração de analitos hidrofóbicos presentes em amostras aquosas), fase normal (extração de analitos polares presentes em solventes orgânicos não-polares) e troca iônica (extração de analitos iônicos presentes em amostras aquosas e solventes orgânicos não-polares) [4,5,12,18,22,27].

O adsorvente pode ser composto por material tão diverso quanto os utilizados em fase reversa (C_2 , C_8 e C_{18} e copolímeros de poliestireno-divinilbenzeno), fase normal (sílica, carbono grafitico poroso e polímeros de divinilbenzeno), troca iônica (ácido sulfônico ligado a sílica, que funciona como permutador de troca catiónica e grupos aminopropil ligados a sílica que funcionam como permutadores de troca aniônica), RAMs e MIPs, estando a escolha do adsorvente dependente do analito que pretendemos extrair [1,3-7,10,12,17,18,22,29,30,32,36,45,54,58]. Os MIPs têm vindo a ser cada vez mais aplicados como adsorventes devido à facilidade com que são preparados e à melhoria na performance analítica quando se pretende extrair analitos presentes em concentrações residuais nas amostras, uma vez que os MIPs funcionam como anticorpos artificiais que se ligam com elevada especificidade ao analito [4,12].

Devido aos pequenos volumes de amostra que utiliza e à pequena quantidade de adsorvente, utilizando MEPS é possível eluir os analitos que ficam retidos no adsorvente, com volumes de solventes orgânicos como o metanol, inferiores a 10 μL , aumentando este volume quando a concentração de analito presente na amostra e conseqüentemente a quantidade de adsorvente utilizado aumentam [15,18,29]. Desta forma, uma das grandes vantagens da MEPS é o volume de solvente utilizado para eluir os analitos ter uma ordem de magnitude que permite a sua injeção direta nos sistemas de HPLC ou GC, não sendo muitas vezes necessário um passo de evaporação e reconstituição adicional, que habitualmente está associado a perdas de analito [1,3,4,5,6,17,22,30,32,37,45,50,57,59].

Apesar dos protocolos experimentais variarem consoante o tipo de amostra utilizada, globalmente é necessário efetuar os seguintes passos quando se utiliza MEPS como técnica de preparação de amostra: em primeiro lugar é habitual realizar-se um passo de diluição de amostras de sangue, plasma e urina para reduzir a sua viscosidade e assim evitar o entupimento do cartucho contendo o adsorvente; de seguida, um passo de centrifugação permite reduzir a quantidade de macro partículas na amostra que vai ser submetida a extração; o ajuste do pH, a manutenção de uma força iônica constante e um passo de precipitação de proteínas poderão também ser importantes quando se efetua uma extração de fase reversa; antes de se realizar a aspiração da primeira amostra é necessário realizar o acondicionamento e reequilíbrio do adsorvente, o qual é efetuado habitualmente com a

aspiração de solvente com o qual se efetua a eluição e com água respetivamente; o número de ciclos de aspiração e rejeição da amostra e a velocidade a que são feitos são também fatores importantes para aumentar a recuperação do analito, variando o número de ciclos habitualmente entre 1-10 consoante o analito e a matriz utilizada, e a velocidade de aspiração e rejeição entre os 10 e os 20 $\mu\text{L/s}$, para que ocorra uma melhor interação entre o analito e o adsorvente; de seguida é habitual fazer-se a lavagem do cartucho com um pequeno volume de água (50-100 μL) contendo ou não uma pequena percentagem de solvente orgânico, de forma a eluir os interferentes presentes na matriz, mantendo o analito retido; a eluição do analito efetua-se com um solvente orgânico, como o metanol, isopropanol ou acetone, habitualmente volátil e miscível com as fases móveis usadas nos procedimentos analíticos, sendo o solvente ideal aquele que elui a maior quantidade de analito usando o menor volume possível de solvente; por fim, tem de se fazer um passo de limpeza/reacondicionamento do adsorvente após a eluição do analito, este passo é realizado habitualmente com o solvente de eluição seguindo-se a lavagem com água, permitindo assim reduzir a possibilidade de *carryover* [2,4,5,10,12,18,29,34]. O procedimento utilizado é em tudo semelhante aos utilizados na SPE com a exceção de nesta última ser necessário efetuar um passo de secagem do cartucho após o passo de lavagem e previamente à eluição, o qual não é fundamental na MEPS. Por sua vez, na MEPS efetua-se adicionalmente o passo de limpeza/reacondicionamento do adsorvente após a eluição do analito, para eliminar ou reduzir o *carryover*, permitindo a reutilização dos cartuchos [3].

Tendo em consideração todos os passos necessários na MEPS, os principais fatores que influenciam a sua performance são: o tipo de adsorvente utilizado; o solvente utilizado no acondicionamento do adsorvente; o pré-tratamento a que a amostra é sujeita; o número de ciclos de aspiração/rejeição a que a amostra é sujeita; o solvente utilizado para a lavagem do adsorvente; o solvente utilizado para a eluição dos analitos; o solvente utilizado na limpeza/reacondicionamento do adsorvente [3,11,25,28,35,37,54,60].

O tipo de adsorvente utilizado, o número de ciclos de aspiração/rejeição a que a amostra é sujeita e o solvente utilizado na lavagem/recondicionamento do adsorvente já foram atrás discutidos. Relativamente ao solvente utilizado no acondicionamento ou ativação do adsorvente, o que mais vezes se utiliza é o metanol, sendo o seu excesso removido pela passagem de um solvente polar, habitualmente água, antes de se efetuar a aspiração da amostra [3,4,5,22].

Como na MEPS os cartuchos são reutilizados, em diversos protocolos que utilizam MEPS as amostras são sujeitas a um pré-tratamento que pode variar desde a centrifugação, à diluição da amostra para a tornar mais fluída e assim evitar a obstrução do cartucho contendo o adsorvente, até mesmo à PP, a qual aumenta o número de utilizações do cartucho quando a matriz é de natureza biológica (e.g., plasma) [3,4,17,22,48]. Ajustes no pH das amostras também poderão ser necessários para aumentar ou diminuir a ionização de compostos ácidos e básicos, dependendo do tipo de adsorvente utilizado e do tipo de analito que se pretende extrair [22].

O solvente utilizado para a lavagem do adsorvente tem como objetivo remover as proteínas e outros interferentes para aumentar a seletividade do método, devendo o volume e a composição deste solvente (ou mesmo mistura de solventes) ser adequadamente selecionada para reduzir a perda do analito adsorvido, aumentando desta forma a sua recuperação [3,4,22,37,60]. Assim, e tendo sempre em conta as propriedades químicas do analito, as soluções de lavagem mais vezes utilizadas são água pura, solução de ácido fórmico a 0,1% em água e misturas de metanol a 5 e 10% em água [3,5,10,15,22].

Apesar da maioria das eluições ser efetuada com solventes orgânicos, tanto as propriedades físico-químicas do analito como os mecanismos de retenção no adsorvente devem ser tidos em conta [3,4,22]. Assim, quando o mecanismo de retenção se baseia em interações hidrofóbicas, devem ser utilizados solventes não polares, no entanto, se este for baseado em interações iónicas, o pH do solvente da solução eluição também é um fator a ter em conta [3,4,15].

As principais vantagens da MEPS em relação a outras técnicas de preparação de amostra são: a rapidez e simplicidade com que se executa; a possibilidade de automatização e acoplamento aos aparelhos analíticos, permitindo a realização de uma análise em linha; a redução dos custos de análise quando comparado por exemplo à SPE, uma vez que é possível reutilizar os cartuchos; a melhor performance analítica obtida com diversos analitos em diferentes matrizes por comparação a outros métodos e, mesmo reutilizando os cartuchos, obter-se um nível de *carryover* inferior a 0,1% [12]; a minimização do volume de amostra necessário, o que poderá ser bastante importante quando se trabalha com amostras de sangue de crianças, cujo volume disponível normalmente é escasso; a minimização dos volumes de solventes orgânicos utilizados, reduzindo assim os resíduos produzidos, tornando-a numa das técnicas de microextração que cumpre os princípios de uma Química Verde [2,4,8,14,18,19,24,25,30,50,57]. Outra das vantagens da MEPS é a possibilidade da utilização de MIPs como adsorventes, o que aumenta a recuperação do analito e a eliminação dos interferentes presentes na matriz, melhorando a performance analítica de alguns métodos [12].

Quanto a algumas desvantagens da MEPS podemos apontar a impossibilidade de acoplamento a alguns aparelhos de HPLC, inviabilizando os procedimentos em linha, pelo que nestes casos a velocidade a que se efetua os ciclos manuais de aspiração e rejeição são uma variável importante na recuperação do analito, uma vez que aspirações muito rápidas não permitem a adsorção do analito, prejudicando a recuperação e a repetibilidade [1,4,6,32,36]. Outra desvantagem é a possível obstrução do adsorvente quando se utilizam amostras viscosas e muito concentradas que não foram sujeitas a pré-tratamento [4].

1.2.1. MEPS: aplicação em bioanálise

A MEPS tem vindo a ser aplicada na análise de fármacos de diferentes classes desde antineoplásicos, antibióticos, antidepressivos, analgésicos, anti-inflamatórios, antiepiléticos, anestésicos e imunomoduladores em distintas matrizes biológicas [3,12]. Apesar da maioria dos métodos bioanalíticos que utilizam MEPS estarem focados na análise de fármacos já utilizados na prática clínica, tendo em conta as vantagens apresentadas pela MEPS será também útil a sua aplicação no âmbito dos programas de descoberta de novos fármacos, uma vez que a caracterização dos processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) é essencial desde etapas muito precoces; de facto, a MEPS permite trabalhar com pequenos volumes de amostra, podendo ser usada mesmo durante as etapas de avaliação farmacológica *in vitro*, e contribuindo também em estudos *in vivo* para o cumprimento dos princípios éticos subjacentes à utilização de animais de laboratório na investigação biomédica [3].

Conforme foi dito anteriormente a primeira aplicação de MEPS foi realizada por Abdel-Rehim (2003) em amostras de plasma humano [10]. Neste trabalho foi desenvolvida e validada uma nova técnica de preparação de amostras automatizada para a determinação da lidocaína, prilocaína, ropivacaína e mepivacaína, na qual a MEPS reduziu o tempo de preparação da amostra a apenas 1 minuto e, comparativamente a métodos anteriores que utilizavam SPE e LLE, que demoravam 15-20 minutos, obteve recuperações superiores (60-90%); ainda por comparação com técnicas anteriores que usaram SPME, nas quais as recuperações se situavam entre 1-10%, reduziu-se bastante o volume de amostra necessário [10 µL (MEPS) *versus* 1000 µL (SPME)] [10]. Abdel-Rehim *et al.* (2013) desenvolveram também um método para a determinação de lidocaína em amostras de saliva, as quais eram recolhidas e em seguida sujeitas a processamento pela microseringa eVol® [61].

Outros trabalhos com MEPS se seguiram com o objetivo de determinar a concentração de anestésicos locais em plasma humano, como o realizado por Morales *et al.* (2009), que pela primeira vez combinaram a MEPS automatizada com a eletroforese capilar em meio não-aquoso para a determinação das concentrações total e livre de anestésicos; estes autores concluíram que esta técnica é eficiente no pré-tratamento das amostras [43]. Daryanavard *et al.* (2013), por sua vez, utilizaram MIPs como adsorvente na MEPS e desenvolveram um método para a determinação simultânea de lidocaína, ropivacaína, mepivacaína e bupivacaína em amostras de plasma e urina humanas [52]. O método desenvolvido, por comparação com outros que utilizam SPE, permitiu trabalhar com volumes de amostras menores (10-100 µL), foi mais fácil de automatizar, para além de que cada MIP foi utilizado em mais 100 amostras antes de ser descartado [52].

Os antidepressivos são outra classe de fármacos em cuja análise se recorreu à MEPS. Chaves *et al.* (2010) desenvolveram um método utilizando MEPS e HPLC-UV, num

procedimento totalmente automatizado, para a determinação de sertralina, mirtazapina, fluoxetina, citalopram e paroxetina em amostras de plasma humano. Os limites de quantificação (LOQ) do método variaram de 10 a 25 ng/mL e com linearidade desde o LOQ até às 1000 ng/mL [17]. O tempo de preparação de cada amostra com este método foi de 3 minutos, podendo ser uma ferramenta útil para a monitorização das concentrações plasmáticas em doentes a efetuar tratamento com antidepressivos [17].

Magalhães *et al.* (2014) desenvolveram um método de HPLC com detetor de fluorescência, para a quantificação de venlafaxina e do seu principal metabolito, a O-desmetilvenlafaxina, em amostras de plasma humano [62]. Para a preparação da amostra foi utilizada a MEPS, o que comparativamente a trabalhos anteriores em que se utilizou SPE, apresenta como grande vantagem a possibilidade de reutilizar o cartucho adsorvente em várias amostras, sendo esta nova técnica menos dispendiosa, tornando-a numa técnica custo-efetiva para a monitorização das concentrações plasmáticas de doentes sob terapêutica com venlafaxina.

Saracino *et al.* (2014), por sua vez, desenvolveram e validaram um método para a quantificação do antidepressivo agomelatina em amostras de saliva e plasma [63]. As amostras foram sujeitas a MEPS e analisadas por HPLC com detetor de fluorescência, tendo sido o primeiro método a utilizar MEPS para a extração de agomelatina de amostras de plasma e saliva. Este revelou ser mais rápido, fácil de executar, menos dispendioso e consumiu menor volume de amostra e de solventes orgânicos comparativamente a outros que utilizaram como técnicas de preparação de amostra a LLE e a SPE [63].

Já Woźniakiewicz *et al.* (2014) desenvolveram um método para a determinação de nordoxepina, doxepina, desipramina, nortriptilina, imipramina e amitriptilina em amostras de saliva utilizando MEPS como técnica de extração e a quantificação foi realizada por HPLC-MS. Neste caso a MEPS revelou-se uma técnica rápida de executar e que removeu a maioria dos interferentes, além de que reduziu o número de resíduos produzidos por comparação a outros que utilizaram LLE ou SPE, estando assim de acordo com os pressupostos da Química Verde [44]. Previamente, Wietecha-Posluszny *et al.* (2012) desenvolveram e validaram uma técnica para a determinação destes mesmos seis compostos, em amostras de soro humano, por HPLC-DAD, utilizando também MEPS como técnica de preparação da amostra [34].

A determinação de antilipídicos em amostras biológicas, utilizando MEPS também já foi realizada. Vlčková *et al.* (2011) publicaram um método para a quantificação da atorvastatina e dos seus metabolitos por HPLC-MS/MS a partir de amostras de soro humano [32]. Comparando este método a um anterior que utilizou SPE, o método desenvolvido revelou ser três vezes mais rápido (7 minutos) na preparação de cada amostra, utilizou menor volume de amostra (50 µL *versus* 500µl) e menor volume de solvente orgânico para a eluição, o que permitiu dispensar o passo de evaporação para concentração dos analitos, necessário no procedimento com SPE, tornado assim o novo método mais adequado para as análises de rotina [32]. Vlčková *et al.* (2012) também desenvolveram e validaram um outro método para

a determinação de pravastatina e pravastatina lactona em amostras de plasma e urina de rato [36]. O método desenvolvido, por comparação a outros métodos anteriores que utilizaram SPE, revelou ter uma sensibilidade similar, mas com inúmeras vantagens, nomeadamente a maior rapidez de execução, o menor volume de amostra necessário e os menores volumes de solução de lavagem e eluição, sendo mais adequado para análise de amostras quando o volume disponível é limitado [36].

A determinação de antiepiléticos utilizando MEPS como técnica de preparação de amostra, também já foi realizada. Rani *et al.* (2012) desenvolveram e validaram um novo método para a determinação de carbamazepina (CBZ), oxcarbazepina e fenitoína por GC-MS em amostras de plasma e urina humanas [33]; por comparação a outros métodos anteriores que utilizaram SPE e SBSE, o novo método revelou ter uma exatidão e precisão similares, no entanto apresentou as grandes vantagens de reduzir trinta a cem vezes o tempo de preparação da amostra e também os volumes de amostra e soluções de lavagem e eluição necessárias [33].

De modo similar Saracino *et al.* (2010) desenvolveram e validaram um método para a quantificação da oxcarbazepina e seus metabolitos por HPLC-DAD em amostras de plasma e saliva humanas, utilizando MEPS para preparar as amostras. Também este novo método revelou ser mais rápido (10 minutos) na preparação da amostra que procedimentos anteriores que utilizavam LLE e SPE, além de que permitiu uma melhor seletividade, mesmo mediante reutilização de cada cartucho, contrariamente ao que acontece na SPE em que cada cartucho é descartado após uma única utilização [53].

Já Ferreira *et al.* (2014) desenvolveram um método, utilizando MEPS, para a quantificação por HPLC-DAD de lamotrigina, fenobarbital, fenitoína, CBZ, oxcarbazepina e dos seus metabolitos ativos, carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) e licarbazepina respetivamente, em amostras de plasma. Este método poderá ser útil na monitorização de doentes em mono e politerapia com lamotrigina, fenobarbital, fenitoína, CBZ e/ou oxcarbazepina [31].

A quantificação de anti-inflamatórios, nomeadamente furprofeno, indoprofeno, cetoprofeno, fenbufeno, flurbiprofeno, indometacina e ibuprofeno em amostras de plasma e urina [59] e de ácido acetilsalicílico, cetoprofeno, diclofenac, naproxeno e ibuprofeno em amostras de urina [25] por HPLC com detetor de fluorescência [59] e de UV [25], utilizando MEPS como técnica de preparação da amostra também já se encontra descrita na literatura. Em ambos os trabalhos [25,59] os métodos desenvolvidos apresentaram boa sensibilidade, seletividade e exatidão.

Quanto a antipsicóticos, Mercolini *et al.* (2014) reportaram um método para a determinação do antipsicótico atípico ziprasidona em amostras de plasma humano [64]. As amostras de plasma foram sujeitas a MEPS e analisadas por HPLC-UV, sendo a aplicação da

MEPS menos dispendiosa e mais rápida que a LLE e em comparação com a aplicação da SPE reduziu o volume de amostra e de solventes orgânicos necessários, além de melhorar a linearidade e precisão do método [64]. Também a risperidona já foi analisada em amostras de plasma, saliva [65,66] e urina [65], utilizando MEPS como técnica de preparação da amostra, tendo-se obtido em ambos os trabalhos [65,66] métodos de quantificação fiáveis e com potencial aplicação na monitorização de doentes a efetuar terapêutica com risperidona. Por sua vez, da Fonseca *et al.* (2013) desenvolveram um método, aplicando MEPS, para a determinação por GC-MS/MS de clorpromazina, haloperidol, ciamemazina, quetiapina, clozapina, olanzapina e levomepromazina em amostras de plasma humano [67].

A MEPS também já foi utilizada para a determinação de fármacos que atuam no aparelho cardiovascular. Magiera *et al.* (2013) desenvolveram e validaram um método para a determinação de aliscireno, prasugrel e rivaroxabano em amostras de urina humana, o qual poderá ser útil para a monitorização de concentrações em doentes a efetuar terapêutica com estes fármacos [35]. Do mesmo modo, como consequência da crescente associação do aliscireno aos inibidores da enzima de conversão da angiotensina, Magiera *et al.* (2015) desenvolveram e validaram um outro método para a quantificação de aliscireno, enalapril e o seu metabolito ativo, o enalaprilat, em amostras de plasma e urina humanas, o qual poderá ser útil em estudos farmacocinéticos de avaliação da bioequivalência/biodisponibilidade destes fármacos [55].

Já Rodrigues *et al.* (2013) desenvolveram e validaram o primeiro método para a determinação por HPLC-DAD de amiodarona e desetilamiodarona em amostras de plasma humano, usando MEPS como técnica de preparação da amostra [57], apresentando como vantagens em relação a métodos anteriores para a determinação destes compostos, o facto de não ser necessário um passo de evaporação e reconstituição para concentrar os analitos e o menor volume de amostra e de solventes orgânicos necessários, apresentando LOQs semelhantes ou mesmo inferiores a métodos que utilizavam maiores volumes de amostra [57].

Quanto a substâncias ilícitas, Montesano *et al.* (2015) desenvolveram e validaram um método para a análise em simultâneo de vinte substâncias ilícitas, entre as quais compostos pertencentes às classes da cocaína, anfetaminas, opióides naturais e sintéticos e alucinogénicos [20]. Neste método as amostras foram analisadas por HPLC-MS/MS, tendo sido antes sujeitas a PP e centrifugação para remover as proteínas precipitadas, seguindo-se a extração por MEPS que, comparativamente a métodos anteriores que utilizavam LLE e SPE, estas demoravam mais tempo a ser executadas, consumiam maior volume de solventes e necessitavam de maiores volumes de amostra, com LOQs semelhantes aos do método desenvolvido por Montesano *et al.* (2015) [20]. Previamente a este trabalho, outros métodos aplicando MEPS, mas utilizando outras matrizes, já haviam sido desenvolvidos, nomeadamente para a determinação de estimulantes do tipo das piperazinas [21,24], de cocaína e dos seus metabolitos [8] e de anfetaminas e metadona [14] em amostras de urina.

Quanto a opióides, Somaini *et al.* (2011) desenvolveram e validaram um método para a determinação, em simultâneo, em plasma humano, de buprenorfina, norbuprenorfina, metadona e naloxona em toxicod dependentes a efetuar tratamento de dependência de heroína [46]. A utilização de MEPS revelou ser mais rápida e requereu menores volumes de amostra e de solventes orgânicos do que procedimentos anteriores que utilizaram SPE e LLE [46]. Outras aplicações de MEPS na análise de opióides foram as de Said *et al.* (2011) na determinação, em plasma humano, de remifentanilo, um agonista opióide de curta duração, usado como analgésico em obstetrícia [68] e de Candish *et al.* (2012) na quantificação de oxicodona, morfina e codeína em urina humana [23].

Conforme foi referido anteriormente, dada a utilidade potencial da aplicação da MEPS na descoberta de novos fármacos, de forma a facilitar o processamento de amostras resultantes de ensaios *in vitro* e pré-clínicos, Abdel-Rehim *et al.* (2008) desenvolveram e validaram um método para a determinação de AZD3409, uma molécula com potencial aplicação terapêutica nas metástases ósseas resultantes de cancro da próstata [19]. O método desenvolvido visava a quantificação em amostras de plasma de rato, cão e humano [19]. Abdel-Rehim *et al.* (2013) também desenvolveram um método para a determinação, em amostras de plasma humano, de AZD6319, uma molécula candidata a fármaco, desenvolvida para o tratamento da doença de Alzheimer [49].

A quantificação de biomarcadores de algumas patologias, utilizando MEPS no seu procedimento também já se encontra descrito na literatura, nomeadamente a quantificação de bilirrubina, um biomarcador do cancro do pulmão, em amostras de plasma e urina [41]; a quantificação de ácido úrico, malondialdeído, 5-hidroximetiluracilo e 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina, biomarcadores de *stress* oxidativo, em amostras de urina, para calcular o risco de desenvolver uma doença cardiovascular [28]; a quantificação de 4-hidroxinonenal, um biomarcador inflamatório, em amostras biológicas [58]; e a quantificação de sarcosina, um aminoácido, cujo aumento de concentração na urina pode ser indicador de cancro da próstata [60].

A utilização de MEPS também poderá ser útil, em amostras de urina e de músculo de animais utilizados para consumo humano, com vista à deteção de eventuais substâncias utilizadas na dieta dos animais. Du *et al.* (2014) desenvolveram e validaram uma técnica com HPLC-UV, para a quantificação, em urina e músculo de suínos, de ractopamina, um agonista B2 usado para o tratamento da asma, mas que provoca o aumento de peso nos animais cuja dieta é suplementada com esta substância, sendo a sua utilização para esse fim proibida na União Europeia [7]. Comparativamente a um método similar que utilizou SPE, o método desenvolvido por Du *et al.* (2014) revelou maior rapidez no tempo de extração (3 *versus* 30 minutos), necessitou de menor quantidade de amostra (0,05 *versus* 3 mL), consumiu menor volume de solventes orgânicos (1 *versus* 7 mL) e apresentou limites de deteção e LOQ mais

baixos (0,003 *versus* 0,06 µg/mL em músculo e 0,01 *versus* 0,025 µg/mL em urina) [7]. Previamente também Anizan *et al.* (2012) tinham utilizado MEPS para a detecção de 5 α -androst-2-en-17-ona, um biomarcador do consumo de 4-androstenediona, um esteroide anabolizante promotor do crescimento animal, cuja utilização é proibida na Europa [69].

Outros trabalhos em que se utilizou MEPS como técnica de preparação da amostra foram a determinação em amostras de urina de amins heterocíclicas não polares [47], de cotinina [11], de carnitina e acilcarnitinas [70], a determinação de prenilflavonóides em cerveja [26], de clorofenóis em amostras de solo [51], de derivados do furano em amostras de vinho [54], de antidiabéticos orais [48] e de entecavir [71] em amostras de plasma, de cortisol, cortisona e corticosterona em amostras de saliva, plasma e *dried blood and urine spots* [72] e de catecolaminas em amostras de *dried plasma and urine spots* [42].

Em resumo, comparando a MEPS com a SPE uma das diferenças no procedimento é que a amostra e os solventes são aspirados a partir da parte inferior do adsorvente na MEPS enquanto na SPE o fluxo ocorre em sentido inverso, ou seja, de cima para baixo [30]. Esta particularidade oferece algumas vantagens à MEPS comparativamente à SPE quando se trabalha com amostras biológicas, nomeadamente, a possibilidade de eluir apenas a parte inferior do adsorvente, com volumes de solvente orgânico inferiores ao volume do adsorvente, o que permite aumentar a concentração dos analitos e processar volumes de amostra próximos ao limite de precisão da seringa [30]. Outra vantagem é a redução no mecanismo de coagulação que têm vindo a ser propostos como responsáveis pela obstrução dos cartuchos de SPE quando se utilizam amostras viscosas como o plasma, uma vez que ocorre descompressão do adsorvente ao efetuarmos uma aspiração de baixo para cima, enquanto na SPE ao executarmos o procedimento oposto temos a compressão do adsorvente [30]. A MEPS é uma técnica altamente seletiva e reproduzível, com a qual se obtêm elevadas recuperações, para além de que envolve um menor número de passos e consome menor volume de amostra e solventes, quando comparada à SPE [42,72].

Ainda relativamente à LLE e à SPE, a MEPS reduz o tempo de preparação da amostra e o consumo de solventes orgânicos [29,42,48]; em relação à PP e à SPE, a MEPS poderá em alguns casos permitir uma maior recuperação de analito com menor quantidade de interferentes no processo de extração [2,33]; e, comparativamente à SPME, a MEPS é uma técnica mais robusta, dado que na SPME as fibras de extração são bastantes sensíveis aos interferentes das amostras biológicas [6,10,12,13,15,29,43,47,51,65,66].

2. Objetivos

A MEPS é uma técnica de preparação de amostra relativamente recente. Na literatura existem já diversos estudos aplicando esta técnica em amostras de sangue total, plasma, urina, águas residuais e algumas bebidas. No entanto, é de esperar que no futuro a aplicação desta técnica de preparação de amostras possa vir a ser amplamente empregue para outros fins bioanalíticos, incluindo para a bioanálise em tecidos. Porém, ao dia de hoje, tanto quanto seja do nosso conhecimento, a aplicação de MEPS em procedimentos destinados à análise de fármacos/metabolitos em tecidos resume-se apenas à análise de ractopamina em amostras de músculo de animais utilizados para consumo humano.

Assim, o principal objetivo deste trabalho é tentar demonstrar que a MEPS também é uma técnica de preparação de amostra apropriada quando se pretende analisar a concentração de fármacos e seus metabolitos em tecidos de interesse ímpar no contexto da avaliação da biodisposição de fármacos, nomeadamente cérebro e fígado, quando se realizam estudos *in vivo* de cariz não clínico.

Com o intuito de cumprir o objetivo proposto selecionou-se um fármaco (CBZ) e o seu metabolito ativo (CBZ-E) como analitos “modelo” a considerar nos estudos subsequentes. De facto, estes analitos têm sido alvo de diferentes estudos *in vitro* e *in vivo* conduzidos no seio da equipa de investigação e, por isso, pelo conhecimento bioanalítico e farmacocinético que deles existe, foram considerados os analitos mais adequados para a concretização deste trabalho. Para tal, foram traçados vários objetivos parcelares:

- Desenvolvimento e validação de um método cromatográfico para a determinação quantitativa de CBZ e CBZ-E em plasma, cérebro e fígado de murganho, utilizando MEPS no procedimento de preparação da amostra;
- Aplicação da metodologia analítica validada à determinação das concentrações de CBZ e CBZ-E em amostras reais, de plasma e tecidos (cérebro e fígado), obtidas de murganhos tratados com o fármaco;
- Análise farmacocinética das curvas concentração-tempo (CBZ e CBZ-E) obtidas e comparação dos parâmetros cinéticos estimados com aqueles gerados em outros estudos.

3. Material e métodos

3.1. Reagentes e químicos

A CBZ, a CBZ-E e a 10,11-dihidrocarbamazepina [padrão interno (PI)] utilizadas na validação do método analítico foram adquiridas à Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), apresentando-se as suas estruturas químicas na Figura 1. O metanol e o acetonitrilo (grau de HPLC) foram adquiridos à Chem-Lab (Zedelgem, Bélgica). A água ultrapura (grau de HPLC >18 MΩ.cm) foi obtida através de um aparelho de água milli-Q da Millipore (Milford, MA, EUA). O fosfato de sódio dibásico anidro e o fosfato de sódio monobásico anidro foram adquiridas à Panreac (Barcelona, Espanha), o ácido clorídrico fumegante a 37% foi adquirido à BDH Prolabo (Fontenay-Sous Bois, França).

A coluna adsorvente de C₁₈ e a seringa de 250 µL (SGE, *Analytical Science*, Austrália) foram adquiridas à ILC (Porto, Portugal).

A suspensão de CBZ (Tegretol®) e a carboximetilcelulose utilizadas neste trabalho foram adquiridas à Farmácia São Cosme, e à Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), respetivamente.

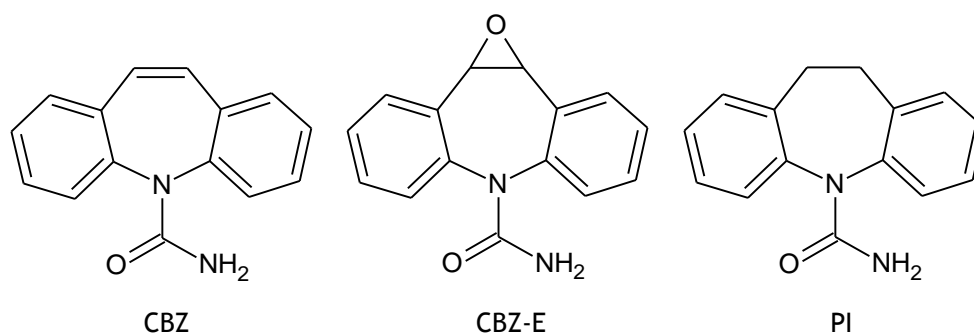


Figura 1 - Estrutura química da carbamazepina (CBZ), da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) e da 10,11-dihidrocarbamazepina (PI).

3.2. Matriz branca de plasma, cérebro e fígado

As matrizes brancas de plasma e tecidos (cérebro e fígado) para os procedimentos requeridos no desenvolvimento, validação e aplicação do método analítico foram obtidas a partir de murganhos machos adultos não sujeitos a qualquer tratamento. Durante todo o período de alojamento os murganhos tiveram livre acesso a água e a dieta padronizada para roedores (4RF21, Mucedola, Itália) e foram mantidos em condições ambientais controladas (ciclos de 12 h de luminosidade/obscuridade, temperatura de 20 ± 2°C e humidade de 55 ± 5%).

3.3. Soluções *stock*, padrões de calibração e amostras de controlo de qualidade

As soluções *stock* de CBZ, CBZ-E e do PI, a 10,11-dihidrocarbamazepina, foram preparadas individualmente a uma concentração de 1 mg/mL, utilizando como solvente o metanol. As soluções *stock* de CBZ e de CBZ-E foram diluídas em metanol, obtendo-se soluções intermédias com a concentração de 50 µg/mL. A solução *stock* de 10,11-dihidrocarbamazepina foi diluída obtendo-se soluções de trabalho com a concentração de 40 µg/mL em água/metanol (50:50, v/v).

Tanto as soluções *stock* como as soluções intermédias de CBZ e CBZ-E foram usadas para a preparação de seis soluções de fortificação combinadas em água/metanol (50:50, v/v), para as amostras de plasma e homogeneizado de cérebro, com as concentrações finais de 0,5; 1; 3; 10; 30; 50 µg/mL de CBZ e 0,5; 1; 2; 5; 15; 25 µg/mL de CBZ-E. Estas soluções de fortificação combinadas foram usadas para fortificar alíquotas de plasma e sobrenadante do homogeneizado de cérebro, obtendo-se desta forma os padrões de calibração com as concentrações de respetivamente 0,1; 0,2; 0,6; 2; 6; 10 µg/mL de CBZ e 0,1; 0,2; 0,4; 1; 3; 5 µg/mL de CBZ-E.

Para as alíquotas de homogeneizado de fígado foram preparadas soluções de fortificação combinadas com a concentração de 1; 2; 6; 15; 30; 50 µg/mL de CBZ e 1; 2; 4; 7,5; 15; 25 µg/mL de CBZ-E. Estas soluções de fortificação foram usadas para fortificar alíquotas de sobrenadante de homogeneizado de fígado, obtendo-se os padrões de calibração com as concentrações de respetivamente 0,2; 0,4; 1,2; 3; 6; 10 µg/mL de CBZ e 0,2; 0,4; 0,8; 1,5; 3; 5 µg/mL de CBZ-E.

Quanto às amostras de controlo de qualidade (CQ) também foram preparadas soluções de fortificação combinadas, para as amostras de plasma e homogeneizado de cérebro, com as concentrações de 0,5; 1,5; 25; 45 µg/mL de CBZ e 0,5; 1,5; 12,5; 22,5 µg/mL de CBZ-E, das quais se adicionou um volume apropriado a alíquotas de plasma e sobrenadante de homogeneizado de cérebro obtendo-se amostras representativas do LOQ, CQ_{LOQ} : 0,1 µg/mL de CBZ e CBZ-E, da gama inferior da curva de calibração, CQ_1 : 0,3 µg/mL de CBZ e CBZ-E, da gama média da curva de calibração, CQ_2 : 5 µg/mL de CBZ e 2,5 µg/mL de CBZ-E e da gama superior da curva de calibração, CQ_3 : 9 µg/mL de CBZ e 4,5 µg/mL de CBZ-E.

Para as alíquotas de homogeneizado de fígado foram preparadas soluções de fortificação combinadas com a concentração de 1; 3; 25; 45 µg/mL de CBZ e 1; 3; 12,5; 22,5 µg/mL de CBZ-E, das quais se adicionou um volume apropriado a alíquotas de sobrenadante de homogeneizado de fígado obtendo-se o CQ_{LOQ} : 0,2 µg/mL de CBZ e CBZ-E, CQ_1 : 0,6 µg/mL de CBZ e CBZ-E, CQ_2 : 5 µg/mL de CBZ e 2,5 µg/mL de CBZ-E e CQ_3 : 9 µg/mL de CBZ e 4,5 µg/mL de CBZ-E.

As soluções *stock* foram armazenadas a -20°C e protegidas da luz, enquanto as soluções intermédias e as soluções de fortificação combinadas para os padrões de calibração e para os

CQs foram armazenadas no frigorífico a 4°C e protegidas da luz. A solução de trabalho do PI foi preparada diariamente.

3.4. Preparação das amostras

O procedimento de preparação das amostras foi baseado nos trabalhos de Serralheiro *et al.* (2014) [73] e Ferreira *et al.* (2014) [31], sendo as condições utilizadas as que a seguir se apresentam.

Para a análise, a cada alíquota de 100 µL de plasma e de sobrenadante de homogeneizados de cérebro e fígado foram adicionados 20 µL da solução de trabalho da 10,11-dihidrocarbamazepina, o PI. Em seguida, fez-se a adição de 400 µL de acetonitrilo frio para precipitar as proteínas plasmáticas, a mistura foi levada ao vórtex durante 30 segundos e posteriormente foi centrifugada a 17000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos. Após a centrifugação foram recolhidos 480 µL de sobrenadante e este foi evaporado até *secura* sob corrente de azoto a 45°C. O resíduo seco foi reconstituído em 200 µL de tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 5,5 e levado ao vórtex durante 1 minuto. A amostra resultante foi então submetida a um procedimento de MEPS.

O cartucho de MEPS com adsorvente C₁₈ foi ativado com três ciclos de aspiração/rejeição de 200 µL de metanol seguida de três ciclos de aspiração/rejeição de 200 µL de água milli-Q. Em seguida, cada amostra foi sujeita a dez ciclos de aspiração/rejeição a um fluxo de aproximadamente 10 µL/s. Por fim, o adsorvente foi lavado através da aspiração e rejeição de 200 µL de água milli-Q com o objetivo de remover interferentes e os analitos da amostra foram eluídos com duas vezes 30 µL de metanol. Os 60 µL de metanol contendo os analitos foram diluídos em 90 µL de água milli-Q, levados ao vórtex e centrifugados a 13500 rpm durante 2 minutos, sendo injetado no sistema cromatográfico uma alíquota de 20 µL desta mistura. De forma a poder-se reutilizar o cartucho de MEPS, entre a extração de cada amostra, o adsorvente foi lavado sequencialmente com doze ciclos de aspiração/rejeição de 200 µL de metanol seguidos de cinco ciclos de aspiração/rejeição de 200 µL de água milli-Q.

3.5. Condições cromatográficas

A análise cromatográfica foi realizada através de um sistema de HPLC da marca Shimadzu (Japão) equipado com um módulo compacto (LC2010AHT) e com um detetor de díodos acoplado (SPDM20A). Todas as partes instrumentais foram automaticamente controladas pelo *software* LabSolutions.

Para se alcançar a separação cromatográfica da CBZ, da CBZ-E e da 10,11-dihidrocarbamazepina, com base no trabalho de Fortuna *et al.* (2010) [74], foi utilizado uma eluição isocrática, com uma fase móvel composta por água-metanol-acetonitrilo (64:30:6,

v/v/v) a um fluxo de 1,0 mL/minuto, numa coluna de fase reversa LiChroCART® Purospher Star-C₁₈ (55 mm x 4 mm; 3 µm de tamanho de partícula), fornecida pela Merck KGaA (Darmstadt, Alemanha). O volume de injeção foi de 20 µL e o comprimento de onda selecionado para a deteção de todos os compostos foi 215 nm.

3.6. Validação do método

O método cromatográfico utilizado para a quantificação da CBZ e da CBZ-E nas diferentes matrizes foi submetido a uma validação parcial, tendo em consideração as recomendações internacionais para a validação de métodos bioanalíticos [75-77], tendo sido avaliada a seletividade, a linearidade da curva de calibração e o LOQ, a precisão, a exatidão e a recuperação, com o objetivo de demonstrar que o método utilizado é fidedigno e reprodutível na quantificação dos analitos nas três matrizes utilizadas.

A seletividade de um método analítico é a capacidade deste quantificar o(s) analito(s) de interesse, neste caso a CBZ e a CBZ-E, na presença de outros componentes endógenos da matriz [75-77]. Para avaliar a interferência dos componentes endógenos da matriz, foi feita a análise de seis amostras brancas de plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado, com o objetivo de investigar a presença de eventuais substâncias que eluíssem ao tempo de retenção da CBZ, da CBZ-E e do PI.

Para se verificar a linearidade do método cromatográfico para a quantificação dos analitos foram construídas curvas de calibração, preparadas em matriz branca, fortificada com seis padrões de calibração com concentrações conhecidas de analito. As gamas das curvas de calibração em plasma e em homogeneizado de cérebro foram de 0,1-10 µg/mL para a CBZ e de 0,1-5 µg/mL para a CBZ-E. Em homogeneizado de fígado, como esta matriz possuía maior número de interferentes, foi necessário elevar o LOQ, sendo a gama da curva de calibração de 0,2-10 µg/mL para a CBZ e de 0,2-5 µg/mL para a CBZ-E. As curvas de calibração foram construídas mediante a representação gráfica do rácio das áreas dos picos (analito/PI) *versus* as concentrações dos analitos. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de regressão linear ponderada, para a qual se utilizou como fator de ponderação $1/x^2$.

O LOQ foi estabelecido como a concentração mais baixa da curva de calibração capaz de ser medida com precisão, ou seja, com um coeficiente de variação (CV) igual ou inferior a 20%, com exatidão, ou seja, um *bias* com um máximo de $\pm 20\%$ e com um sinal superior em pelo menos cinco vezes ao obtido com um branco [76,77]. Para a avaliação do LOQ foram feitas análises em replicado ($n = 3$), intra e interdia, de amostras de plasma, homogeneizado de cérebro e homogeneizado de fígado na concentração mais baixa da gama de calibração.

A precisão de um método analítico avalia a proximidade entre as determinações individuais de um analito quando o ensaio é aplicado repetidamente a múltiplas alíquotas da mesma matriz biológica [75-77]. A avaliação da precisão intra e interdia foi feita através de amostras de CQ em replicado ($n = 3$): CQ_{LOQ}, CQ₁, CQ₂ e CQ₃.

A exatidão de um método analítico refere-se à proximidade, expressa em percentagem, entre o valor de concentração do analito medido no ensaio e o valor verdadeiro de concentração do analito [76,77]. A avaliação da exatidão intra e interdia foi feita recorrendo a amostras de CQ em replicado ($n = 3$): CQ_{LOQ}, CQ₁, CQ₂ e CQ₃.

Os critérios de aceitação utilizados para a precisão e exatidão intra e interdia para cada um dos CQ, foi um CV [$CV(\%) = (\text{desvio padrão}/\text{média}) \times 100$] com um valor máximo de 15% e um *bias* [$bias(\%) = ((C_{\text{experimental}} - C_{\text{nominal}})/C_{\text{nominal}}) \times 100$] com um valor máximo de $\pm 15\%$ respetivamente [76,77], exceto para a concentração correspondente ao LOQ em que os valores poderiam ir até 20%, como referido anteriormente.

A recuperação de um analito num ensaio refere-se à diferença entre o sinal do detetor do aparelho de quantificação quando uma quantidade conhecida de analito é adicionada e extraída de uma matriz biológica, por comparação ao sinal obtido pelo padrão puro com essa mesma quantidade de analito, que representa 100% de recuperação [75,76]. A recuperação dos analitos e do PI não necessita de ser 100%, no entanto, deve ser sempre consistente e reproduzível [76]. A recuperação dos analitos quantificados (CBZ e CBZ-E) e do PI (10,11-dihidrocarbamazepina) submetidos ao procedimento de preparação de amostra, descrito na secção 3.4, foi calculada fazendo a razão entre a área do pico das amostras de CQ processadas e a área do pico das soluções padrão com a mesma quantidade de analito dos CQ, que foram injetadas diretamente no cromatógrafo.

3.7. Aplicação do método a amostras reais e análise farmacocinética

O método analítico (MEPS/HPLC-DAD) validado foi aplicado para a quantificação de CBZ e CBZ-E em amostras reais de plasma, cérebro e fígado obtidas a partir de murganhos tratados com uma suspensão de CBZ (50 mg/kg) por via oral usando uma sonda intragástrica.

Para tal, foram utilizados vinte e quatro murganhos, machos e adultos (29-38 g) com cerca de dois meses de idade. Durante todo o período de alojamento os murganhos tiveram livre acesso a água e a dieta padronizada para roedores (4RF21, Mucedola, Itália) e foram mantidos em condições ambientais controladas (ciclos de 12 h de luminosidade/obscuridade, temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e humidade de $55 \pm 5\%$).

A suspensão oral de CBZ administrada foi preparada a partir de uma preparação comercial (Tegretol® 20 mg/mL suspensão oral), a qual foi diluída com uma solução de carboximetilcelulose a 0,5% (m/v), aplicando-se um fator de diluição de 4 vezes, ou seja, a suspensão final administrada estava numa concentração de 5 mg/mL, administrando-se um volume de 300 μL por cada 30 g de peso.

Para caracterizar o perfil farmacocinético da CBZ e do seu metabolito (CBZ-E) nas três matrizes de interesse (plasma, cérebro e fígado), após a administração da suspensão oral de CBZ os murganhos foram sacrificados em diferentes pontos pré-determinados no tempo (0,5; 1; 2; 4; 8; 12 horas), utilizando-se 4 animais por cada ponto no tempo ($n = 4$). De referir que

entre a administração da suspensão oral de CBZ e o sacrifício, os animais tiveram livre acesso a água e dieta.

Após o sacrifício dos murganhos, por deslocamento cervical seguido de decapitação, o sangue foi recolhido imediatamente para tubos de colheita heparinizados, que se colocaram em gelo e logo que possível foram centrifugados a 4000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos recolhendo-se o plasma sobrenadante que foi congelado a -20°C até ser analisado. O cérebro e o fígado, recolhidos após dissecação dos murganhos, foram também colocados em gelo e assim que possível, pesados e homogeneizados em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 5,5 (4 mL de tampão por cada grama de tecido). Os homogeneizados foram centrifugados a 17000 rpm, a 4°C, durante 15 minutos e os sobrenadantes resultantes foram congelados a -20°C até serem analisados. Todos os procedimentos de experimentação animal foram realizados em conformidade com a Diretiva Europeia para a proteção dos animais utilizados para fins científicos (2010/63/EU) [78].

Após a análise de cada amostra, os perfis concentração-tempo obtidos para a CBZ e CBZ-E nas três matrizes de interesse (plasma, cérebro e fígado) foram traçados e analisados recorrendo aos princípios subjacentes a uma análise farmacocinética não-compartimental. A concentração máxima (C_{max}) e o tempo para se alcançar a concentração máxima (t_{max}) obtiveram-se diretamente a partir dos perfis, enquanto que os restantes parâmetros farmacocinéticos, nomeadamente o tempo de semivida de eliminação ($t_{1/2el}$), a área sob a curva concentração-tempo (AUC) desde o tempo 0 até ao tempo (t) (AUC_{0-t}), a AUC desde o tempo 0 até ao infinito ($AUC_{0-\infty}$), a constante de velocidade de eliminação (k_{el}) e o tempo médio de residência (MRT) foram estimados. A k_{el} foi calculada por regressão não-linear do segmento terminal da curva concentração-tempo; a AUC_{0-t} foi calculada utilizando a regra trapezoidal linear; a $AUC_{0-\infty}$ foi calculada a partir da $AUC_{0-t} + (C_t/k_{el})$, em que C_t é a última concentração quantificada.

4. Resultados

Nesta secção apresentam-se os resultados da validação do método cromatográfico utilizado para a quantificação da CBZ e da CBZ-E no plasma e homogeneizados de cérebro e fígado de murganho. São também apresentados os resultados obtidos nos ensaios experimentais executados para comprovar a aplicabilidade da MEPS, como técnica de preparação de amostras de tecidos.

4.1. Validação do método (MEPS/HPLC-DAD)

A análise de amostras brancas de plasma, de homogeneizado de cérebro e de homogeneizado de fígado de murganho demonstrou que o método desenvolvido é seletivo, uma vez que aos tempos de retenção dos analitos de interesse (CBZ e CBZ-E) e do PI não existiam interferentes endógenos ao comprimento de onda de 215 nm. Na Figura 2 estão exemplificados os cromatogramas de amostras brancas e de amostras fortificadas com o PI e os analitos CBZ e CBZ-E nas concentrações mais baixas da gama de calibração (LOQs). Com as condições cromatográficas utilizadas, o primeiro composto a eluir foi a CBZ-E, seguida da CBZ e por fim o PI.

As curvas de calibração obtidas em plasma e homogeneizado de cérebro de murganho demonstraram linearidade na gama de concentrações 0,1-10 µg/mL para a CBZ e de 0,1-5 µg/mL para a CBZ-E. Já para as amostras de homogeneizado de fígado a curva de calibração demonstrou linearidade na gama de concentrações de 0,2-10 µg/mL para a CBZ e de 0,2-5 µg/mL para a CBZ-E. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de regressão linear ponderada, usando como fator de ponderação o inverso do quadrado da concentração ($1/x^2$), o qual foi selecionado atendendo às curvas geradas e à soma em valor absoluto da percentagem de erro relativo. As equações e os coeficientes de determinação (r^2) das curvas de calibração são apresentados na Tabela 1.

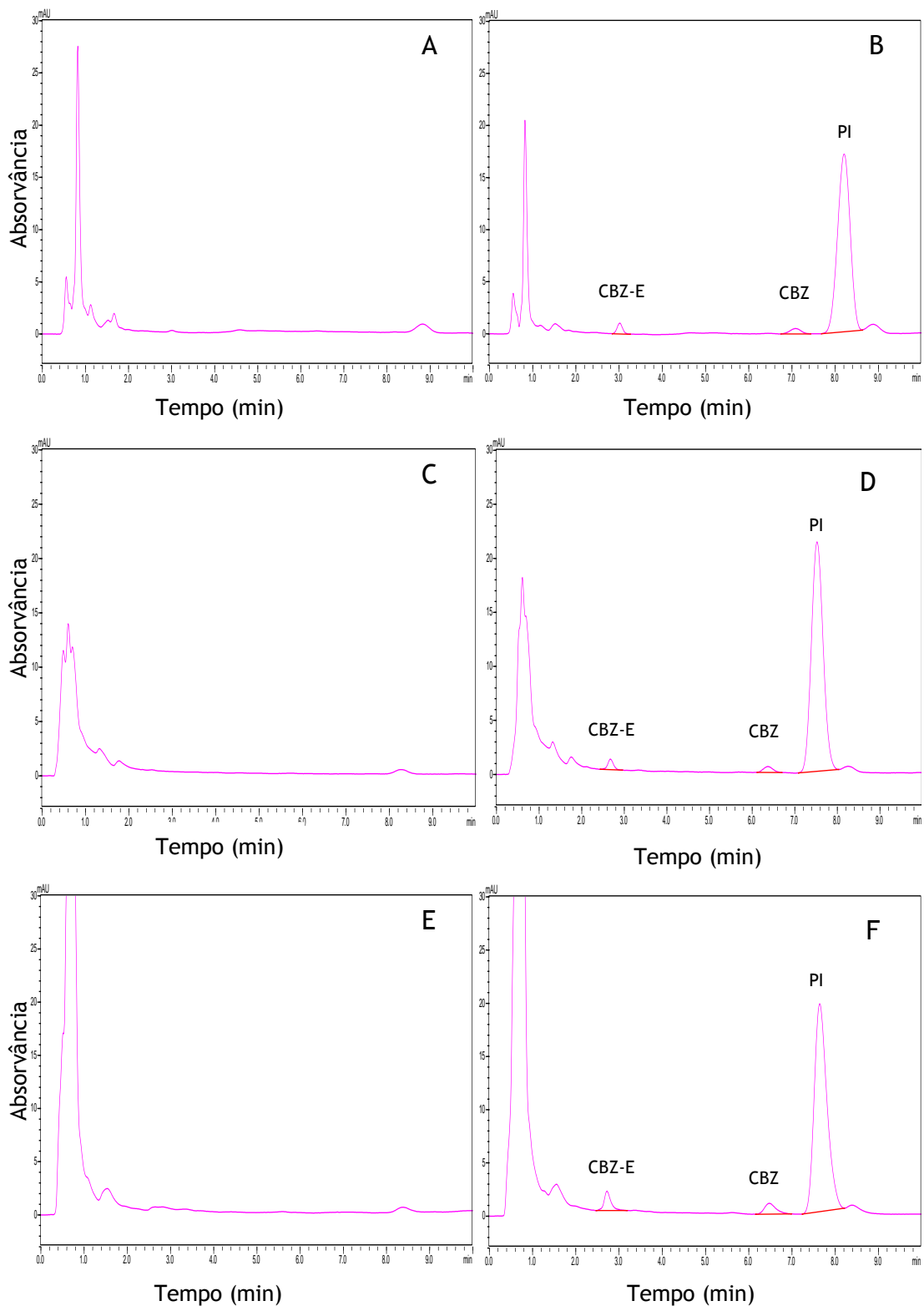


Figura 2 - Cromatogramas, obtidos a 215 nm, de amostras extraídas: A) branco de plasma; B) plasma fortificado com carbamazepina (CBZ) e carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) às concentrações do limite de quantificação (LOQ); C) branco de homogeneizado de cérebro; D) homogeneizado de cérebro fortificado com CBZ e CBZ-E às concentrações do LOQ; E) branco de homogeneizado de fígado; F) homogeneizado de fígado fortificado com CBZ e CBZ-E às concentrações do LOQ. PI (padrão interno, 10,11-dihidrocarbamazepina).

Tabela 1 - Parâmetros médios das curvas de calibração obtidas para a carbamazepina (CBZ) e carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho ($n = 3$).

Matriz	Analito	Gama de calibração ($\mu\text{g/mL}$)	Equação ^a	r^2
Plasma	CBZ	0,1-10	$y = 0,22152x + 1,05\text{E-}03$	0,9970
	CBZ-E	0,1-5	$y = 0,21200x + 5,49\text{E-}03$	0,9941
Cérebro	CBZ	0,1-10	$y = 0,22450x + 7,79\text{E-}04$	0,9974
	CBZ-E	0,1-5	$y = 0,21334x + 3,07\text{E-}03$	0,9945
Fígado	CBZ	0,2-10	$y = 0,21419x + 2,69\text{E-}03$	0,9968
	CBZ-E	0,2-5	$y = 0,20512x + 1,34\text{E-}02$	0,9968

^a y , representa a razão entre a área do pico do analito e a área do pico do padrão interno; x , representa a concentração de analito.

O LOQ estabelecido para a CBZ e para a CBZ-E foi de 0,1 $\mu\text{g/mL}$ nas amostras de plasma e de homogeneizado de cérebro e de 0,2 $\mu\text{g/mL}$ nas amostras de homogeneizado de fígado, uma vez que estas foram as concentrações mais baixas das gamas de calibração utilizadas e quantificadas intra e interdia ($n = 3$) com precisão e exatidão dentro dos critérios de aceitação ($\text{CV} \leq 20\%$ e um *bias* entre $\pm 20\%$). Na Tabela 2 são apresentados os resultados da precisão e exatidão intra e interdia do método cromatográfico utilizado para medir as concentrações de CBZ e CBZ-E nas diferentes matrizes.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 2 podemos verificar que para as diferentes matrizes utilizadas (plasma, homogeneizado de cérebro e homogeneizado de fígado), os valores de CV (%) foram menores ou iguais a 9,50% e os valores de *bias* (%) variaram entre -12,73% e 11,84%, ou seja, estão dentro dos critérios de aceitação considerados internacionalmente ($\text{CV} \leq 15\%$ e um *bias* entre $\pm 15\%$) para se considerar que o método cromatográfico é preciso e exato para a quantificação dos analitos (CBZ e CBZ-E) em plasma e homogeneizados de cérebro e fígado de murganho.

Tabela 2 - Valores de precisão (% CV) e exatidão (% *bias*) intra e interdia para a quantificação da carbamazepina (CBZ) e da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho, nas concentrações correspondentes ao limite de quantificação (CQ_{LOQ}) e CQ₁, CQ₂ e CQ₃ (n = 3).

Matriz	Analito	C _{nominal} (µg/mL)	Precisão (% CV)		Exatidão (% <i>bias</i>)	
			Intradia	Interdia	Intradia	Interdia
Plasma	CBZ	0,1	2,34	7,90	0,65	6,29
		0,3	0,44	2,50	2,93	6,29
		5	1,54	3,01	-8,09	-5,85
		9	0,48	1,61	-1,80	2,06
	CBZ-E	0,1	1,03	3,38	-12,73	0,88
		0,3	3,97	3,70	4,77	9,80
		2,5	1,40	4,22	-7,10	-4,62
		4,5	0,42	1,07	-0,69	2,40
Cérebro	CBZ	0,1	8,68	9,50	-0,12	11,84
		0,3	2,26	1,71	3,59	5,29
		5	0,48	0,66	-4,96	-4,23
		9	0,79	1,50	-0,74	-0,85
	CBZ-E	0,1	4,37	1,25	-0,87	7,59
		0,3	2,86	0,71	8,78	11,55
		2,5	1,09	1,61	-3,85	-2,74
		4,5	1,73	0,94	0,64	-0,90
Fígado	CBZ	0,2	2,42	6,45	-6,38	-1,75
		0,6	1,32	5,64	1,46	4,43
		5	0,38	3,19	0,33	2,05
		9	0,22	1,74	3,21	3,54
	CBZ-E	0,2	5,12	4,88	-0,04	5,52
		0,6	6,78	8,53	6,57	10,94
		2,5	1,18	6,12	-4,60	-0,99
		4,5	1,24	2,19	-5,06	1,11

Os resultados referentes à recuperação absoluta do PI e dos analitos nas concentrações correspondentes aos CQ₁, CQ₂ e CQ₃ a partir de amostras de plasma e de homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho são apresentados na Tabela 3. Globalmente, nas diferentes matrizes, para a CBZ e a CBZ-E as médias das recuperações absolutas variaram entre 73,15% e 92,24%, com valores de CV ≤ 7,76%. Para o PI a média da recuperação absoluta variou de 74,03% a 80,01% e apresentou um CV ≤ 3,29%. Estes resultados comprovam que a escolha do PI foi adequada e que o método de preparação da amostra utilizando a microextração em seringa empacotada garante uma recuperação média consistente e reprodutível.

Tabela 3 - Recuperação absoluta (%) da carbamazepina (CBZ), da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) e da 10,11-dihidrocarbamazepina (PI) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho, nas concentrações correspondentes aos CQ₁, CQ₂ e CQ₃ (n = 3).

Matriz	Analito	C _{nominal} (µg/mL)	Recuperação absoluta (%) ^a	Precisão (%CV)	
Plasma	CBZ	0,3	77,27 ± 3,09	4,00	
		5	76,11 ± 2,47	3,24	
		9	73,15 ± 1,62	2,21	
	CBZ-E	0,3	79,77 ± 6,19	7,76	
		2,5	76,02 ± 2,28	3,00	
		4,5	73,30 ± 1,64	2,24	
	PI ^b	8	74,03 ± 2,44	3,29	
	Cérebro	CBZ	0,3	80,39 ± 3,63	4,51
			5	82,57 ± 2,81	3,40
9			82,52 ± 1,47	1,79	
CBZ-E		0,3	80,27 ± 3,43	4,27	
		2,5	80,67 ± 2,06	2,56	
		4,5	81,30 ± 2,24	2,76	
PI ^b		8	80,01 ± 2,23	2,78	
Fígado		CBZ	0,6	75,65 ± 0,91	1,21
			5	77,59 ± 3,01	3,87
	9		77,02 ± 2,79	3,62	
	CBZ-E	0,6	92,24 ± 5,63	6,11	
		2,5	80,66 ± 3,69	4,58	
		4,5	75,33 ± 2,25	2,99	
	PI ^b	8	77,53 ± 2,42	3,12	

^a Média ± desvio padrão

^b Padrão interno, n = 9

4.2. Aplicação do método a amostras reais e análise farmacocinética

As concentrações de CBZ e CBZ-E, em plasma, cérebro e fígado de murganho foram avaliadas durante as 12 horas pós-administração da suspensão oral de CBZ. Estas concentrações foram determinadas utilizando o método de preparação de amostra, descrito na *secção* 3.4, e a técnica cromatográfica cujos resultados da validação estão anteriormente descritos. Na Figura 3 são apresentados cromatogramas representativos da análise de cada uma das matrizes, sendo os exemplos apresentados de um murganho, cujo sacrifício ocorreu 2 horas após a administração da suspensão oral de CBZ. A média (n = 4) das concentrações de

CBZ e CBZ-E obtidas em cada ponto do tempo nas amostras de plasma, homogeneizado de cérebro e homogeneizado de fígado são apresentadas na Figura 4.

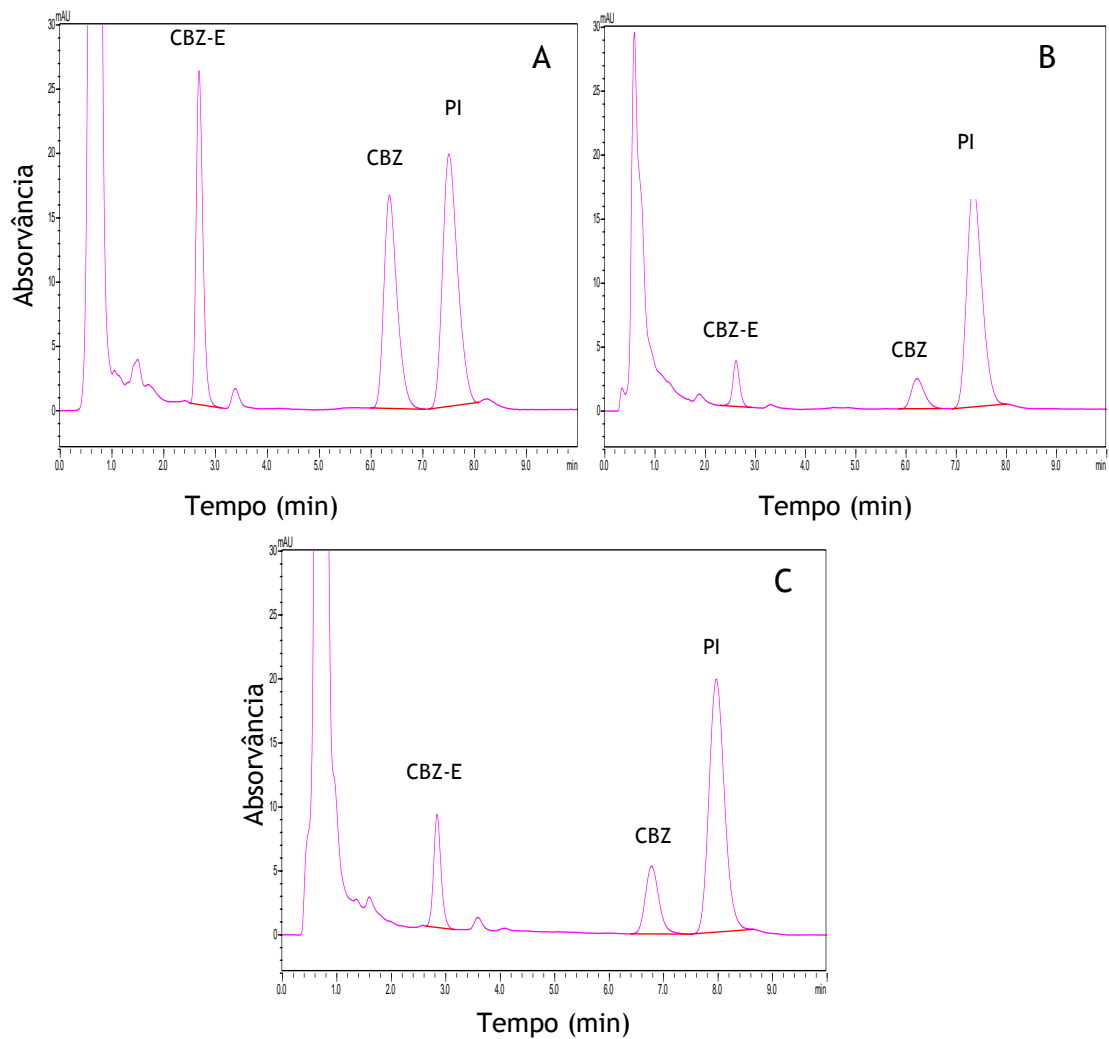


Figura 3 - Cromatogramas, obtidos a 215 nm, de amostras obtidas às 2 horas após a administração oral de carbamazepina (CBZ; 50 mg/kg): A) Plasma; B) homogeneizado de cérebro; C) homogeneizado de fígado. CBZ-E (carbamazepina-10,11-epóxido), PI (padrão interno, 10,11-dihidrocarbamazepina).

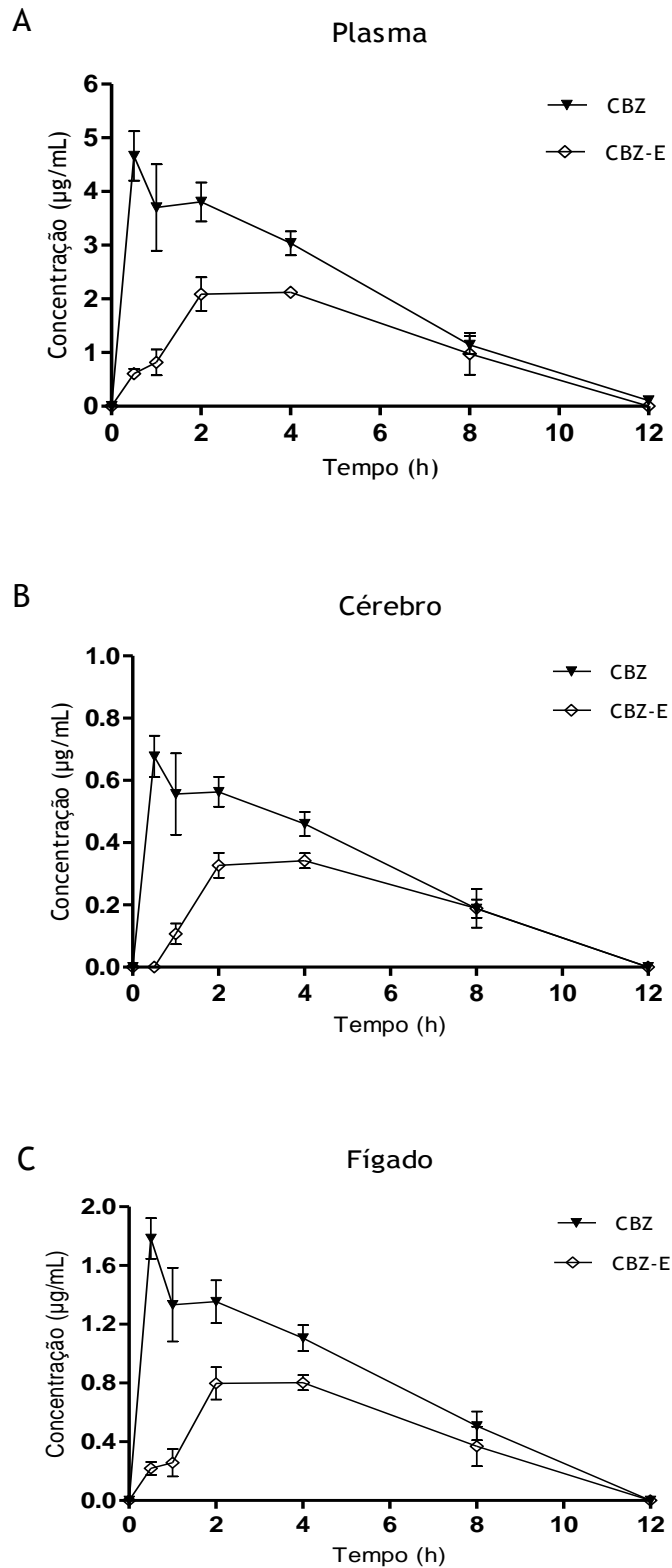


Figura 4 - Perfis concentração-tempo da carbamazepina (CBZ) e da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E), após a administração oral de uma suspensão de CBZ (50mg/kg) a murganhos, em: A) plasma; B) homogeneizado de cérebro; C) homogeneizado de fígado. Os símbolos representam a média \pm erro padrão da média das quatro determinações por cada ponto no tempo ($n = 4$).

As concentrações médias de CBZ e CBZ-E, em função do tempo, obtidas em cada uma das matrizes, foram sujeitas a uma análise farmacocinética não-compartimental, e os principais parâmetros farmacocinéticos são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros farmacocinéticos da carbamazepina (CBZ) e da carbamazepina-10,11-epóxido (CBZ-E) em plasma e homogeneizados de cérebro e de fígado de murganho, obtidos após a administração oral de uma dose única de CBZ (50 mg/kg).

Parâmetros farmacocinéticos	Matriz					
	Plasma		Cérebro		Fígado	
	CBZ	CBZ-E	CBZ	CBZ-E	CBZ	CBZ-E
t_{max} (h)	0,500	4,000	0,500	4,000	0,500	4,000
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	4,663	2,124	0,677	0,342	1,784	0,803
AUC_{0-t} ($\mu\text{g h/mL}$)	24,710	12,381	3,356	1,975	8,257	4,647
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g h/mL}$)	24,972	NC	4,353	NC	11,284	NC
$t_{1/2el}$ (h)	1,667	NC	3,674	NC	4,130	NC
k_{el} (1/h)	0,416	NC	0,189	NC	0,168	NC
MRT (h)	3,793	NC	5,527	NC	6,129	NC

AUC_{0-t} , área sob a curva concentração-tempo (AUC) desde o tempo 0 até ao tempo (t); $AUC_{0-\infty}$, AUC desde o tempo 0 até ao infinito; C_{max} , concentração máxima; k_{el} , constante de velocidade de eliminação; MRT, tempo médio de residência; $t_{1/2el}$, tempo de semivida de eliminação; t_{max} , tempo para se alcançar a concentração máxima; NC, Não calculado.

Os perfis concentração-tempo obtidos em cada uma das matrizes, após a administração da suspensão oral de CBZ, são semelhantes. Como se pode verificar na Figura 4 e na Tabela 4, o t_{max} da CBZ é atingido logo aos 30 minutos em todas as matrizes, o que sugere uma rápida absorção deste composto no trato gastrointestinal e rápida distribuição para os tecidos. A C_{max} , a AUC_{0-t} e a $AUC_{0-\infty}$ da CBZ são superiores no plasma, por comparação às atingidas nos tecidos e, por sua vez, os valores de C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ atingidas no fígado são superiores às alcançadas no cérebro, o que nos poderá indicar que a barreira hematoencefálica condiciona a extensão de distribuição da CBZ ao cérebro. Por sua vez, os valores obtidos para os parâmetros $t_{1/2el}$ e MRT da CBZ no cérebro e fígado são superiores aos obtidos no plasma.

Pela análise da Figura 4 e pelos valores de C_{max} e AUC_{0-t} da CBZ-E é também perceptível que a CBZ é extensamente metabolizada a CBZ-E no murganho. O t_{max} da CBZ-E no plasma, cérebro e fígado é atingido às 4 h, diminuindo a concentração com um perfil similar nas três matrizes a partir desse tempo e, tal como para a CBZ, as concentrações de CBZ-E no plasma são superiores às obtidas nos tecidos.

5. Discussão

Com a realização deste trabalho concretiza-se um dos objetivos da equipa de investigação e que ao mesmo tempo abre horizontes para futuros trabalhos, a demonstração da aplicabilidade da MEPS como técnica de preparação de amostras de tecidos, em específico, fígado e cérebro, os quais têm muitas vezes um interesse particular de uma perspetiva farmacocinética.

Com o desenvolvimento da MEPS por Abdel-Rehim no ano de 2003 [10], nos últimos doze anos diversos trabalhos têm vindo a aplicar esta técnica de preparação de amostras em matrizes biológicas líquidas, nomeadamente plasma e urina; no entanto, a única utilização de MEPS na bioanálise de amostras de tecidos foi realizada recentemente por Du *et al.* (2014) para a deteção de ractopamina em músculo de suínos utilizado para consumo humano [7]. De realçar no entanto que, Du *et al.* (2014) para a análise das amostras de músculo de suíno realizaram uma preparação de amostra prévia com 2 mL de uma mistura de acetonitrilo-água (80:20, V/V) por cada grama de músculo, em que agitaram e centrifugaram a mistura e recolheram o sobrenadante que foi posteriormente submetido a MEPS [7]. Na técnica de preparação de amostra apresentada neste trabalho, as amostras de tecidos (cérebro e fígado) foram homogeneizadas em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 5,5 e submetidas a um passo prévio de PP e posteriormente submetidas a MEPS.

A homogeneização das amostras de cérebro e fígado foi baseada no trabalho de Serralheiro *et al.* (2014) [73], enquanto o restante procedimento de preparação de amostra aqui utilizado foi baseada no trabalho de Ferreira *et al.* (2014), que desenvolveu uma técnica para a monitorização de antiepiléticos em amostras de plasma humano [31]. Com o objetivo de otimizar a técnica de preparação de amostra foram efetuados vários ensaios preliminares durante o desenvolvimento da técnica de preparação da amostra. Desta forma, comparativamente ao procedimento utilizado por Ferreira *et al.* (2014) [31], após a adição do PI e do agente precipitante de proteínas (acetonitrilo), as amostras foram centrifugadas a 17000 rpm, a 4°C, durante 10 min, ao invés das 14000 rpm, uma vez que o aumento na velocidade de centrifugação reduziu o número de interferentes visíveis nos cromatogramas de brancos de plasma e homogeneizados de cérebro e fígado, aumentando-se a seletividade do método e permitindo trabalhar com um LOQ de 0,1 µg/mL para as amostras de plasma e homogeneizado de cérebro e de 0,2 µg/mL para as amostras de homogeneizado de fígado. Já no que diz respeito à preparação das amostras de tecidos, comparativamente ao trabalho de Serralheiro *et al.* (2014) [73], as amostras de cérebro e fígado foram também homogeneizadas em tampão fosfato de sódio 0,1 M (4 mL de tampão fosfato por cada grama de tecido), no entanto, o pH do tampão utilizado foi 5,5, ao invés de 5,0, uma vez que segundo o trabalho de Rani *et al.* (2012) [33], tendo em conta que o valor de pH de cada amostra influencia a recuperação dos analitos no processo de extração, um pH 5,5 é considerado o pH ótimo para aumentar a recuperação da CBZ submetida a extração com MEPS, tendo sido também este o

valor de pH do tampão fosfato de sódio utilizado para a reconstituição do resíduo seco, previamente à MEPS. As amostras homogeneizadas no tampão fosfato foram sujeitas a uma centrifugação a 17000 rpm, a 4°C, durante 15 minutos, ao invés das 4800 rpm utilizadas por Serralheiro *et al.* (2014) [73], uma vez que os resultados dos ensaios preliminares indicaram que o aumento na velocidade de centrifugação reduziu o número de interferentes visíveis nos cromatogramas de amostras dos homogeneizados.

Importa também referir que a precipitação de proteínas com acetonitrilo e subsequente evaporação deste solvente orgânico e reconstituição em tampão fosfato de sódio, apesar de alongarem o procedimento de preparação da amostra, por comparação à diluição da amostra com água milli-Q, seguida diretamente de MEPS, permite obter amostras com menor número de interferentes e não menos importante reduz substancialmente o bloqueio dos cartuchos de MEPS, provocado pelas proteínas presentes nestas matrizes biológicas [31], permitindo o procedimento aqui descrito utilizar o cartucho de MEPS em mais de 200 amostras, sem que se perca eficiência no processo de extração dos analitos.

Relativamente às condições cromatográficas utilizadas, como foi referido anteriormente, estas foram baseadas no trabalho de Fortuna *et al.* (2010) [74], no entanto, nos ensaios preliminares efetuados, para a otimização do método cromatográfico, verificou-se que a um comprimento de onda de 215 nm, o sinal no detetor de DAD, para os analitos e para o PI, era superior ao obtido a 235 nm e ao mesmo tempo não eram detetados maior número de interferentes a esse comprimento de onda, permitindo manter a seletividade e aumentar a sensibilidade do método, daí que se tenha optado por utilizar como comprimento de onda 215 nm. Quanto ao PI utilizado, foram testados o dextrometorfano, a clorpropamida, a tolbutamida e a 10,11-dihidrocarbamazepina. A utilização da tolbutamida foi excluída devido ao facto do pico cromatográfico deste composto não apresentar uma resolução adequada, por sua vez o dextrometorfano e a clorpropamida foram excluídos por eluírem logo no início da corrida cromatográfica, ao mesmo tempo de retenção de alguns interferentes, tendo-se optado por utilizar a 10,11-dihidrocarbamazepina, tal como no trabalho de Fortuna *et al.* (2010) [74], que elui logo após a CBZ.

A técnica de preparação da amostra utilizada comparativamente a outros métodos desenvolvidos para a quantificação de CBZ, em amostras de urina e águas residuais [79], plasma humano [80,81] e plasma, cérebro [73,82] e fígado [73] de murganho, nas quais se utilizou a SPE, tem como vantagens necessitar de menor volume de amostra (100 µL), o que consequentemente reduz também a quantidade de solventes orgânicos utilizados e a quantidade de resíduos produzidos e sobretudo permite reutilizar os cartuchos de MEPS, sendo possível efetuar a extração de mais de 200 amostras sem que a seletividade e a recuperação dos analitos seja afetada, o que desde logo faz com que a técnica de preparação de amostra com MEPS seja economicamente mais favorável, por comparação à SPE.

Algumas técnicas de microextração foram também já aplicadas em métodos de quantificação de anticonvulsivantes, entre os quais a CBZ e o seu metabolito ativo (CBZ-E),

em amostras de plasma humano, nos quais se utilizou a SPME como técnica de preparação da amostra; todavia, em qualquer um destes trabalhos [83,84] o volume de amostra utilizado (1 mL) foi superior ao da técnica aqui aplicada, a técnica aplicou-se somente em plasma e o tempo que demora até se atingir o equilíbrio de extração e o tempo de dessorção da SPME foram consideravelmente mais longos que o tempo de execução do procedimento de MEPS utilizado neste trabalho. Não obstante, todo o procedimento de preparação de amostra do trabalho aqui descrito é mais longo, devido aos passos prévios de PP, evaporação e reconstituição, que permitem eliminar uma maior quantidade de interferentes, o que leva a que cada cartucho das seringas de MEPS possa ser utilizado em mais de 200 amostras.

Uma outra técnica de microextração, a DLLME, também já foi aplicada num método desenvolvido para a quantificação de CBZ e zonisamida em amostras de plasma e urina humanas [85]. A principal vantagem da aplicação de MEPS, por comparação ao trabalho [85] no qual se utilizou a DLLME, é o volume de amostra necessário com a utilização da DLLME ser substancialmente maior (3 mL de plasma e 2 mL de urina) por comparação aos 100 µL de amostra utilizados com a aplicação da MEPS, que se torna assim favorável quando o volume de amostra disponível é limitado, como acontece quando se realiza a análise de amostras de plasma de pequenos animais de laboratório (e.g., murganho).

Uma vez otimizada a técnica de preparação da amostra e as condições cromatográficas foi necessário validar o método bioanalítico desenvolvido. Para tal efetuou-se uma validação parcial do método, uma vez que este foi baseado em métodos anteriormente desenvolvidos e validados na mesma espécie e envolvendo o mesmo tipo de amostras, não tendo sido avaliada a estabilidade da amostra; porém, os restantes parâmetros a considerar para garantir a fiabilidade dos resultados, nomeadamente a seletividade, a linearidade na gama de calibração, o limite de quantificação, a precisão, a exatidão e a recuperação foram validados com sucesso, tendo em conta as *guidelines* internacionais para a validação de métodos bioanalíticos [76,77].

Sendo assim e tendo em conta que o principal objetivo deste trabalho era demonstrar que a MEPS também poderia ser aplicada em amostras de tecidos, a disponibilidade de uma técnica cromatográfica que permitisse efetuar a quantificação de CBZ e CBZ-E, em amostras de plasma, homogeneizado de cérebro e homogeneizado de fígado foi uma etapa fundamental deste trabalho, para que se pudesse realizar a análise de amostras reais e atingir-se os objetivos propostos. Apesar do procedimento analítico ser algo moroso, para evitar a obstrução dos cartuchos de MEPS e permitir a sua reutilização, é também de salientar que a análise cromatográfica de cada amostra efetua-se em apenas 10 minutos.

Com o intuito de demonstrar então que a MEPS pode ser aplicada na bioanálise de amostras de tecidos procedeu-se à realização de um estudo *in vivo*. Neste estudo efetuou-se a administração oral em murganhos de uma dose única de uma suspensão oral de CBZ na dose de 50 mg/kg, com base em outros estudos em que se procedeu à administração deste fármaco

na mesma dose [86,87], tendo-se avaliado a evolução das concentrações de CBZ e CBZ-E durante as 12 horas subsequentes à administração da CBZ.

Utilizaram-se murganhos, em vez de ratos, uma vez que trabalhos de investigação anteriores demonstraram que o metabolismo da CBZ em humanos apresenta maior semelhança com o observado em murganhos por comparação ao observado em ratos [88]. Tendo em consideração que o local de ação da CBZ é o cérebro, existem já na literatura alguns estudos [73,82,88-90] nos quais se procedeu à administração de CBZ a murganhos e se observou o perfil farmacocinético desta no cérebro. No entanto, em três destes trabalhos [73,82,88] a técnica de extração utilizada foi a SPE e nos outros dois utilizou-se LLE [89,90], ou seja, por comparação à técnica aqui apresentada, a SPE é mais dispendiosa, uma vez que por cada amostra é necessário utilizar um cartucho de SPE, e por comparação à LLE com a MEPS utilizam-se menores volumes de solventes orgânicos, produzindo-se assim menos resíduos, cumprindo-se os pressupostos de uma Química Verde. Procedeu-se também à análise das amostras de fígado de murganho, de forma a obter-se os perfis concentração-tempo neste órgão, uma vez que este é o principal responsável pelo metabolismo da CBZ, para além de que numa perspetiva de futuros trabalhos fica demonstrado que a MEPS é aplicável não só à análise de amostras de cérebro como de fígado.

A rápida absorção da CBZ, após a administração oral por sonda intragástrica, demonstrada pelo facto da C_{max} de CBZ se atingir em qualquer uma das matrizes aos 30 minutos, está de acordo com estudos prévios [82,88] em que também se procedeu à administração oral deste composto. Finalmente, tal como nesses estudos prévios [82,88], a eliminação da CBZ ocorreu principalmente por metabolismo a CBZ-E, iniciando-se esta biotransformação rapidamente após a absorção de CBZ, atingindo o metabolito a sua C_{max} no plasma, cérebro e fígado às 4 horas após a administração da suspensão oral.

6. Conclusão

A realização deste trabalho comprovou a aplicabilidade da MEPS como técnica de preparação de amostras possível de empregar na bioanálise de tecidos. Desta forma, futuros trabalhos da equipa de investigação que envolvam experimentação animal e nos quais seja necessário quantificar fármacos e seus metabolitos em amostras de tecidos poderão ser realizados empregando a MEPS, o que permitirá reduzir o volume de amostra e de solventes orgânicos utilizados e ao mesmo tempo reutilizar o adsorvente de extração, o que por comparação à SPE, reduz substancialmente os custos de análise. Além disso, a MEPS poderá ser também aplicada no contexto de programas de descoberta de novos fármacos em que a caracterização da ADME é importante.

Em resumo, apresenta-se de seguida os pontos mais relevantes de todo este trabalho:

- Desenvolveu-se e validou-se um método cromatográfico para a quantificação de CBZ e CBZ-E em amostras de plasma e tecidos (cérebro e fígado) de murganho. A preparação de amostras de plasma e tecidos de murganho utilizando MEPS foi demonstrada para a quantificação de CBZ e CBZ-E enquanto analitos “modelo”. As condições cromatográficas são simples, tendo-se utilizado uma eluição isocrática, e o método revelou-se seletivo, sensível, preciso e exato em toda a gama de concentrações;

- A técnica de preparação de amostra e o método cromatográfico validado foram aplicados com sucesso na quantificação de CBZ e CBZ-E em amostras reais de plasma e de homogeneizados de cérebro e fígado de murganho provenientes de um estudo realizado em condições *in vivo*.

- Os perfis concentração-tempo e a análise farmacocinética foram semelhantes aos obtidos em outros trabalhos que utilizaram técnicas de preparação de amostra diferentes, demonstrando-se assim a aplicabilidade da técnica de MEPS em amostras de tecidos.

7. Referências bibliográficas

1. Aufartová J, Mahugo-Santana C, Sosa-Ferrera Z, Santana-Rodríguez JJ, Nováková L, Solich P. Determination of steroid hormones in biological and environmental samples using green microextraction techniques: an overview. *Anal Chim Acta*. 2011;704(1-2):33-46.
2. Moein MM, Said R, Bassyouni F, Abdel-Rehim M. Solid phase microextraction and related techniques for drugs in biological samples. *J Anal Methods Chem*. 2014;2014:921350.
3. Alves G, Rodrigues M, Fortuna A, Falcão A, Queiroz J. A critical review of microextraction by packed sorbent as a sample preparation approach in drug bioanalysis. *Bioanalysis*. 2013;5(11):1409-42.
4. Pereira J, Câmara JS, Colmsjö A, Abdel-Rehim M. Microextraction by packed sorbent: an emerging, selective and high-throughput extraction technique in bioanalysis. *Biomed Chromatogr*. 2014;28(6):839-47.
5. Blomberg LG. Two new techniques for sample preparation in bioanalysis: microextraction in packed sorbent (MEPS) and use of a bonded monolith as sorbent for sample preparation in polypropylene tips for 96-well plates. *Anal Bioanal Chem*. 2009;393(3):797-807.
6. Nováková L, Vlcková H. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: chromatography and sample preparation. *Anal Chim Acta*. 2009;656(1-2):8-35.
7. Du W, Zhao G, Fu Q, Sun M, Zhou H, Chang C. Combined microextraction by packed sorbent and high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection for rapid analysis of ractopamine in porcine muscle and urine samples. *Food Chem*. 2014;145:789-95.
8. Jagerdeo E, Abdel-Rehim M. Screening of cocaine and its metabolites in human urine samples by direct analysis in real-time source coupled to time-of-flight mass spectrometry after online preconcentration utilizing microextraction by packed sorbent. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2009;20(5):891-9.
9. Andrade FN, Santos-Neto AJ, Lanças FM. Microextraction by packed sorbent liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry of triazines employing a molecularly imprinted polymer. *J Sep Sci*. 2014;37(21):3150-6.
10. Abdel-Rehim M. New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications. I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2004;801(2):317-21.
11. Lafay F, Vulliet E, Flament-Waton MM. Contribution of microextraction in packed sorbent for the analysis of cotinine in human urine by GC-MS. *Anal Bioanal Chem*. 2010;396(2):937-41.
12. Pereira J, Silva CL, Perestrelo R, Gonçalves J, Alves V, Câmara JS. Re-exploring the high-throughput potential of microextraction techniques, SPME and MEPS, as powerful strategies for medical diagnostic purposes. Innovative approaches, recent applications and future trends. *Anal Bioanal Chem*. 2014;406(8):2101-22.

13. Khoshdel Z, Hashemi P, Safdaryan M, Delfan B, Rashidipour M, Badiei A. Microextraction in a packed syringe for the analysis of olive biophenols in rat plasma using CMK-3 nanoporous sorbent. *Anal Sci.* 2013;29(5):527-32.
14. Vlčková H, El-Beqqali A, Nováková L, Solich P, Abdel-Rehim M. Determination of amphetamine and methadone in human urine by microextraction by packed sorbent coupled directly to mass spectrometry: an alternative for rapid clinical and forensic analysis. *J Sep Sci.* 2014;37(22):3306-13.
15. Altun Z, Abdel-Rehim M, Blomberg LG. New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications Part III: Determination and validation of local anaesthetics in human plasma samples using a cation-exchange sorbent, and MEPS-LC-MS-MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004;813(1-2):129-35.
16. Cristina Jardim V, de Paula Melo L, Soares Domingues D, Costa Queiroz ME. Determination of parabens in urine samples by microextraction using packed sorbent and ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2015;974:35-41.
17. Chaves AR, Leandro FZ, Carris JA, Queiroz ME. Microextraction in packed sorbent for analysis of antidepressants in human plasma by liquid chromatography and spectrophotometric detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2010;878(23):2123-9.
18. Silva C, Cavaco C, Perestrelo R, Pereira J, Câmara JS. Microextraction by Packed Sorbent (MEPS) and Solid-Phase Microextraction (SPME) as Sample Preparation Procedures for the Metabolomic Profiling of Urine. *Metabolites.* 2014;4(1):71-97.
19. Abdel-Rehim M, Andersson A, Breitholtz-Emanuelsson A, Sandberg-Ställ M, Brunfelter K, Pettersson KJ, Norsten-Höög C. MEPS as a rapid sample preparation method to handle unstable compounds in a complex matrix: determination of AZD3409 in plasma samples utilizing MEPS-LC-MS-MS. *J Chromatogr Sci.* 2008;46(6):518-23.
20. Montesano C, Simeoni MC, Curini R, Sergi M, Lo Sterzo C, Compagnone D. Determination of illicit drugs and metabolites in oral fluid by microextraction on packed sorbent coupled with LC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem.* 2015;407(13):3647-58.
21. Moreno IE, da Fonseca BM, Magalhães AR, Geraldés VS, Queiroz JA, Barroso M, Costa S, Gallardo E. Rapid determination of piperazine-type stimulants in human urine by microextraction in packed sorbent after method optimization using a multivariate approach. *J Chromatogr A.* 2012;1222:116-20.
22. Ribeiro C, Ribeiro AR, Maia AS, Gonçalves VM, Tiritan ME. New trends in sample preparation techniques for environmental analysis. *Crit Rev Anal Chem.* 2014;44(2):142-85.
23. Candish E, Gooley A, Wirth HJ, Dawes PA, Shellie RA, Hilder EF. A simplified approach to direct SPE-MS. *J Sep Sci.* 2012;35(18):2399-406.

24. Moreno IE, da Fonseca BM, Barroso M, Costa S, Queiroz JA, Gallardo E. Determination of piperazine-type stimulants in human urine by means of microextraction in packed sorbent and high performance liquid chromatography-diode array detection. *J Pharm Biomed Anal.* 2012;61:93-9.
25. Magiera S, Gülmez Ş, Michalik A, Baranowska I. Application of statistical experimental design to the optimisation of microextraction by packed sorbent for the analysis of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in human urine by ultra-high pressure liquid chromatography. *J Chromatogr A.* 2013;1304:1-9.
26. Gonçalves JL, Alves VL, Rodrigues FP, Figueira JA, Câmara JS. A semi-automatic microextraction in packed sorbent, using a digitally controlled syringe, combined with ultra-high pressure liquid chromatography as a new and ultra-fast approach for the determination of prenylflavonoids in beers. *J Chromatogr A.* 2013;1304:42-51.
27. Mendes B, Silva P, Aveiro F, Pereira J, Câmara JS. A micro-extraction technique using a new digitally controlled syringe combined with UHPLC for assessment of urinary biomarkers of oxidatively damaged DNA. *PLoS One.* 2013;8(3):e58366.
28. Mendes B, Silva P, Mendonça I, Pereira J, Câmara JS. A new and fast methodology to assess oxidative damage in cardiovascular diseases risk development through eVol-MEPS-UHPLC analysis of four urinary biomarkers. *Talanta.* 2013;116:164-72.
29. Abdel-Rehim M. Microextraction by packed sorbent (MEPS): a tutorial. *Anal Chim Acta.* 2011;701(2):119-28.
30. Abdel-Rehim M. Microextraction by packed sorbent in bioanalysis. *Bioanalysis.* 2009;1(4):687-91.
31. Ferreira A, Rodrigues M, Oliveira P, Francisco J, Fortuna A, Rosado L, Rosado P, Falcão A, Alves G. Liquid chromatographic assay based on microextraction by packed sorbent for therapeutic drug monitoring of carbamazepine, lamotrigine, oxcarbazepine, phenobarbital, phenytoin and the active metabolites carbamazepine-10,11-epoxide and licarbazepine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014;971:20-9.
32. Vlčková H, Solichová D, Bláha M, Solich P, Nováková L. Microextraction by packed sorbent as sample preparation step for atorvastatin and its metabolites in biological samples-critical evaluation. *J Pharm Biomed Anal.* 2011;55(2):301-8.
33. Rani S, Malik AK. A novel microextraction by packed sorbent-gas chromatography procedure for the simultaneous analysis of antiepileptic drugs in human plasma and urine. *J Sep Sci.* 2012;35(21):2970-7.
34. Wietecha-Postuszny R, Garbacik A, Woźniakiewicz M, Moos A, Wieczorek M, Kościelniak P. Application of microextraction by packed sorbent to isolation of psychotropic drugs from human serum. *Anal Bioanal Chem.* 2012;402(7):2249-57.
35. Magiera S. Fast, simultaneous quantification of three novel cardiac drugs in human urine by MEPS-UHPLC-MS/MS for therapeutic drug monitoring. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013;938:86-95.

36. Vlčková H, Rabatinová M, Mikšová A, Kolouchová G, Mičuda S, Solich P, Nováková L. Determination of pravastatin and pravastatin lactone in rat plasma and urine using UHPLC-MS/MS and microextraction by packed sorbent. *Talanta*. 2012;90:22-9.
37. Altun Z, Abdel-Rehim M. Study of the factors affecting the performance of microextraction by packed sorbent (MEPS) using liquid scintillation counter and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2008;630(2):116-23.
38. Rico E, González O, Blanco ME, Alonso RM. Evaluation of human plasma sample preparation protocols for untargeted metabolic profiles analyzed by UHPLC-ESI-TOF-MS. *Anal Bioanal Chem*. 2014;406(29):7641-52
39. Desgrouas C, Desbordes M, Dormoi J, Ollivier E, Parzy D, Taudon N. Quantitative analysis of cepharanthine in plasma based on semiautomatic microextraction by packed sorbent combined with liquid chromatography. *J Anal Methods Chem*. 2014;2014:695231.
40. *Comprehensive Analytical Chemistry, Volume 37, Pages 1-1131(2002) - Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory*. Edited by J. Pawliszyn.
41. Moein MM, Jabbar D, Colmsjö A, Abdel-Rehim M. A needle extraction utilizing a molecularly imprinted-sol-gel xerogel for on-line microextraction of the lung cancer biomarker bilirubin from plasma and urine samples. *J Chromatogr A*. 2014;1366:15-23.
42. Saracino MA, Santarcangelo L, Raggi MA, Mercolini L. Microextraction by packed sorbent (MEPS) to analyze catecholamines in innovative biological samples. *J Pharm Biomed Anal*. 2015;104:122-9.
43. Morales-Cid G, Cárdenas S, Simonet BM, Valcárcel M. Direct automatic determination of free and total anesthetic drugs in human plasma by use of a dual (microdialysis-microextraction by packed sorbent) sample treatment coupled at-line to NACE-MS. *Electrophoresis*. 2009;30(10):1684-91.
44. Woźniakiewicz M, Wietecha-Postłuszny R, Moos A, Wieczorek M, Knihnicki P, Kościelniak P. Development of microextraction by packed sorbent for toxicological analysis of tricyclic antidepressant drugs in human oral fluid. *J Chromatogr A*. 2014;1337:9-16.
45. Nielsen K, Lauritsen FR, Nissilä T, Ketola RA. Rapid screening of drug compounds in urine using a combination of microextraction by packed sorbent and rotating micropillar array electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2012;26(3):297-303.
46. Somaini L, Saracino MA, Marcheselli C, Zanchini S, Gerra G, Raggi MA. Combined liquid chromatography-coulometric detection and microextraction by packed sorbent for the plasma analysis of long acting opioids in heroin addicted patients. *Anal Chim Acta*. 2011;702(2):280-7.
47. De Andrés F, Zougagh M, Castañeda G, Sánchez-Rojas JL, Ríos A. Screening of non-polar heterocyclic amines in urine by microextraction in packed sorbent-fluorimetric detection and confirmation by capillary liquid chromatography. *Talanta*. 2011;83(5):1562-7.

48. Viana IM, Lima Pde P, Soares CD, Fernandes C. Simultaneous determination of oral antidiabetic drugs in human plasma using microextraction by packed sorbent and high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal.* 2014;96:241-8.
49. Abdel-Rehim A, Abdel-Rehim M. Evaluation of microextraction by packed sorbent and micro-liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a green approach in bioanalysis. *Biomed Chromatogr.* 2013;27(10):1225-33.
50. Ashri NY, Daryanavard M, Abdel-Rehim M. Microextraction by packed sorbent and liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a tool for quantification of peptides in plasma samples: determination of sensory neuron-specific receptors agonist BAM8-22 and antagonist BAM22-8 in plasma samples. *Biomed Chromatogr.* 2013;27(3):396-403.
51. González Paredes RM, García Pinto C, Pérez Pavón JL, Moreno Cordero B. In situ derivatization combined to automated microextraction by packed sorbents for the determination of chlorophenols in soil samples by gas chromatography mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2014;1359:52-9.
52. Daryanavard SM, Jeppsson-Dadoun A, Andersson LI, Hashemi M, Colmsjö A, Abdel-Rehim M. Molecularly imprinted polymer in microextraction by packed sorbent for the simultaneous determination of local anesthetics: lidocaine, ropivacaine, mepivacaine and bupivacaine in plasma and urine samples. *Biomed Chromatogr.* 2013;27(11):1481-8.
53. Saracino MA, Tallarico K, Raggi MA. Liquid chromatographic analysis of oxcarbazepine and its metabolites in plasma and saliva after a novel microextraction by packed sorbent procedure. *Anal Chim Acta.* 2010;661(2):222-8.
54. Perestrelo R, Silva CL, Câmara JS. Quantification of furanic derivatives in fortified wines by a highly sensitive and ultrafast analytical strategy based on digitally controlled microextraction by packed sorbent combined with ultrahigh pressure liquid chromatography. *J Chromatogr A.* 2015;1381:54-63.
55. Magiera S, Kusa J. Evaluation of a rapid method for the therapeutic drug monitoring of aliskiren, enalapril and its active metabolite in plasma and urine by UHPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2015;980:79-87.
56. Vita M, Skansen P, Hassan M, Abdel-Rehim M. Development and validation of a liquid chromatography and tandem mass spectrometry method for determination of roscovitine in plasma and urine samples utilizing on-line sample preparation. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005;817(2):303-7.
57. Rodrigues M, Alves G, Rocha M, Queiroz J, Falcão A. First liquid chromatographic method for the simultaneous determination of amiodarone and desethylamiodarone in human plasma using microextraction by packed sorbent (MEPS) as sample preparation procedure. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013;913-914:90-7.
58. Ligor M, Ligor T, Gadzała-Kopciuch R, Buszewski B. The chromatographic assay of 4-hydroxynonenal as a biomarker of diseases by means of MEPS and HPLC technique. *Biomed Chromatogr.* 2015;29(4):584-9.

59. Locatelli M, Ferrone V, Cifelli R, Barbacane RC, Carlucci G. Microextraction by packed sorbent and high performance liquid chromatography determination of seven non-steroidal anti-inflammatory drugs in human plasma and urine. *J Chromatogr A*. 2014;1367:1-8.
60. Moein MM, Abdel-Rehim A, Abdel-Rehim M. On-line determination of sarcosine in biological fluids utilizing dummy molecularly imprinted polymers in microextraction by packed sorbent. *J Sep Sci*. 2015;38(5):788-95.
61. Abdel-Rehim A, Abdel-Rehim M. Screening and determination of drugs in human saliva utilizing microextraction by packed sorbent and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2013;27(9):1188-91
62. Magalhães P, Alves G, Rodrigues M, LLerena A, Falcão A. First MEPS/HPLC assay for the simultaneous determination of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine in human plasma. *Bioanalysis*. 2014;6(22):3025-38.
63. Saracino MA, Mercolini L, Carbini G, Volterra V, Quarta AL, Amore M, Raggi MA. Multi-matrix assay of the first melatonergic antidepressant agomelatine by combined liquid chromatography-fluorimetric detection and microextraction by packed sorbent. *J Pharm Biomed Anal*. 2014;95:61-7.
64. Mercolini L, Protti M, Fulgenzi G, Mandrioli R, Ghedini N, Conca A, Raggi MA. A fast and feasible microextraction by packed sorbent (MEPS) procedure for HPLC analysis of the atypical antipsychotic ziprasidone in human plasma. *J Pharm Biomed Anal*. 2014;88:467-71.
65. Mandrioli R, Mercolini L, Lateana D, Boncompagni G, Raggi MA. Analysis of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in human plasma, urine and saliva by MEPS-LC-UV. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011;879(2):167-73.
66. Saracino MA, de Palma A, Boncompagni G, Raggi MA. Analysis of risperidone and its metabolite in plasma and saliva by LC with coulometric detection and a novel MEPS procedure. *Talanta*. 2010;81(4-5):1547-53.
67. da Fonseca BM, Moreno IE, Barroso M, Costa S, Queiroz JA, Gallardo E. Determination of seven selected antipsychotic drugs in human plasma using microextraction in packed sorbent and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2013;405(12):3953-63.
68. Said R, Pohanka A, Andersson M, Beck O, Abdel-Rehim M. Determination of remifentanyl in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry utilizing micro extraction in packed syringe (MEPS) as sample preparation. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011;879(11-12):815-8.
69. Anizan S, Bichon E, Duval T, Monteau F, Cesbron N, Antignac JP, Le Bizec B. Gas chromatography coupled to mass spectrometry-based metabolomic to screen for anabolic practices in cattle: identification of 5 α -androst-2-en-17-one as new biomarker of 4-androstenedione misuse. *J Mass Spectrom*. 2012;47(1):131-40.

70. Magiera S, Baranowski J. Determination of carnitine and acylcarnitines in human urine by means of microextraction in packed sorbent and hydrophilic interaction chromatography-ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;109:171-6.
71. Vlčková H, Janák J, Gottvald T, Trejtnar F, Solich P, Nováková L. How to address the sample preparation of hydrophilic compounds: Determination of entecavir in plasma and plasma ultrafiltrate with novel extraction sorbents. *J Pharm Biomed Anal.* 2014;88:337-44.
72. Saracino MA, Iacono C, Somaini L, Gerra G, Ghedini N, Raggi MA. Multi-matrix assay of cortisol, cortisone and corticosterone using a combined MEPS-HPLC procedure. *J Pharm Biomed Anal.* 2014;88:643-8.
73. Serralheiro A, Alves G, Fortuna A, Falcão A. Intranasal administration of carbamazepine to mice: a direct delivery pathway for brain targeting. *Eur J Pharm Sci.* 2014;60:32-9.
74. Fortuna A, Sousa J, Alves G, Falcão A, Soares-da-Silva P. Development and validation of an HPLC-UV method for the simultaneous quantification of carbamazepine, oxcarbazepine, eslicarbazepine acetate and their main metabolites in human plasma. *Anal Bioanal Chem.* 2010;397(4):1605-15.
75. Shah VP, Midha KK, Findlay JW, Hill HM, Hulse JD, McGilveray IJ, McKay G, Miller KJ, Patnaik RN, Powell ML, Tonelli A, Viswanathan CT, Yacobi A. Bioanalytical method validation-a revisit with a decade of progresso. *Pharm Res.* 2000;17(12):1551-7.
76. US Food and Drug Administration, Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070107.pdf>, 2001>.
77. European Medicines Agency, Guideline on bioanalytical method validation. <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf>.
78. European Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals used for Scientific Purposes. *Official Journal of the European Union*, 276, 33-79.
79. Beltran A, Caro E, Marcé RM, Cormack PA, Sherrington DC, Borrull F. Synthesis and application of a carbamazepine-imprinted polymer for solid-phase extraction from urine and wastewater. *Anal Chim Acta.* 2007;597(1):6-11.
80. Franceschi L, Furlanut M. A simple method to monitor plasma concentrations of oxcarbazepine, carbamazepine, their main metabolites and lamotrigine in epileptic patients. *Pharmacol Res.* 2005;51(4):297-302.
81. Serralheiro A, Alves G, Fortuna A, Rocha M, Falcão A. First HPLC-UV method for rapid and simultaneous quantification of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine, carbamazepine-10,11-epoxide, 10,11-trans-dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazepine, lamotrigine, oxcarbazepine and licarbazepine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013;925:1-9.

82. Fortuna A, Bicker J, Alves G, Falcão A, Soares-da-Silva P. A chiral HPLC-UV method for the quantification of dibenz[b,f]azepine-5-carboxamide derivatives in mouse plasma and brain tissue: eslicarbazepine acetate, carbamazepine and main metabolites. *J Sep Sci.* 2011;34(12):1391-401.
83. Cantú MD, Toso DR, Lacerda CA, Lanças FM, Carrilho E, Queiroz ME. Optimization of solid-phase microextraction procedures for the determination of tricyclic antidepressants and anticonvulsants in plasma samples by liquid chromatography. *Anal Bioanal Chem.* 2006;386(2):256-63.
84. Queiroz ME, Silva SM, Carvalho D, Lanças FM. Determination of lamotrigine simultaneously with carbamazepine, carbamazepine epoxide, phenytoin, phenobarbital, and primidone in human plasma by SPME-GC-TSD. *J Chromatogr Sci.* 2002;40(4):219-23.
85. Behbahani M, Najafi F, Bagheri S, Bojdi MK, Salarian M, Bagheri A. Application of surfactant assisted dispersive liquid-liquid microextraction as an efficient sample treatment technique for preconcentration and trace detection of zonisamide and carbamazepine in urine and plasma samples. *J Chromatogr A.* 2013 Sep 20;1308:25-31.
86. Kwast LM, Fiechter D, Hassing I, Bleumink R, Boon L, Ludwig IS, Pieters RH. Oral exposure to drugs with immune-adjuvant potential induces hypersensitivity responses to the reporter antigen TNP-OVA. *Toxicol Sci.* 2011;121(2):312-9.
87. Jeffrey M, Lang M, Gane J, Chow E, Wu C, Zhang L. Novel anticonvulsive effects of progesterone in a mouse model of hippocampal electrical kindling. *Neuroscience.* 2014;257:65-75.
88. Fortuna A, Alves G, Soares-da-Silva P, Falcão A. Pharmacokinetics, brain distribution and plasma protein binding of carbamazepine and nine derivatives: new set of data for predictive in silico ADME models. *Epilepsy Res.* 2013;107(1-2):37-50.
89. Owen A, Tettey JN, Morgan P, Pirmohamed M, Park BK. LC determination of carbamazepine in murine brain. *J Pharm Biomed Anal.* 2001 Nov;26(4):573-7.
90. McGill, Nishimura A, Honda N, Sugioka N, Takada K, Shibata N. Evaluation of carbamazepine pharmacokinetic profiles in mice with kainic acid-induced acute seizures. 2008;31(12):2302-8.

Capítulo II - Relatório de estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução

A evolução dos serviços prestados pelas farmácias comunitárias levou a que estas deixassem de ser locais onde apenas se procedia à cedência de medicamentos e preparação de medicamentos manipulados para uso humano e veterinário, transformando-as num importante espaço de saúde onde se prestam serviços de promoção da saúde e bem-estar dos utentes, como entre outros, a utilização de meios auxiliares de diagnóstico e terapêutica e a administração de vacinas não incluídas no plano nacional de vacinação (PNV) [1]. No entanto, o principal objetivo da Farmácia Comunitária (FC) continua a ser a cedência de medicamentos em condições que permitam minimizar os riscos do uso dos medicamentos e que ao mesmo tempo permitam realizar uma avaliação contínua dos seus resultados clínicos. Assim, a integração e a articulação de todos os serviços prestados em FC está inerente ao espírito do conceito de Cuidados Farmacêuticos, atividade em que o farmacêutico se responsabiliza pelas necessidades dos utentes relacionadas com medicamentos, com o intuito de se conseguir melhores resultados clínicos com o seu uso, quer estes sejam manipulados, quer sejam industrializados e ao mesmo tempo reduzir a morbi-mortalidade associada à utilização dos mesmos [2]. A intervenção farmacêutica prestada nas farmácias portuguesas vai então ao encontro das necessidades dos utentes e da população que servem, estando assente em quatro eixos: a promoção da saúde e prevenção da doença; a identificação precoce de suspeitos; a vigilância de doentes sob terapêutica; cuidados continuados [3].

Tendo em conta que a FC dada a sua acessibilidade à população é muitas vezes a porta de entrada do utente no sistema de saúde e que por vezes, em determinadas circunstâncias, acaba por ser o único ponto de contacto do utente com o sistema de saúde, é de fundamental importância que os cuidados de saúde que lhe são prestados pelo farmacêutico possuam elevada diferenciação técnico-científica, de modo a servir a comunidade sempre com a máxima qualidade [2]. Desta forma, o farmacêutico deve ter sempre presente a responsabilidade inerente à sua profissão, devendo exercê-la sempre com a maior atenção e competência, uma vez que as funções que este assume perante a sociedade, como o aconselhamento sobre o uso racional de fármacos e a monitorização dos doentes ultrapassam o seu papel enquanto técnico do medicamento [4]. Para conseguir cumprir estas funções o farmacêutico deve também possuir capacidades comunicativas que lhe permitam transmitir os seus conhecimentos a todos os utentes, qualquer que seja o seu nível sociocultural, acerca da correta utilização dos medicamentos. A FC garante também, através do desempenho profissional do farmacêutico legalmente habilitado, a eficácia e qualidade da distribuição de medicamentos de uso humano e veterinário com o objetivo de aumentar a adesão à terapêutica e prevenir as reações adversas resultantes da polimedicação [4].

Com o presente relatório pretendo destacar as atividades realizadas e o conhecimento adquirido durante o estágio curricular em FC, que decorreu entre os dias 26 de janeiro e 5 de junho.

2. Localização e caracterização da Farmácia São Cosme

A Farmácia São Cosme (FSC) tem as suas atuais instalações na Alameda da Europa, Lote 15, Fração D e E 6200-546 Covilhã, anteriormente estas encontravam-se na Avenida 25 de Abril, também na cidade da Covilhã. A mudança das instalações para a atual morada, numa zona urbanizada e com excelentes acessos quer por via rodoviária, quer por via pedonal, além da proximidade entre as duas localizações, permitiu aos utentes habituais da FSC, que se deslocavam periodicamente às anteriores instalações, manterem os cuidados de saúde prestados por esta, mantendo-se desta forma o acompanhamento clínico dos doentes. A maior área das atuais instalações, comparativamente à área das instalações anteriores, permitiu também a disponibilização de uma maior oferta de serviços aos utentes com a garantia da privacidade necessária.

O horário de funcionamento da farmácia São Cosme é de segunda a sexta-feira das 9 às 19 h 30 min e ao sábado das 9 h às 13 h, estando assim de acordo com o artigo 2º da portaria 277/2012, de 12 de setembro, que estipula que o período de funcionamento semanal mínimo das farmácias de oficina é de 44 h semanais [5]. Além deste horário normal de funcionamento a FSC garante periodicamente, a cada 8 dias, o serviço noturno, ou seja, nesses dias não encerra mantendo-se aberta até as 19 h 30 min do dia seguinte. Periodicamente a farmácia também garante o serviço permanente quer aos domingos, quer aos feriados.

2.1. Organização das instalações da Farmácia São Cosme

O aspeto exterior da FSC está de acordo com o manual de Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária da Ordem dos Farmacêuticos (OF) [2], dispondo esta no seu exterior de uma cruz verde de iluminação, elevada em relação ao solo para permitir uma rápida identificação da farmácia, onde é prestada informação referente à data, temperatura, horário de funcionamento, serviços prestados pela FSC e indicação quando a farmácia se encontra de serviço. Na porta de entrada da FSC é visível o horário de funcionamento, informação acerca dos serviços de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes realizados na FSC e um calendário semanal acerca das farmácias, com a respetiva morada e contactos, que asseguram o serviço noturno na cidade. Próximo da porta de entrada está também um postigo de atendimento cuja função é aumentar a segurança dos farmacêuticos, colaboradores e dos utentes, especialmente durante o serviço noturno. Na fachada da FSC é também visível uma placa com o nome da farmácia e do seu Diretor Técnico, está também disponível uma máquina de venda automática de preservativos e na parte superior um letreiro luminoso, paralelo e perpendicular à fachada, com o nome da farmácia. Nas montras visíveis do exterior é perceptível publicidade a alguns produtos sazonais.

Quanto ao espaço interior da FSC, o qual me foi apresentado no meu primeiro dia de estágio, a 26 de janeiro, para além das divisões obrigatórias que constam no artigo 2º do anexo da deliberação nº 1502/2014, de 3 de julho, da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED) [6], ou seja, a sala de atendimento ao público, o armazém que no caso da FSC possui dois pisos, o laboratório, os sanitários, existindo na FSC sanitários para os funcionários, junto ao armazém e sanitários para os utentes, junto à sala de atendimento e um gabinete de atendimento personalizado onde se realizam os serviços de promoção da saúde e bem-estar dos utentes que constam da portaria nº 1429/2007 de 2 de novembro [1], a FSC possui ainda um gabinete da direção técnica, um vestiário com cacifos onde os colaboradores da FSC podem deixar os seus pertences e onde habitualmente se guarda a bata no final do dia de trabalho e uma zona de repouso, onde o farmacêutico pode descansar, nas noites em que a farmácia assegura o serviço noturno.

Caracterizando cada uma destas divisões, a sala de atendimento ao público é bastante ampla, estando nela expostos e acessíveis aos utentes produtos de fitoterapia, higiene oral, dermocosmética, alimentação infantil, suplementos alimentares, dispositivos médicos, entre outros, e visíveis aos utentes, mas não acessíveis a eles, medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), estando todos estes produtos arrumados em armários e prateleiras. Esta divisão possui ainda quatro balcões de atendimento farmacêutico, cada um deles equipado com um computador contendo o *software* Sifarma 2000 e um dispositivo para a impressão das faturas aos utentes, convenientemente espaçados entre si, providenciado desta forma a cada utente a devida confidencialidade em cada atendimento. Para permitir um atendimento mais rápido, alguns dos MNSRM e alguns medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) como o paracetamol 1000 mg estão disponíveis em armários por detrás dos balcões de atendimento farmacêutico. Encontra-se ainda à disposição dos utentes uma máquina de água, quatro sofás individuais onde podem aguardar pela sua vez ou repousar antes da medição da pressão arterial, uma mesa e quatro cadeiras infantis, onde as crianças se podem sentar enquanto os seus acompanhantes são atendidos, e um dispositivo que permite medir simultaneamente a altura, a massa corporal, o índice de gordura corporal e os valores de pressão arterial.

Quanto ao armazém, como referido anteriormente, é constituído por dois pisos, qualquer um deles equipado com um termohigrómetro, que mede a temperatura e humidade relativa a que este se encontra, e com extintores de incêndios. No piso inferior contíguo à sala de atendimento ao público, mas de acesso interdito aos utentes, encontram-se armazenados os MSRM e os medicamentos de uso veterinário num sistema de gavetas deslizantes e num armário basculante. Os medicamentos para os quais não há espaço disponível neste local são armazenados em prateleiras no segundo andar da farmácia. Como não poderia deixar de ser, os medicamentos que necessitam de refrigeração são armazenados no frigorífico, que se encontra no piso inferior e que conserva a temperatura dos medicamentos entre 2 e 8°C. Nesta divisão é também onde se efetua a receção das encomendas, estando para tal equipada com um computador no qual está instalado o *software* Sifarma 2000, que permite fazer a

gestão das encomendas, duas impressoras, uma das quais para a impressão das etiquetas com códigos de barra dos MNSRM e de produtos de parafarmácia, e uma fotocopiadora.

O laboratório possui todos os equipamentos necessários à elaboração de medicamentos manipulados, dispondo de balança analítica sensível ao miligrama, banho de água termostaticado, almofarizes de vidro e de porcelana, cápsulas de porcelana, matrizes de várias capacidades, balões volumétricos, funis de vidro, *Unguator* para a preparação de pomadas, pipetas e provetas de diferentes capacidades, outro material corrente de laboratório e local de lavagem de material com água corrente. Existe também um armário onde estão guardadas, de forma a evitar contaminações cruzadas, algumas matérias-primas, como a água purificada, ácido bórico, ácido salicílico, entre outras.

O gabinete de atendimento personalizado onde se realiza a medição dos parâmetros bioquímicos, como a glicemia, hemoglobina glicada, colesterol total, triglicéridos, ácido úrico e PSA (antígeno específico da próstata) e a administração de vacinas não incluídas no PNV está equipado com um lavatório que permite fazer a higiene das mãos, antes de se realizar estes serviços de promoção da saúde e bem-estar dos utentes, e com um aparelho que permite realizar a medição dos parâmetros bioquímicos referidos em cima.

Em resumo, o espaço interior da FSC tem a comodidade e a privacidade necessárias para realizar o atendimento aos utentes e garante a segurança e conservação quer dos medicamentos manipulados, quer dos industrializados.

2.2. Recursos humanos da Farmácia São Cosme

Para a prestação de um atendimento com elevada qualidade técnica e de acordo com as Boas Práticas Farmacêuticas para a FC fazem parte da equipa que trabalha na FSC o Diretor Técnico, Dr. Carlos Tavares, quatro farmacêuticas, Dr.^a Alexandrina Sousa Tavares, Dr.^a Ana Dulce Aleixo (Farmacêutica Substituta), Dr.^a Ana Rita Santos e Dr.^a Marina Nogueira, uma ajudante técnica, D. Ilda Dias e uma auxiliar de limpeza e higiene, a D. Lurdes. O quadro farmacêutico da FSC encontra-se assim de acordo com o legislado pelo artigo 23º do Decreto-Lei nº307/2007, de 31 de agosto [7], atualizado pelo Decreto-Lei nº 171/2012, de 1 de agosto, que obriga as FC a ter, para além do Diretor Técnico, pelo menos mais um farmacêutico. E ainda de acordo com o artigo 32º do Decreto-Lei nº 307/2007, de 31 de agosto [7], o pessoal que desempenha funções de atendimento ao público na FSC, ou seja, toda a equipa referida anteriormente, com exceção da auxiliar de limpeza e higiene, e eu próprio enquanto decorreu o estágio, encontra-se devidamente identificado, mediante o uso de um cartão, contendo o nome, fotografia e título profissional. O quadro farmacêutico da FSC é composto por farmacêuticos que completaram a licenciatura em Ciências Farmacêuticas (pré-Bolonha) ou Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (pós-Bolonha) e que estão inscritos na OF, estando o seu número de carteira profissional impresso no cartão de identificação, possuindo todos eles uma adequada formação técnico-científica nas temáticas relativas ao

medicamento, que asseguram ao utente uma cedência segura, adequada e informada, a promoção do uso racional do medicamento e o seguimento e a monitorização dos utentes. Com o intuito de se manterem atualizados ao nível científico, ético e legal e de acordo com a sua obrigação profissional durante o meu estágio pude observar que o quadro farmacêutico realizou cursos de formação científica e técnica da Escola de Pós-graduação em Saúde e Gestão, nomeadamente um curso sobre Doença de Refluxo Gastroesofágico e um outro de Doença Venosa Crónica e participou em encontros profissionais e científicos, tendo eu próprio realizado uma formação organizada em conjunto pela PLURAL - Cooperativa Farmacêutica, CRL e pela Gameiros - Material Clínico Lda., intitulada: “*Ortóteses: A intervenção do farmacêutico em lesões músculo-esqueléticas*” realizada no hotel DONA MARIA, na Covilhã, no dia 11 de fevereiro e uma outra organizada pela Cosmética Ativa, acerca de produtos de Dermocosmética, realizada no hotel Colina do Castelo, em Castelo Branco, no dia 14 de abril.

Apesar de serem deveres, em especial, do Diretor Técnico:

- ”- assumir a responsabilidade pelos atos farmacêuticos praticados na farmácia;
- garantir a prestação de esclarecimentos aos utentes sobre o modo de utilização dos medicamentos;
- promover o uso racional do medicamento;
- assegurar que os medicamentos sujeitos a receita médica só são dispensados aos utentes em casos de força maior, devidamente justificados;
- garantir que os medicamentos e demais produtos são fornecidos em bom estado de conservação;
- garantir que a farmácia se encontra em condições de higiene e segurança;
- assegurar que a farmácia dispõe de um aprovisionamento suficiente de medicamentos;
- zelar para que o pessoal que trabalha na farmácia mantenha, em permanência, o asseio e a higiene;
- verificar o cumprimento das regras deontológicas da atividade farmacêutica;” [7], pude aperceber-me durante o meu estágio que devido ao espírito de auxílio mútuo entre os elementos da equipa, com o objetivo de prestar um serviço de qualidade aos utentes, todo o quadro farmacêutico da FSC colaborava ativamente com o Diretor Técnico no cumprimento destes deveres. Pude também constatar que algumas atividades específicas como o contacto com outros profissionais de saúde e a preparação de medicamentos manipulados eram realizadas especificamente pelo quadro farmacêutico.

3. Informação, documentação científica e suporte informático da Farmácia São Cosme

Tendo em conta que o farmacêutico, no exercício da sua profissão, deve preocupar-se não só com a correta cedência do medicamento, mas também em prestar o devido aconselhamento farmacêutico, transmitindo ao utente informação correta e compreensível a eventuais dúvidas que lhe forem colocadas é necessário selecionar entre as várias fontes de informação aquelas que oferecem maior credibilidade. Sendo assim, o farmacêutico deve ter acesso a literatura atualizada, quer em suporte informático quer em papel, e é sua obrigação selecionar e organizar a informação consultada para aconselhar o utente de uma forma clara sob a correta utilização do medicamento.

Para além dos documentos que a farmácia deve dispor obrigatoriamente, que constam no artigo 37º do Decreto-Lei nº307/2007, de 31 de agosto [7] e no anexo II da deliberação nº 414/CD/2007, de 29 de outubro do INFARMED [8], ou seja, a Farmacopeia Portuguesa e o Prontuário Terapêutico, estão ainda disponíveis para consulta por qualquer um dos colaboradores da FSC diversos outros documentos de caráter científico como o Formulário Galénico Português e o Índice Nacional Terapêutico. Durante o meu estágio, quando realizei a preparação de medicamentos manipulados consultei alguns destes documentos, nomeadamente o Formulário Galénico Português e a Farmacopeia Portuguesa. Está ainda disponível para consulta na FSC o manual de Boas Práticas Farmacêuticas para a FC, os estatutos da OF e algumas publicações periódicas como a revista Farmácia Distribuição.

Como complemento a todos estes documentos e fontes de informação científica referidos anteriormente, o acesso à internet na FSC permite aos colaboradores da FSC a pesquisa em bases de dados internacionais, a consulta dos resumos das características do medicamento e a utilização do Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde (CIMI) do INFARMED [9] e do Centro de Informação do Medicamento (CIM) da OF [10] que permitem o esclarecimento de forma rápida, de eventuais dúvidas que o farmacêutico possa ter acerca da correta utilização de medicamentos.

Como já foi referido, em todos os computadores da FSC encontra-se instalado o *software* de gestão farmacêutica Sifarma 2000. Este programa informático auxiliou-me ao longo do meu estágio em tarefas que o farmacêutico comunitário deve ser capaz de realizar, nomeadamente o atendimento ao utente, a elaboração e receção de encomendas, a gestão de *stocks* dos produtos, a gestão da faturação e a consulta das fichas dos utentes, permitindo-me tomar contacto com algumas das obrigações a cumprir na gestão de uma farmácia, nomeadamente avaliar o número de vendas dos produtos ao longo do tempo, controlar os *stocks* e prazos de validade, registar os movimentos de psicotrópicos e benzodiazepinas e emitir a documentação de faturação necessária para as diferentes entidades. Para a utilização deste programa informático foi-me atribuído um código de acesso, o qual permitiu restringir os níveis de acesso aos dados disponibilizados pelo programa e registar todas as

tarefas realizadas por mim durante o estágio. Para além de tudo isto, o Sifarma 2000 foi também durante o meu estágio na FSC, uma fonte de informação científica acerca de indicações terapêuticas, reações adversas, contraindicações, interações e posologias, a qual contribui para que eu prestasse um melhor aconselhamento ao utente.

4. Medicamentos e outros produtos de saúde disponíveis na Farmácia São Cosme

A definição de medicamento, que consta no artigo 3º do Decreto-Lei nº176/2006, de 30 de agosto, no qual está legislado o estatuto do medicamento, é a seguinte: “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]. É com base nesta definição que outros produtos de saúde comercializados na FSC, como os produtos fitoterapêuticos, produtos para alimentação especial e dietéticos e produtos cosméticos e dermofarmacêuticos, os quais não são apresentados como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças, não são considerados medicamentos. Os dispositivos médicos apesar de serem usados para fins de diagnóstico e tratamento, por esse efeito não ser alcançado por meio farmacológico, imunológico ou metabólico, não são considerados medicamentos [12].

As substâncias psicotrópicas e os estupefacientes estão sujeitos a medidas de controlo adicionais, que não são necessárias para os restantes medicamentos, e que se baseiam no Decreto-Lei nº 15/93 de 22 de janeiro, que estabelece o regime jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos [13]. Desta forma, neste Decreto-Lei foram emitidas dez tabelas, que têm vindo a ser atualizadas ao longo dos anos, constituídas por substâncias psicotrópicas e estupefacientes sujeitos a controlo. As tabelas I-A e III são compostas exclusivamente por estupefacientes, ou seja, substâncias utilizadas em medicina para aliviar a dor, causar sedação ou induzir o sono, mas que provocam tolerância, adição e que quando usadas em excesso podem produzir euforia, estupor ou coma. Como exemplo de um medicamento disponível na FSC que possui uma destas substâncias temos os sistemas transdérmicos de fentanilo. As tabelas II-B, II-C e IV são compostas exclusivamente por psicotrópicos, ou seja substâncias que alteram a atividade mental, o comportamento, a percepção e o humor. Como exemplo de um medicamento disponível na FSC, que possui uma destas substâncias temos a Ritalina® LA cápsulas de libertação modificada, disponível em diferentes dosagens da substância ativa metilfenidato e indicada para a perturbação de hiperatividade com défice de atenção [14].

Para além da definição de medicamento que consta no estatuto do medicamento, neste consta também a definição de medicamento genérico, sendo este um medicamento que apresenta igual composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, igual forma farmacêutica e bioequivalência com o medicamento de referência [11]. Na FSC estão disponíveis medicamentos genéricos de diferentes laboratórios, como da Actavis®, da Bluepharma®, da Ciclum®, da Generis®, da Krka®, entre outros. Vão ainda constituir um grupo homogêneo, o conjunto de medicamentos com igual composição qualitativa e

quantitativa em substâncias ativas, dosagem e via de administração, a mesma forma farmacêutica ou forma farmacêutica equivalente, no qual se inclua pelo menos um medicamento genérico, podendo ainda integrar o mesmo grupo homogêneo os medicamentos que, não cumprem estes critérios, mas integrem o mesmo grupo, ou subgrupo farmacoterapêutico e sejam considerados equivalentes terapêuticos dos que dele fazem parte [15]. Nas receitas médicas em que a prescrição do medicamento é feita por substância ativa, ao digitarmos o código nacional para a prescrição eletrônica de medicamentos (CNPEM), o programa Sifarma 2000 dá-nos a listagem de produtos que pertencem a esse grupo homogêneo.

Quanto à classificação dos medicamentos, três dos principais sistemas de classificação de medicamentos são o sistema de classificação *Anatomical Therapeutic Chemical* (ATC) da Organização Mundial de Saúde [16], a classificação farmacoterapêutica de medicamentos aprovada pelo despacho nº 6914/98, e entretanto revista e reprovada pelo despacho nº 4742/2014, de 21 de março, do Ministério da Saúde [17] e por fim a classificação segundo as formas farmacêuticas apresentadas na Farmacopeia Portuguesa IX [18].

O sistema de classificação ATC divide as substâncias ativas que constituem os medicamentos em diferentes grupos, de acordo com o órgão ou sistema em que atuam e pelas suas propriedades terapêuticas, farmacológicas e químicas. A classificação é então feita com um código alfanumérico em que o primeiro nível, representado por uma letra, corresponde ao grupo anatómico, o segundo nível representado por dois números corresponde ao subgrupo terapêutico, o terceiro nível, representado novamente por uma letra, corresponde ao subgrupo farmacológico, o quarto nível, representado por uma letra corresponde ao subgrupo químico e o quinto nível representado por dois números corresponde à substância química, sendo por exemplo o código da metformina A10BA02 [16].

A classificação farmacoterapêutica dos medicamentos, aprovada pelo despacho nº 6914/98 visou uma primeira aproximação da classificação utilizada em Portugal à classificação ATC, no entanto, foi necessário rever esta classificação e aprovar uma nova classificação farmacoterapêutica que estabelecesse uma correspondência com a classificação ATC e facilitasse a utilização de ambas pelos profissionais de saúde. Essa classificação foi revista pelo despacho nº 21844/2004, também já revogado, sendo a classificação em vigor a presente no despacho nº 4742/2014, de 21 de março. Esta é composta por vinte grupos, como o dos medicamentos anti-infecciosos, medicamentos usados em afeções cutâneas, medicamentos usados no tratamento de intoxicações, entre outros grupos, passando desde então a ser adotada em instrumentos oficiais de apoio à prescrição como o Prontuário Terapêutico e o Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos [17].

Já a classificação pela forma farmacêutica, baseia-se na lista de formas farmacêuticas publicadas pela Comissão da Farmacopeia Europeia na qual se relaciona os medicamentos, as vias de administração e os recipientes utilizados. Fazem parte desta lista os comprimidos, as cápsulas, os granulados, os pós cutâneos, as preparações auriculares, as preparações para

inalação, entre outras [18], sendo esta classificação bastante útil na FSC para efeitos de armazenamento.

Os medicamentos podem ainda classificar-se quanto à dispensa ao público em medicamentos não sujeitos a receita médica e em medicamentos sujeitos a receita médica, estando sujeitos a receita médica os medicamentos que preencham uma das seguintes condições: possam constituir um risco para a saúde do doente, mesmo se usado para o fim a que se destinam, se usados sem vigilância médica; possam constituir um risco para a saúde do doente se usados para fins diferentes daqueles a que se destinam; contenham substâncias cuja atividade ou reações adversas seja necessário aprofundar; destinam-se a ser administrados por via parentérica [11].

5. Aprovisionamento e armazenamento

A correta gestão dos produtos existentes em qualquer farmácia e em particular na FSC é essencial para o seu bom funcionamento. Para esta correta gestão é necessário o aprovisionamento e o armazenamento de medicamentos e outros produtos de saúde, para que se possam dispensar de forma imediata ao utente quando este se desloca à farmácia. A quantidade de um determinado medicamento ou produto de saúde armazenado na farmácia designa-se por *stock*. Tendo em conta diferentes critérios, como as características dos utentes da farmácia e a sazonalidade são assim definidos *stocks* máximos e mínimos dos diferentes produtos, os quais são na FSC por exemplo mais elevados para os antigripais no período de Inverno e mais elevados para os protetores solares no final da Primavera, início do Verão, os principais períodos em que a população se desloca à farmácia procurando estes produtos. Estes critérios permitem não só dar uma resposta imediata às necessidades do utente, como também evitam a acumulação de produtos com pouca procura em determinados períodos do ano, que poderiam ultrapassar o seu prazo de validade e levar a gastos desnecessários.

Outro dos critérios que condiciona o *stock* de medicamentos em qualquer farmácia é a própria legislação, uma vez que de acordo com o artigo 120º-A do Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto, com a redação atual que lhe é conferida pelo Decreto-Lei nº 20/2013, de 14 de fevereiro, cada farmácia deve ter sempre disponível para venda no mínimo três medicamentos com a mesma substância ativa, forma farmacêutica e dosagem, de entre os que correspondem aos cinco preços mais baixos de cada grupo homogéneo [11].

O aprovisionamento é assim essencial para garantir uma disponibilidade e fornecimento contínuo dos produtos que são requeridos pelo utente. Desta forma, com o meu estágio pude perceber que o farmacêutico deve ter a capacidade de ponderar os diversos critérios que condicionam o armazenamento de medicamentos e outros produtos de saúde, tendo sempre como principal objetivo a defesa da saúde do utente, no entanto, também não pode menosprezar os aspetos económicos.

5.1. Gestão de encomendas

Na FSC o aprovisionamento é realizado principalmente através da compra aos armazenistas, sendo também realizadas compras diretas aos laboratórios, através dos delegados de informação médica que se deslocam sobretudo no início de cada mês à farmácia. Como os armazenistas asseguram a distribuição diária das encomendas, não é necessário ter grandes quantidades de produtos em *stock*, realizando-se assim encomendas através do programa informático Sifarma 2000 ou contactando os armazenistas por via telefónica.

Existem diversos tipos de encomendas, como a encomenda diária, a encomenda de esgotados e a encomenda manual. Após a criação da ficha do produto e atribuição dos valores de *stock* mínimo e máximo e de um fornecedor preferencial, o programa Sifarma 2000 gera um proposta de encomenda diária de todos os produtos em que se atingiu o *stock* mínimo, sendo a quantidade a encomendar na proposta sempre a diferença entre o *stock* que existe no momento da encomenda e o *stock* máximo. Tendo em conta que o programa gera propostas e não encomendas definitivas, apenas para o fornecedor indicado como preferencial, estas encomendas podem sempre ser alteradas pelo farmacêutico para que estas sejam sempre vantajosas para a gestão de *stocks*.

Desta forma, na FSC, como pude perceber desde o mesmo 3º dia de estágio, ou o Diretor Técnico ou outro elemento do quadro farmacêutico fazem a análise da proposta de encomenda de forma a acrescentar ou suprimir medicamentos ou outros produtos de saúde que julguem ser necessários repor na farmácia, alterar a quantidade encomendada ou selecionar um fornecedor diferente do fornecedor preferencial, que proporciona condições mais vantajosas de compra. Concluída a análise da encomenda faz-se a aprovação da encomenda e envia-se diretamente ao fornecedor por via informática. O envio destas encomendas faz-se habitualmente em três diferentes períodos do dia, às 13 horas de forma a repor os medicamentos e outros produtos que foram dispensados durante o período da manhã, às 18 horas, para repor o que foi dispensado durante o período da tarde e depois do encerramento da FSC. Nos casos em que é necessário realizar um pedido urgente ou ter a garantia do dia da entrega de medicamentos que se encontram em falta como ocorreu por exemplo com o AVAMYS® (furoato de fluticasona, indicado nos sintomas da rinite alérgica) [19] durante o final do mês de janeiro e início do mês de fevereiro, com o Xarelto® (rivaroxabano) durante os meses de abril e maio, entre outros medicamentos, a encomenda faz-se por via telefónica.

Os dois armazenistas a quem a FSC efetua habitualmente encomendas são a PLURAL - Cooperativa Farmacêutica, CRL e a *Alliance Healthcare*, sendo entregues as encomendas enviadas às 13 horas, às 18 horas e após o encerramento da FSC, por volta das 14 horas, das 19 horas e das 9 horas do dia seguinte, respetivamente. A escolha destes dois armazenistas baseia-se em critérios relacionados com a qualidade do serviço prestado (número de entregas diárias, possibilidade de devoluções, acessibilidade que a farmácia tem aos produtos) e também em critérios económicos (datas limite de pagamento mais favoráveis, possíveis bónus e descontos).

Quanto à realização de encomendas diretamente ao laboratório estas são feitas aos delegados de informação médica que se deslocam à FSC ou então por contacto telefónico entre o Diretor Técnico da FSC e os delegados de informação médica representantes de cada laboratório. Normalmente as quantidades encomendadas são até superiores ao *stock* máximo definido no Sifarma 2000, uma vez que ao comprar maior número de produtos se consegue retirar algumas vantagens económicas. Estas encomendas são realizadas consoante os *stocks* que existem na FSC e englobam não só produtos de dermocosmética, dispositivos ortopédicos

e de higiene oral, como não poderia deixar de ser também medicamentos. Outra situação em que ocorre a compra direta ao laboratório é quando alguns medicamentos se encontram abaixo do *stock* mínimo na FSC e esses medicamentos estão esgotados no armazenista, como aconteceu por exemplo com o Zoloft®, nos meses de março e abril, fazendo-se neste caso uma encomenda por via telefónica diretamente ao laboratório.

No que diz respeito à encomenda de esgotados o processamento desta é similar à encomenda diária, para tal após a receção de cada encomenda diária, os medicamentos e outros produtos de saúde requisitados e que não foram enviados são classificados como esgotados, transferindo-se a encomenda desses produtos para outro fornecedor e gerando-se uma nova proposta de encomenda que pode ou não ser agrupada à encomenda diária realizada para esse fornecedor.

Já a encomenda manual é habitualmente criada na FSC para produtos que foram encomendados diretamente ao laboratório, quer através dos delegados de informação médica, quer por via telefónica. No meu 4º dia de estágio tive a oportunidade de eu próprio criar pela primeira vez uma encomenda manual de um produto, soro fisiológico, que tinha sido encomendado diretamente ao laboratório por via telefónica. Na minha 2ª semana de estágio tive também a oportunidade de criar encomendas manuais, já com um número substancial de medicamentos, realizadas aos delegados de informação médica da Actavis® e da Krka® que se deslocaram à FSC no final do mês de janeiro e início do mês de fevereiro e também de produtos de dermocosmética que tinham sido encomendados aos delegados de informação médica da Pierre Fabre. Ao longo de todo o estágio realizei esta tarefa em diversas outras ocasiões. No mês de março realizei também um esboço de uma encomenda, que foi posteriormente revisto pelo meu supervisor, com os produtos a encomendar à Actavis®, com base no *stock* existente na FSC e a média de vendas dos últimos seis meses.

5.2. Receção de encomendas

Depois de se efetuar as encomendas para os armazenistas ou para os laboratórios, estes enviam os medicamentos e outros produtos de saúde encomendados e disponíveis nos seus armazéns. Como referido anteriormente a entrega de encomendas enviadas para os armazenistas ocorre várias vezes por dia, vindo estas acondicionadas em contentores de plástico (“banheiras”), sendo que no caso dos medicamentos que necessitam de refrigeração estes vêm acondicionados em caixas de esferovite. A acompanhar as encomendas vem uma guia de remessa e uma fatura, emitida em duplicado, onde consta o nome, morada, contactos e número de identificação fiscal do fornecedor e da farmácia; o número de identificação da guia de remessa ou da fatura e a data; o CNPEM do produto e a sua respetiva designação, a forma farmacêutica, a dosagem e a apresentação, a quantidade encomendada, a quantidade fornecida, o preço de venda à farmácia (PVF), a percentagem de imposto sobre o valor acrescentado (IVA) e o preço de venda ao público (PVP), com exceção dos produtos cujo

preço é definido pela FSC; no final da guia aparece o valor total da encomenda. Este documento comprova que os produtos da encomenda foram enviados e permite fazer a verificação manual de uma encomenda.

Em seguida, como pude ver logo na manhã do meu 1º dia de estágio dá-se entrada à encomenda no sistema Sifarma 2000, para tal seleciona-se a opção “Receção de Encomendas”, onde se pode aceder a todas as encomendas enviadas para os fornecedores e que ainda não foram rececionadas ou se encontram em receção, daí que seja necessário criar manualmente no sistema encomendas que são feitas por via telefónica ou através dos delegados de informação médica. Na tarde do mesmo dia, pude também fazer eu próprio a receção de uma encomenda do armazenista *Alliance Healthcare*, na qual constavam poucos produtos e me permitiu pela primeira vez fazer a receção de uma encomenda. Voltei a realizar essa função em dias em que a ajudante técnica, habitualmente responsável pela receção das encomendas, não se encontrava na farmácia por motivo de férias. Numa dessas ocasiões, quando estava a rececionar a encomenda e o sistema me alertou que o medicamento Indocid Retard® 75 mg cápsulas de libertação prolongada não havia sido encomendado pude depois perceber que a embalagem tinha sido redimensionada e apesar de na encomenda estar registado a embalagem de 30 cápsulas, como passou apenas a existir para venda a embalagem de 60 cápsulas, o armazenista enviava essa apresentação.

Na FSC na receção de uma encomenda o primeiro passo é o armazenamento dos medicamentos que necessitam de refrigeração, como as insulinas, vacinas e alguns colírios. Depois seleciona-se no programa Sifarma 2000 a encomenda que se pretende rececionar, e preenche-se o número da guia de remessa. Para os produtos que não necessitam de refrigeração, no caso da FSC, vão-se retirando os produtos dos contentores de plástico e dispendo-os em cima da bancada do armazém. Seguidamente faz-se a leitura ótica do código de barras de todos os medicamentos e outros produtos encomendados, confirmando-se se o número de produtos enviados corresponde ao que vem na guia de remessa, o estado de conservação dos produtos e o prazo de validade. No caso de um medicamento cujo *stock* seja igual a zero, o prazo de validade registado no Sifarma 2000 é alterado para o que vem impresso na cartonagem do medicamento rececionado, já no caso de medicamentos que existem em *stock* na farmácia só se altera o prazo de validade se os que estão a ser rececionados tiveram um prazo de validade inferior aos que já se encontram em *stock*, para que esteja sempre registado no sistema informático o prazo de validade mais curto dos produtos em *stock*. Verifica-se também se o PVF e o PVP que aparecem indicados no Sifarma 2000 correspondem aos valores que estão na fatura e impressos na cartonagem, alterando-os no caso de não existir concordância.

Na guia de remessa que acompanha cada encomenda vêm também especificados os motivos pelos quais determinados medicamentos ou outros produtos de saúde encomendados não constam da encomenda enviada, ou vêm em número inferior ao encomendado, sendo esse motivo habitualmente o facto de estarem esgotados, permitindo desta forma gerar uma nova encomenda desses produtos, para o mesmo fornecedor ou então para outro fornecedor.

Nos casos em que na encomenda rececionada vêm produtos que não faziam parte da encomenda enviada, ocorreu uma alteração no estado de conservação dos produtos ou tendo em conta o seu prazo de validade, a quantidade encomendada e o número habitual de vendas, ser provável não conseguir vender todos os produtos até se atingir o limite do seu prazo de validade, como aconteceu na FSC com o medicamento Daylette (composto por 3 mg de drospirenona e 0,02 mg de etinilestradiol, indicado para contraceção oral [20]) é necessário criar uma guia de devolução para o fornecedor. No mês de abril realizei também eu próprio a devolução de um produto da marca Vichy®, que foi colocado erradamente pela delegada da marca na nota de encomenda. Quando se realiza uma devolução é impressa uma nota de devolução em triplicado, acompanhando o original e o duplicado o produto devolvido, enquanto o triplicado fica na FSC.

Na receção de encomendas pude ainda verificar que na receção de medicamentos psicotrópicos, estupefacientes e benzodiazepinas para além destes virem mencionados na guia de remessa, o fornecedor também envia mensalmente, em duplicado uma nota de confirmação de requisição. Tanto o original como o duplicado da nota de confirmação de requisição são assinados e carimbados pelo Diretor Técnico da FSC, sendo o duplicado devolvido ao fornecedor, como garantia da receção, enquanto o original é arquivado na farmácia por um período mínimo de três anos.

No final da receção de cada encomenda o Sifarma 2000 emite no ecrã do computador uma listagem com a identificação da encomenda, os produtos rececionados e o valor da encomenda, a qual é habitualmente impressa na FSC, de seguida faz-se o arquivo das faturas em duas pastas diferentes, a dos originais que segue habitualmente no final de cada mês para a contabilidade e a dos duplicados que permanece na FSC.

5.3. Etiquetas de códigos de barras e preços

Apesar dos MSRM participados pelo Estado e os MSRM não participados, trazerem o seu PVP impresso na cartonagem, para todos os MNSRM, que não são sujeitos a participação pelo Estado, e outros produtos de saúde cujo preço não está impresso na sua embalagem é necessário imprimir uma etiqueta em que consta o seu código de barras e o PVP, sendo este sujeito a um regime de preços livre salvaguardando, no entanto, as regras da concorrência [15,21].

Na FSC este processo de etiquetagem é habitualmente realizado no final da receção de uma encomenda, uma vez que ao dar-se por terminada a receção, o Sifarma 2000 emite um aviso em como foram rececionados produtos marcados para impressão de etiquetas de códigos de barras, permitindo a impressão imediata de uma etiqueta com a designação do produto, o preço deste e o código de barras específico. O preço atribuído é então definido tendo em conta o PVF, a percentagem de IVA e a margem de lucro que é definida pelo Diretor

Técnico da FSC. Depois de impressas as etiquetas estas são colocadas nas embalagens de cada produto, tarefa que passei a executar desde o meu 1º dia de estágio.

Nos MSRM participados e não participados, o PVP impresso na cartonagem é composto pelo preço de venda ao armazenista (PVA), a margem de comercialização do distribuidor grossista, a margem de comercialização do retalhista, a taxa de comercialização de medicamentos e o IVA. As margens máximas de comercialização, que diminuem à medida que o PVA aumenta, são as que constam no artigo 11º do Decreto-Lei nº 112/2011, de 29 de novembro, com a redação que lhe é dada pelo Decreto-Lei nº 19/2014, de 5 de fevereiro [15] e podem ser consultadas em anexo (Anexo I).

5.4. Armazenamento

O passo seguinte à receção da encomenda é o acondicionamento dos produtos rececionados nos locais pré-definidos de armazenamento de cada medicamento e outros produtos de saúde, estando no caso da FSC essa localização registada no Sifarma 2000, para o caso de ocorrer alguma dúvida no armazenamento. Neste processo é tido em consideração a estabilidade de cada medicamento, a qual depende das condições de luz, temperatura e humidade e também a otimização do acesso aos medicamentos pelos colaboradores da FSC, para que o tempo despendido na procura do produto seja o menor possível aquando da cedência ao utente. Para o controlo da temperatura e humidade existem dois termohigrómetros, um em cada piso do armazém, os quais permitem analisar a cada instante estes parâmetros, que devem ser inferiores a 25°C e 60% respetivamente [22]. No interior do frigorífico, que deverá manter a temperatura dos medicamentos entre os 2-8°C [22], também existe um termohigrómetro que permite a análise destes parâmetros a cada instante.

Para o armazenamento, como referido anteriormente na descrição das instalações, a FSC possui um armazém com dois pisos. O armazenamento foi uma tarefa que passei a executar desde o meu 1º dia de estágio, de forma a familiarizar-me com os locais em que cada medicamento está armazenado. No piso inferior a FSC dispõe de um sistema de gavetas deslizante, com divisórias amovíveis, em que se faz o armazenamento em separado de acordo com a forma farmacêutica (comprimidos e cápsulas; saquetas; pomadas com embalagem de tamanho pequeno e médio; supositórios; gotas e colírios; sistemas transdérmicos; injetáveis), existindo também duas gavetas para os produtos de uso veterinário e também gavetas específicas para produtos ginecológicos, produtos de administração oftálmica e produtos de administração auricular. Num armário basculante estão armazenados em separado os xaropes, as pomadas com embalagens de tamanho grande, as loções, as ampolas, os pós e os produtos de monitorização da diabetes como as tiras, lancetas e as seringas para a administração de insulina. As embalagens para as quais não existe espaço de armazenamento neste piso são armazenadas no piso superior em prateleiras, estando separados em MNSRM, MSRM e outros produtos de saúde. O frigorífico, onde se armazenam os produtos que necessitam de

refrigeração está instalado no piso inferior do armazém. Na sala de atendimento também são armazenados alguns MSRM, como o paracetamol 1000 mg, em gavetas por detrás dos balcões de atendimento farmacêutico, MNSRM como alguns antigripais que estão em prateleiras visíveis mas inacessíveis ao público por detrás dos balcões de atendimento e também outros produtos de saúde, para os quais o armazenamento se faz em separado de acordo com as seguintes categorias de produtos: fitoterapia, buco-dentários, cuidados familiares, dermocosmética direcionada para o sexo feminino, podologia, higiene infantil, puericultura, alimentação infantil, produtos de aplicação capilar e dermocosmética direcionada ao sexo masculino. Os medicamentos são sempre armazenados por ordem alfabética, utilizando-se no caso dos genéricos o nome do laboratório para efetuar essa ordem, por ordem crescente de dosagem e por ordem crescente do número de unidades em cada embalagem.

O armazenamento dos medicamentos e outros produtos de saúde que possuem prazo de validade é sempre feito de modo a que sejam cedidos ao utente os produtos cujo término do prazo de validade esteja mais próximo. Para isso aquando da receção das encomendas compara-se a validade dos medicamentos que se encontram em *stock*, utilizando os registos do Sifarma, com a validade dos que estão a ser rececionados no momento, colocando os que têm validade mais curta em posição mais acessível a serem os retirados aquando da dispensa ao utente.

5.5. Controlo dos prazos de validade e devoluções aos fornecedores

O controlo dos prazos de validade dos medicamentos e outros produtos de saúde é primordial para que seja garantida a eficácia e segurança dos tratamentos dispensados aos utentes, uma vez que após o termo desse prazo os laboratórios não garantem a estabilidade dos medicamentos. Para além da verificação do prazo de validade que se faz na receção das encomendas, tarefa que passei a desempenhar logo no meu 1º dia de estágio, pois após colar as etiquetas de códigos de barras fazendo uso do Sifarma 2000 confirmava os *stocks* existentes e o prazo de validade, e da verificação no momento da dispensa ao utente, no início de cada mês, a ajudante técnica da FSC imprime uma lista, gerada pelo Sifarma 2000 de todos os medicamentos e outros produtos de saúde cujo prazo de validade expira dentro de dois meses. Em seguida, como eu pude observar logo no mês de fevereiro, confere-se se os produtos que estão no armazém têm de facto a validade que está registada no programa informático.

No caso de já não existirem em *stock* embalagens com a validade a expirar nos próximos dois meses corrige-se o prazo de validade no programa informático, no caso de existirem de facto medicamentos com prazo de validade a expirar dentro de dois meses estes são retirados do armazém e é criada uma nota de devolução ao fornecedor. Na nota de devolução consta o fornecedor do produto, que pode ser tanto um armazenista, como um laboratório, o número do documento de origem do produto, a quantidade de produto a devolver e o motivo da

devolução. Em devoluções realizadas ao armazenista, habitualmente aquando da entrega da encomenda diária são então entregues os produtos a devolver acompanhados da nota de devolução e do seu duplicado, ficando na farmácia o triplicado desta. Após a análise das devoluções, os fornecedores ou não aceitam a devolução, ou aceitam a devolução e emitem uma nota de crédito, ou então a devolução é aceite por troca de produto. No caso de ser emitida uma nota de crédito o valor da fatura dos produtos dispensados à FSC pelo fornecedor respetivo é reduzido num valor igual ao valor da nota de crédito. Com o objetivo de que exista menos devoluções não aceites pelos fornecedores, na FSC o controlo de prazos de validade e respetivas devoluções é feito até ao dia 15 de cada mês, o que permite que os produtos sejam devolvidos com mês e meio de validade, aumentando a probabilidade destes serem aceites pelo fornecedor.

6. Atendimento ao público

O atendimento ao público é das tarefas mais importantes em FC e onde se efetua a dispensa de MSRM, o aconselhamento e a dispensa de MNSRM e de outros produtos de saúde e a prestação de serviços de promoção da saúde e bem-estar dos utentes. De forma a poder ganhar gradualmente autonomia e capacidade para efetuar atendimentos ao público, nas primeiras semanas de estágio passei várias horas por dia ao balcão a observar quais os procedimentos a adotar para realizar um atendimento com qualidade e rigor técnico-científico. Ao mesmo tempo, ao longo desses dias, em momentos de menor afluência de utentes pude também realizar alguns atendimentos com algum dos elementos do quadro farmacêutico a acompanhar-me, tendo o primeiro deles ocorrido durante a tarde do meu segundo dia de estágio. No final da minha terceira semana de estágio comecei a realizar atendimentos de forma totalmente autónoma.

Durante o meu estágio, uma das situações que mudou a habitual rotina de atendimento ao público foi a impossibilidade de poder oferecer aos utentes os sacos de plástico em que transportavam para casa os seus medicamentos, passando estes na maioria das vezes a optar por não levar saco ou em alternativa levar um saco de papel. Outras das situações que modificou a rotina de atendimento foi a instalação do aparelho e respetivo *software* para a realização do atendimento com receita eletrónica, a qual se encontrava disponível no cartão do cidadão de cada utente, apesar de até ao fim do meu período de estágio a receita impressa em papel não ter sido desmaterializada.

6.1. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento

O farmacêutico vai servir como elo de ligação entre o utente e a terapêutica, tendo a responsabilidade de fomentar um uso racional, eficaz e seguro do medicamento. Ao longo do meu estágio quando realizei atendimentos ao público tentei nunca me esquecer que enquanto futuro profissional de saúde, todas as intervenções que realizo no âmbito da minha profissão devem ter como principal responsabilidade a saúde e bem-estar do utente, colocando sempre o bem-estar destes à frente dos meus interesses pessoais ou comerciais e promovendo ao utente o acesso a tratamentos com qualidade, eficácia e segurança, tal como está escrito no código deontológico, inscrito nos estatutos da OF [23].

O aconselhamento que prestei aos utentes no momento da cedência dos medicamentos foi no sentido de fomentar a adesão à terapêutica, por exemplo a importância do utente não se esquecer de efetuar as administrações de insulina, sob pena de incorrer numa descompensação dos níveis de glicemia, ou tomar os comprimidos para o controlo da pressão arterial, apesar da hipertensão arterial ser uma patologia que não provoca dor, uma vez que independentemente de um diagnóstico correto e de uma prescrição adequada, sem a adesão

ao tratamento não é possível obter os resultados pretendidos com a medicação. Para um correto aconselhamento ao doente procurei sempre ouvir, e até mesmo questionar, eventuais dúvidas que o utente pudesse ter relativamente à terapêutica e esclareci-o e sensibilizei-o, na medida dos meus conhecimentos, para a *compliance* da terapêutica, por exemplo, tomar os anti-inflamatórios não esteroides apenas após as refeições para diminuir a probabilidade de lesão da mucosa gástrica. Ao mesmo tempo, procurei alertar os utentes para eventuais efeitos adversos e interações, como por exemplo evitar a ingestão concomitante de tetraciclinas e quinolonas com leite, contraindicações e efeitos tóxicos que resultem da toma exagerada de medicamentos.

Em cada atendimento, especialmente quando o utente se tratava de uma pessoa mais idosa, perguntei se já conhecia a posologia e o modo de administração do medicamento e em caso de resposta negativa, facultei-lhe essas informações, as quais por vezes eu próprio tive de pesquisar para fornecer uma informação técnico-científica válida e quando me era solicitado escrevi-a essa informação nas caixas dos medicamentos. No atendimento ao público tentei sempre adaptar-me ao nível sociocultural do utente, para que a informação prestada fosse sempre compreendida por este. Procurei também garantir que o utente conservasse adequadamente os medicamentos no seu domicílio, alertando sempre que um medicamento necessitava de refrigeração, como por exemplo as insulinas.

A Farmacovigilância, tal como é definida pela Organização Mundial de Saúde é a ciência e as atividades relacionadas com a identificação, avaliação, compreensão e prevenção dos efeitos adversos e outros problemas relacionados com medicamentos [24]. O Sistema Nacional de Farmacovigilância foi criado no ano de 1992, sendo atualmente constituído pela Direção de Gestão do Risco de Medicamentos do INFARMED, I.P., responsável pela sua coordenação e por quatro Unidades Regionais de Farmacovigilância: Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Sul. Este sistema é responsável pela monitorização da segurança de qualquer medicamento com autorização de introdução no mercado (AIM) português, avaliando possíveis problemas relacionados com reações adversas a medicamentos e implementando medidas de segurança para cada caso específico [25]. Uma reação adversa é qualquer reação nociva e não intencional a um medicamento [26]. Os objetivos deste sistema são: a recolha permanente de informações sobre os riscos dos medicamentos para os doentes ou para a saúde pública; a avaliação científica dessa informação; a ponderação de medidas de segurança adequadas à prevenção ou minimização dos riscos; a adoção de medidas regulamentares necessárias respeitantes à AIM; a comunicação a outros estados membros e à Agência Europeia do Medicamento (EMA) das informações recolhidas; comunicação de informação pertinente aos profissionais de saúde, aos doentes e ao público em geral [11].

Tendo o farmacêutico comunitário uma grande proximidade com o utente, este deve notificar qualquer reação adversa, grave ou inesperada, a um medicamento e na dúvida qualquer caso de suspeita de reação adversa que preocupe o farmacêutico deve ser notificado. O novo portal de reações adversas a medicamentos do INFARMED, criado em 2012 em cumprimento da legislação europeia permite também aos utentes notificar suspeitas de

reação adversa diretamente ao Sistema Nacional de Farmacovigilância, existindo dois formulários distintos, um para profissionais de saúde e outro para utentes [27]. A suspeita de reação adversa deverá ser notificada o mais rapidamente possível e para além da utilização do portal do INFARMED, a notificação também poderá ser feita imprimindo e preenchendo os formulários de notificação e remetê-los por fax ou por correio para a Direção de Gestão de Risco do Medicamento do INFARMED ou para uma das Unidades Regionais de Farmacovigilância [25]. Durante o meu estágio na FSC não se realizou qualquer notificação de uma reação adversa à Direção de Gestão do Risco de Medicamentos.

Tarefa também importante na FC é alertar o utente para o correto encaminhamento dos medicamentos que este tem em sua casa e já não utiliza, porque já ultrapassaram o prazo de validade ou porque o tratamento já terminou. Com o objetivo de criar um sistema de gestão de resíduos de embalagens vazias e medicamentos não usados, a indústria farmacêutica em colaboração com os distribuidores e as farmácias criaram a Valormed, uma vez que este tipo de resíduo especial, deve ser recolhido seletivamente e sob controlo farmacêutico para depois ser processado em estações de tratamento adequadas [28].

Na FSC está disponível um contentor onde são colocados as embalagens vazias e medicamentos fora de uso. Quando os contentores ficam cheios, o que acontece habitualmente com uma periodicidade de dois dias, estes são selados. No meu segundo dia de estágio pude realizar pela primeira vez esta tarefa, depois de selar o contentor preenchi um impresso com o nome e o código da FSC, o peso do contentor, a data e o responsável pela selagem. Ao longo do meu estágio voltei a realizar essa tarefa em diversas ocasiões. Normalmente no dia seguinte à selagem do contentor, os distribuidores no momento de entrega da encomenda diária, recolhem os contentores selados, deixando um contentor vazio. Estes são depois levados para um Centro de Triagem, onde são separados e classificados sendo o papel, plástico e vidro reciclados e os medicamentos incinerados [28].

6.2. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

A cedência ou dispensa de medicamentos é um ato profissional no qual o farmacêutico, após a avaliação da medicação, dispensa medicamentos ou substâncias medicamentosas ao utente. Este processo pode ocorrer tanto para medicamentos com prescrição médica como para medicamentos em regime de automedicação ou indicação farmacêutica e em todos eles deve ser fornecida a informação indispensável para o correto uso dos medicamentos. No momento da dispensa o farmacêutico deve avaliar a medicação dispensada, de modo a identificar e resolver problemas relacionados com os medicamentos, para evitar potenciais resultados negativos associados à medicação [2].

A prescrição de MSRM é feita através de receitas médicas prescritas por via eletrónica ou excecionalmente em receitas médicas manuais nos seguintes casos: falência informática; inadaptação do prescriptor; prescrição no domicílio; prescrição até quarenta receitas médicas

por mês [29,30]. Ao longo do meu estágio fiquei surpreendido com o número ainda elevado de receitas médicas manuais com que os utentes vêm adquirir os seus medicamentos à farmácia, nas quais o principal motivo assinalado para prescrição manual é falência informática. Quando tinha dificuldade em perceber a caligrafia do médico prescriptor solicitava a ajuda de algum dos elementos do quadro farmacêutico da FSC.

A receita prescrita por via eletrónica para ser válida tem de ter preenchidos pelo menos os seguintes campos: número da receita; identificação do local de prescrição, identificação do médico prescriptor; identificação do utente; identificação da entidade responsável pela comparticipação; identificação do medicamento, onde consta a denominação comum internacional (DCI) da substância, a forma farmacêutica, a dosagem, a apresentação, a posologia e o número de embalagens prescritas; justificação técnica, no caso de prescrição por nome comercial do medicamento; identificação de regime especial de comparticipação; data da prescrição; assinatura do médico prescriptor [29,30].

Já a receita manual para ser válida tem de ter preenchidos pelo menos os seguintes campos: vinheta identificativa do médico prescriptor; identificação da especialidade médica; identificação do motivo que levou à prescrição manual; nome e número de utente; entidade responsável pela comparticipação; DCI da substância ativa, dosagem, forma farmacêutica, apresentação e número de embalagens; data da prescrição; assinatura do prescriptor [29].

Os modelos de receita médica prescrita por via eletrónica e receita médica manual são os aprovados pelo despacho nº 15700/2012, de 30 de novembro com as alterações que lhe são conferidas pelo despacho nº8990-C/2013, de 1 de julho [31]. Em anexo (Anexos II e III) seguem duas receitas médicas, uma prescrita por via eletrónica e outra manual, com as quais dois utentes adquiriram os seus medicamentos durante o meu período de estágio.

Em cada receita médica, podem ser prescritos até quatro medicamentos distintos e o número total de embalagens prescritas não pode ultrapassar o limite de duas por medicamento, nem o limite de quatro por receita médica. Como exceção a esta regra temos a prescrição de medicamentos para dispensa ao público em quantidade individualizada, nos quais podem ser prescritos até quatro embalagens do mesmo medicamento numa receita. Cada receita médica tem validade de 30 dias, a contar da data da sua emissão, com exceção das receitas médicas renováveis [29,30].

Dentro dos MSRM temos três classes de medicamentos: medicamentos de receita médica renovável; medicamentos de receita médica especial; medicamentos de receita médica restrita, de utilização reservada a certos meios especializados [11].

Os medicamentos de receita médica renovável destinam-se a determinadas doenças ou a tratamentos prolongados, que respeitando a sua segurança e utilização, podem ser adquiridos mais do que uma vez sem necessidade de nova prescrição [11]. Ao longo do meu estágio pude perceber que os principais medicamentos que vêm prescritos em receitas médicas renováveis são os destinados ao controlo da hipertensão arterial, da diabetes mellitus e da dislipidemia. As receitas médicas renováveis possuem uma validade de 6 meses, a contar da data da sua emissão e são compostas por três vias [29], podendo o utente adquirir os medicamentos de

todas as vias da receita no mesmo dia, ou então cada uma das vias em momentos distintos, mas sempre dentro dos 6 meses de validade da receita.

Ao longo do meu estágio fui gradualmente aprendendo a efetuar a dispensa aos utentes de um MSRM, para tal logo no primeiro dia de estágio e ao longo das primeiras semanas, passei algumas horas ao balcão a observar todo o processo de dispensa do medicamento, tendo realizado a primeira dispensa ao utente de um MSRM no meu terceiro dia de estágio, com um dos elementos do quadro farmacêutico ao meu lado. A primeira dispensa de um MSRM que fiz de forma autónoma foi durante a minha terceira semana de estágio.

Tal como me foi ensinado pelo quadro farmacêutico da FSC, após a apresentação da receita médica pelo utente, o primeiro passo que realizava era a análise da receita, verificando se estavam preenchidos todos os elementos para que a receita médica fosse válida, tendo redobrada atenção para o prazo de validade da mesma e se estava assinada pelo médico prescriptor. Numa situação em que um utente trouxe várias receitas renováveis em que algumas das vias não estavam assinadas pelo médico prescriptor, para que a terapêutica não fosse negada ao utente, os medicamentos foram dispensados, tendo o Diretor Técnico da FSC se deslocado posteriormente ao centro de saúde para que as receitas fossem assinadas pelo médico prescriptor.

No meu segundo dia de estágio, quando estava ao balcão a observar um atendimento depois de ser analisada a receita, fui eu próprio ao armazém, buscar o medicamento prescrito, no entanto, cometi um erro, pois ao invés de retirar uma embalagem de irbesartan + hidroclorotiazida/150 mg + 12,5 mg conforme estava prescrito, retirei uma embalagem de irbesartan + hidroclorotiazida/300 mg + 12,5 mg, erro esse que foi prontamente corrigido pela Dr.^a Ana Dulce Aleixo que estava a efetuar a dispensa.

Quando eu próprio comecei a efetuar a dispensa de MSRM, depois de verificada a receita, perguntava ao utente se era a primeira vez que iria tomar a medicação prescrita e se tinha alguma dúvida acerca da prescrição. Em seguida, em virtude de algum desconhecimento que possuía de nomes comerciais de medicamentos, inseria o CNPEM do medicamento prescrito no sistema Sifarma 2000 e quando existia grupo homogéneo questionava o utente se preferia levar o medicamento de marca ou um genérico, exceto quando a prescrição era feita por nome comercial e constava nela “Exceção a) do n.º 3 do art. 6.º” ou “Exceção b) do n.º 3 do art. 6.º - Reação adversa prévia”, ou seja, quando o médico prescriptor tivesse alegado ao abrigo da alínea a) do número 3 do artigo 6º da redação atual da portaria nº 137-A/2012, de 11 de maio “prescrição de medicamento com margem ou índice terapêutico estreito, conforme informação prestada pelo INFARMED, I.P.” ou ao abrigo da alínea b) do número 3 do artigo 6º da mesma portaria alegasse “Fundada suspeita, previamente reportada ao INFARMED, I.P., de intolerância ou reação adversa a um medicamento com a mesma substância ativa, mas identificado por outra denominação comercial” [29]. Quando a opção do utente era o medicamento de marca, dispensava o medicamento de marca, se o utente optava por um medicamento genérico, questionava-o se tinha preferência por algum laboratório, uma vez que alguns utentes, sobretudo os mais idosos, independentemente do

preço, quando iniciavam a terapêutica com um medicamento genérico de um determinado laboratório, manifestavam a vontade de adquirir o medicamento genérico sempre do mesmo laboratório, porque as cores das caixas variam e podia causar-lhes alguma confusão na toma dos medicamentos. Se o utente não manifestava preferência por nenhum laboratório, informava-o dos medicamentos genéricos de diferentes laboratórios que possuíamos em *stock* e do seu respetivo preço.

Depois do utente me indicar o medicamento que pretendia adquirir, de acordo com o disposto na receita médica, deslocava-me então ao armazém para proceder à recolha do medicamento, verificando as condições da embalagem e o prazo de validade e registava o medicamento no Sifarma 2000, ou por leitura ótica ou digitando o código do produto. Nas receitas médicas em que vinha assinalada alguma das exceções que constam na redação atual da portaria nº 137-A/2012, de 11 de maio, assinalava essa exceção.

O passo seguinte que efetuava era a indicação do plano de comparticipação, que define qual a percentagem do PVP que é pago pelo utente e paga pelo Serviço Nacional de Saúde (SNS) ou por outra entidade financeira responsável. A percentagem paga pelo utente oscila consoante as entidades financeiras responsáveis e o plano de comparticipação associado. Durante o meu estágio sem dúvida que o principal plano de comparticipação dos medicamentos que dispensei foi o SNS regime geral, que corresponde ao código 01. Comum também foi o plano SNS pensionistas que corresponde ao código 48.

Com a introdução da receita médica eletrónica, que ocorreu na FSC no dia 8 de abril, após introduzir o cartão do cidadão de cada utente e ler o número da receita e o código de acesso inscritos na receita impressa, ou em alternativa ler apenas o número da receita e o código de acesso, alguns dos passos anteriores passaram a ser realizados automaticamente pelo sistema informático, nomeadamente a verificação da data de validade da receita, surgindo uma mensagem no caso de esta estar já ultrapassada, o registo dos medicamentos a dispensar, no caso de a prescrição ser feita por medicamento de marca, a marcação das eventuais exceções da portaria 137-A/2012, os preços e também o plano de comparticipação. Para os utentes que possuíam planos de comparticipação complementares era necessário assinalar qual o plano complementar de comparticipação.

O preço máximo que o Estado comparticipa em cada medicamento é baseado no preço de referência multiplicado pela percentagem de comparticipação, correspondendo o preço de referência à média dos cinco preços mais baixos dos medicamentos que integram cada grupo homogéneo [32]. Esporadicamente também apareciam receitas médicas de utentes com a comparticipação partilhada por dois organismos, sendo o mais comum a partilha entre o SNS e o Sindicato dos Bancários do Sul e Ilhas. Nessas ocasiões era necessário tirar uma cópia da receita médica e do cartão que comprovava que o utente tinha direito à comparticipação pela segunda entidade.

No estágio pude também dispensar medicamentos abrangidos por regimes de comparticipação especial, sendo que a percentagem paga pelo utente variava de acordo com a patologia especial que este apresentava, de entre as presentes em anexo (Anexo IV), e após

a aplicação do plano de comparticipação era necessário colocar a legislação aplicável àquele plano, vindo essa indicação expressa na receita médica.

Antes de terminar o atendimento, prestava as devidas indicações ao utente como a posologia e modo de administração (quando me era solicitado escrevia essas informações nas embalagens), precauções especiais de utilização e conservação e fazia a impressão do verso da receita, que pode ser visto em anexo (Anexo V), para efeitos de faturação às entidades responsáveis pelos valores da comparticipação, solicitando a assinatura do utente. Por fim e antes de solicitar o pagamento ao utente, preenchia o nome do utente e o seu número de contribuinte, entregando-lhe a fatura após o pagamento. Para os pensionistas da indústria dos lanifícios fazia uma fotocópia da receita médica, a qual anexava à fatura, para que estes pudessem ser ressarcidos do valor dos MSRM comparticipados.

Nos medicamentos de receita médica especial, devido à sua especificidade, são necessárias medidas adicionais para além das referidas anteriormente. Estão sujeitos a receita médica especial medicamentos que preencham uma das seguintes condições: contêm, em dose sujeita a receita médica, uma substância classificada na legislação, como estupefaciente ou psicotrópico; possam em caso de utilização anormal, dar origem a risco de abuso do medicamento, toxicod dependência, ou ser utilizados para fins ilegais; contêm uma substância que pela sua novidade ou propriedades, se considere por precaução dever ser incluída nesta classificação [11].

Na minha segunda semana de estágio pude observar pela primeira vez o processamento de uma receita médica especial, no caso, do medicamento Ritalina® LA cápsula de libertação modificada. Ao longo do período de duração do meu estágio dispensei várias vezes este medicamento, assim como Suboxone® e sistemas transdérmicos de fentanilo. Nas receitas médicas vinham impressa a sigla RE (Receita especial) e constava nelas um único medicamento. No momento em que efetuava a leitura ótica do código do produto o Sifarma 2000 solicitava-me os seguintes dados: nome do médico prescriptor; número da receita médica especial; nome, morada, número e data de validade do cartão do cidadão e idade do utente e do adquirente do medicamento. O nome do adquirente, a sua idade e a data de validade do seu documento de identificação eram depois impressos no verso da receita. Todas as receitas que dispensei nas quais constavam medicamentos psicotrópicos e estupefacientes eram fotocopiadas e estão arquivadas durante pelo menos três anos, por ordem da data de aviamento, na FSC. Em cumprimento da legislação a FSC envia ao INFARMED, I.P. até ao dia 8 do mês seguinte da dispensa, uma fotocópia das receitas manuais com medicamentos dispensados contendo uma substância classificada como estupefaciente ou psicotrópico e até ao dia 8 do 2º mês seguinte, a listagem das receitas materializadas de prescrição por via eletrónica, que incluam medicamentos dispensados contendo uma substância classificada como estupefaciente ou psicotrópico.

Durante o meu estágio realizei também algumas vendas suspensas de medicamentos sujeitos a receita médica. Realizava este tipo de venda quando o utente possuía uma patologia crónica, como hipertensão arterial, asma brônquica, diabetes mellitus, entre

outras, para a qual já fazia medicação habitual, no entanto, por motivos de ordem diversa não possuía a receita médica. Desta forma consultava a ficha do utente onde era possível ver as vendas que lhe foram efetuadas e obter o seu perfil farmacoterapêutico, para ter a certeza que o utente já tomava habitualmente o medicamento que me estava a ser solicitado. Uma das primeiras vendas suspensas que realizei foi a um utente, deslocado da sua residência, que se tinha esquecido das receitas médicas de insulina na sua residência fixa, não tendo insulina suficiente até regressar à sua morada habitual. Como tal, dispensei o medicamento tendo o utente pago a totalidade do medicamento, na semana seguinte este trouxe a receita médica e foi então regularizada a venda suspensa e devolvido ao utente o valor da comparticipação pelo SNS.

Após cada atendimento, ou assim que possível, efetuava também a verificação da receita médica, para que eventuais enganos como o plano de comparticipação, a assinatura do utente e até mesmo a correspondência entre o medicamento prescrito e o medicamento dispensado fossem corrigidos, para que após o envio no final de cada mês para o Centro de Conferência de Faturas (CCF), a FSC pudesse ser ressarcida do valor da comparticipação dos medicamentos, ou no caso de não ter dispensado o medicamento prescrito poder contactar o utente. Depois da verificação, carimbava, datava e assinava o verso da receita, sendo esta ainda revista por outro elemento do quadro farmacêutico da FSC.

6.3. Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica e Automedicação

A automedicação é a utilização de MNSRM de forma responsável, para o alívio e tratamento de queixas de saúde passageiras e sem gravidade e na qual pode ou não ser prestado o aconselhamento por um profissional de saúde [33]. Esta é uma prática que tem vindo a aumentar nos últimos anos, uma vez que, como pude testemunhar durante o meu estágio, os utentes têm cada vez maior acesso a informação sobre medicamentos. No entanto, a prática da automedicação, pode causar alguns problemas aos utentes, devido a alguma dessa informação ser inadequada e insuficiente. Desta forma a responsabilidade pela utilização de MNSRM deve ser partilhada pelas autoridades, utentes, profissionais de saúde e indústria farmacêutica [34]. A FC é um espaço no qual o farmacêutico tem a oportunidade de aconselhar a utilização ou não do medicamento solicitado pelo doente, para que a automedicação se realize sob uma indicação adequada e de acordo com um uso racional do medicamento [2].

Antes de proceder à dispensa do MNSRM solicitado, o farmacêutico deve reunir informação suficiente sobre o problema de saúde do utente, quais os sintomas, há quanto tempo persistem e se já foram tomados medicamentos. Se o farmacêutico entender que os sintomas podem estar associados a uma patologia grave deverá reencaminhar o utente para o

médico e no caso oposto, ou seja, de sintomas menores deverão ser fornecidas ao utente medidas não farmacológicas, dispensado o medicamento solicitado apenas em caso de necessidade [2].

A possibilidade de se recorrer a automedicação está, no entanto limitada a situações clínicas bem definidas, como sintomatologia associada a gripes e constipações, diarreia, dores musculares ligeiras a moderadas, entre outras e deve efetuar-se sempre de acordo com as especificações estabelecidas para o medicamento, para que não ocorra uma utilização indiscriminada de medicamentos com consequentes riscos para a saúde de cada utente. A lista de situações passíveis de automedicação encontra-se no anexo ao despacho nº 17690/2007 de 23 de julho [33]. Na procura de aconselhamento farmacêutico na FC, pode ocorrer também a dispensa de um medicamento sob indicação farmacêutica, na qual o farmacêutico se responsabiliza pela seleção de um MNSRM ou de um eventual tratamento não farmacológico, com o intuito de aliviar ou resolver um problema de saúde não grave, de curta duração e autolimitante e que seja independente de outros problemas de saúde do utente [2]. De realçar que os medicamentos homeopáticos e os medicamentos tradicionais à base de plantas são considerados MNSRM, salvo se cumprirem algumas das condições que sujeita os medicamentos a receita médica [11].

A importância do aconselhamento farmacêutico na dispensa de MNSRM foi valorizada pela criação de uma terceira lista de medicamentos, a dos Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácias (MNSRM-DEF), em cumprimento do disposto no Decreto-Lei nº128/2013, de 5 de setembro. Assim, foi então aprovado pela deliberação nº24/CD/2014 do INFARMED o regulamento dos MNSRM-DEF [35]. Em anexo a esta deliberação estão os protocolos para a dispensa de MNSRM-DEF.

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de dispensar diversos MNSRM, alguns deles MNSRM-DEF, como aqueles contendo como substância ativa ibuprofeno 400 mg. A dispensa de ibuprofeno 400 mg ocorreu sobretudo na fase inicial do meu estágio, uma vez que tendo em conta a época do ano em que estávamos, as gripes e constipações eram bastantes comuns. Nestas situações questionava o utente acerca da medicação que já estava a efetuar, outros problemas de saúde que apresentava e a duração e intensidade dos sintomas. Quando os sintomas apresentados eram de menor gravidade e o utente não apresentava comorbilidades em que a toma de ibuprofeno é contraindicada, cedia o medicamento e indicava que poderia tomar 1 comprimido até 3 vezes por dia, preferencialmente após as refeições. Aconselhava também o utente a consultar o médico se este apresentasse febre mesmo após três dias a tomar o medicamento ou se os sintomas se agravassem. Ao longo do meu estágio, esporadicamente também se deslocaram à FSC utentes que diziam ter “dores de garganta” (odinofagia), associadas a febre, solicitando um antibiótico. Nessas situações, não só pela incerteza no diagnóstico, mas também pela impossibilidade legal de dispensar o medicamento aconselhava o utente a consultar o seu médico.

Num dos primeiros atendimentos ao público que fiz de forma autónoma foi-me também solicitado um medicamento para ajudar no alívio da tosse associada a uma gripe. Nessa

ocasião questioneei o utente se este apresentava tosse seca ou produtiva e expliquei-lhe que inicialmente se poderá ter a sensação de uma tosse seca, pela dificuldade em libertar a expetoração. Nessa ocasião e em muitas outras em que me foi solicitado um medicamento para o alívio da tosse em situações de gripe, acabei por aconselhar um expetorante, por exemplo um medicamento com a substância ativa acetilcisteína, e também medidas não farmacológicas, como a maior ingestão de líquidos, preferencialmente água.

No período da Primavera foi também comum a ida de utentes à FSC que se queixavam de “nariz entupido” (congestão nasal) devido a rinite alérgica. Nessas ocasiões aconselhava normalmente um descongestionante nasal, alertando o utente para não o utilizar por mais de cinco dias seguidos, pois poderia causar habituação, ou seja o utente poderia estar sujeito a taquifilaxia e congestão por efeito *rebound* (rinite medicamentosa). Se o utente relatasse outros sintomas associados à rinite, nomeadamente prurido nasal ou conjuntivite aconselhava normalmente um anti-histamínico não sujeito a receita médica, como a fexofenadina 120 mg.

Além dos relatados dispensei outros MNSRM, nos quais procurei ser sempre perspicaz na avaliação do utente para perceber assertivamente as suas necessidades e lhe prestar o aconselhamento devido. Ao mesmo tempo, respeitei sempre a opinião do utente para que ocorresse uma maior interação entre ambos e desta forma o utente ficasse mais motivado a seguir os meus conselhos para promover a sua saúde e o seu bem-estar. Apesar do aconselhamento farmacêutico estar muitas vezes ligados à dispensa de MNSRM por indicação farmacêutica, aconselhei também, quando achei oportuno, a adoção de medidas não farmacológicas como a adoção de uma dieta variada e nutricionalmente equilibrada, a ingestão de uma quantidade elevada de líquidos e a prática regular de exercício físico 30 a 60 minutos por dia.

6.4. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

6.4.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Os produtos cosméticos e de higiene corporal são de acordo com a alínea p) do artigo 2º do Decreto-Lei nº 189/2008, de 24 de setembro, preparações destinadas a ser colocadas em contacto com alguma das partes da superfície corporal, designadamente, epiderme, sistema piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com o intuito de os limpar, perfumar, modificar o aspeto, proteger, manter em bom estado ou corrigir odores corporais [36]. Estes produtos têm vindo a ganhar nos últimos anos uma maior importância na FC, pois o utente preocupa-se cada vez mais com a sua aparência física e higiene corporal, devendo o farmacêutico saber aconselhar o produto mais adequado para cada utente. Apesar destes não apresentarem propriedades curativas ou preventivas de doenças no ser humano, nem serem utilizadas para estabelecer um diagnóstico médico, estes produtos são também regulados e supervisionados pelo INFARMED, I.P. para garantir a sua qualidade e segurança [37].

Na FSC estão disponíveis produtos cosméticos e higiene corporal de diversas marcas como a Avéne®, Ducray®, Elgydium®, Isdin®, Lactacyd®, La Roche-Posay®, Lierac®, Neutrogena®, Roc®, Saugella®, Uriage®, Vichy®, entre outras, e com diferentes gamas de aplicação, que variam desde protetores solares, desodorizantes, produtos de higiene íntima, produtos de higiene oral, maquilhagem, entre outras.

Ao longo do meu estágio foi-me solicitado por utentes da FSC produtos cosméticos e de higiene corporal, algumas das vezes aconselhados por médicos, como géis para a higiene íntima, no entanto, na maioria das ocasiões eram pedidos sem aconselhamento médico. Em utentes que me pediam produtos para hidratar peles secas aconselhava normalmente preparações com propriedades emolientes, como cremes que promovessem a hidratação e retenção de água. Já em peles mais oleosas aconselhava normalmente preparações mais fluídas e menos gordurosas como as loções. Bastante procurados na FSC são também os produtos de higiene oral, como as pastas dentífricas, tendo sido este um dos primeiros produtos de higiene que dispensei durante o meu estágio. Nessa ocasião aconselhei uma pasta dentífrica com propriedades branqueadoras, ao invés de uma pasta para dentes sensíveis ou prevenção de cáries, de acordo com a descrição de produto que o utente pretendia. Nos utentes que não podiam temporariamente ou definitivamente fazer uma higiene oral rigorosa devido por exemplo a cirurgia periodontal ou implantar, ou gengivite, aconselhava normalmente a aplicação de um gel dentífrico com um dedo ou uma escova de dentes suave.

Nalguns utentes com problemas da pele mais graves como psoríase, acne (nesse caso aconselhava também um bom produto de limpeza da pele) ou dermatite atópica, aconselhava-os habitualmente a consultar um médico que lhes pudesse indicar qual o tratamento mais adequado.

Na dispensa destes produtos procurei sempre na medida nos meus conhecimentos, solicitando por vezes o auxílio de outros elementos do quadro farmacêutico da FSC, dar o correto aconselhamento para a utilização do produto e procurei estar atento a possíveis alergias que o utente fizesse ao produto.

6.4.2. Produtos dietéticos para alimentação especial

Os alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos são de acordo com a alínea b) do artigo 2º do Decreto-Lei nº216/2008, de 11 de novembro, uma categoria de géneros alimentícios “sujeitos a um processamento ou formulação especial, com vista a satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes e para consumo sob supervisão médica, destinando-se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar géneros alimentícios correntes ou alguns nutrientes neles contidos ou seus metabolitos, ou cujo estado de saúde determina necessidades nutricionais particulares que não géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial ou por uma combinação de ambos” [38].

Ainda de acordo com o artigo 4º do mesmo Decreto-Lei, estes podem classificar-se em três categorias distintas: produtos alimentares nutricionalmente completos, com fórmula dietética padrão, que podem constituir a única fonte alimentar para as pessoas a que se destinam; produtos alimentares nutricionalmente completos, com fórmula dietética adaptada a uma doença, anomalia ou situação sanitária específica, que podem constituir a única fonte alimentar para as pessoas a que se destinam; produtos alimentares nutricionalmente incompletos, com fórmula dietética padrão ou fórmula dietética adaptada a uma doença, anomalia ou situação sanitária específica, mas que não devem constituir a única fonte alimentar das pessoas a que se destinam [38].

A prescrição de produtos dietéticos com caráter terapêutico deve ser feita através do modelo de receita médica aprovada pelo despacho nº 15700/2012, de 30 de novembro, na sua redação atual. Na prescrição não podem constar outros medicamentos ou produtos e na receita deve constar a sigla MD (receita de produtos dietéticos) [31]. O despacho nº 14319/2005, de 2 de junho, definiu ainda que doentes que apresentem erros congénitos do metabolismo têm direito à comparticipação total pelo Estado dos produtos dietéticos para alimentação especial desde que estes tenham sido prescritos pelo Instituto de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães ou por unidades hospitalares de doenças metabólicas protocoladas com o referido instituto [39]. A Direção Geral de Saúde (DGS) é a responsável pela publicação da lista de produtos destinados a este efeito [40].

Já os géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial são produtos que devido à sua composição especial ou processos de fabrico especiais se distinguem dos alimentos de consumo corrente e são adequados ao objetivo nutricional pretendido. Estes estão indicados em pessoas cujo processo de assimilação ou metabolismo esteja perturbado, pessoas com condições fisiológicas especiais, que possam beneficiar da ingestão controlada de determinadas substâncias contidas nos alimentos e lactentes ou crianças em bom estado de saúde [41].

A FSC possui habitualmente para venda alguns produtos dietéticos para alimentação especial nomeadamente das marcas Nutricia Fortimel®, Meritene® e soluções de reidratação oral como as da marca Bi-OralSuero®, Dioralyte®, Miltina®, Redrate®, entre outras.

Em resumo, o recurso a produtos dietéticos para alimentação especial e alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos pode ocorrer em diversas situações patológicas como a doença celíaca e fenilcetonúria, no processo pós-operatório, em doentes oncológicos, em doentes com disfagia como resultado de um acidente vascular cerebral ou presença de um divertículo no esófago ou em situações mais simples como uma gastroenterite.

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de aconselhar e dispensar principalmente produtos alimentares nutricionalmente incompletos em situações de vômitos e diarreia, como soluções de reidratação oral, aconselhando sobretudo em crianças a não utilização de antidiarreicos nem antieméticos, pois não alteram a história natural da doença, e a consulta

de um médico se os sintomas persistissem, pois poderia ser necessário recorrer a tratamento antibiótico.

6.4.3. Produtos dietéticos infantis

De acordo com a Organização Mundial de Saúde o leite materno é o alimento ideal para os recém-nascidos, proporcionando-lhes os nutrientes que estes necessitam para um desenvolvimento e crescimento saudável. O colostro, que apresenta uma tonalidade amarelada, é o leite materno produzido pela mulher nos primeiros dias pós-parto e fornece não só os nutrientes necessários ao desenvolvimento do recém-nascido como também lhe fornece alguns anticorpos, proporcionando-lhe uma imunização passiva. A alimentação do recém-nascido com o colostro deve ser iniciada na primeira hora após o nascimento e o leite materno deve ser a única fonte de alimentação do lactente até aos seis meses de idade. Após este período deverá ser gradualmente introduzido na alimentação do lactente alimentos complementares, como farinhas, boiões de fruta e sopas, no entanto, a amamentação deverá manter-se até aos dois anos de idade do lactente ou para além desse período [42,43].

No entanto, nalguns recém-nascidos, não é possível fazer-se a alimentação com leite materno, quer por opção materna, quer por patologias que impeçam a amamentação. Neste sentido na FC estão disponíveis produtos dietéticos infantis, como leites em pó, que por indicação médica permitem satisfazer as necessidades nutricionais do recém-nascido.

A legislação aplicável às fórmulas para alimentação de lactentes e fórmulas de transição é que se encontra inscrita na redação atual do Decreto-Lei nº217/2008 de 11 de novembro. As fórmulas para lactentes são assim os únicos géneros alimentícios transformados que satisfazem as necessidades dos lactentes durante os primeiros meses de vida, até à introdução de uma alimentação complementar, devendo a sua composição respeitar as necessidades nutritivas dos lactentes saudáveis, nomeadamente os níveis mínimos de determinados aminoácidos e os níveis máximos e mínimos relativos às proteínas [43].

Na FSC estão disponíveis fórmulas lactentes, na forma de leite em pó, as quais variam a sua composição de acordo com a idade do lactente: fórmula para lactentes até aos 6 meses de idade; fórmula de transição para lactentes entre os 6 meses e 1 ano de idade; fórmula de transição para lactentes com mais de 1 ano de idade. Estão também disponíveis fórmulas adequadas a determinadas patologias e sintomas que os lactentes apresentem, nomeadamente fórmulas anticólicas, anti-regurgitante, hipoalergénicas e fórmulas sem lactose. A FSC dispõe também para venda alimentos complementares como farinhas lácteas e não lácteas, preparadas com água e leite respetivamente, com e sem glúten e boiões com puré de fruta destinados a lactentes com mais de 6 meses.

Em virtude destes produtos estarem já disponíveis em parafarmácia e supermercados, apenas por uma vez efetuei a dispensa de um leite em pó, fórmula anticólicas e quando o utente me questionou qual a dose de leite em pó e proporção de água consultei as instruções

fornecidas pelo fabricante, referindo que a preparação deveria ser feita com água previamente fervida e a mistura e a administração ao lactente feita quando a água estivesse a uma temperatura morna, próxima da temperatura corporal, agitando previamente a mistura até formar uma solução homogênea. Alguns dos cuidados a ter com os biberons, as tetinas e as tampas, são também lavá-los bem após cada utilização e em seguida esterilizá-los recorrendo a “água a ferver” (água à ebulição) ou através de uma máquina esterilizadora.

6.4.4. Fitoterapia e suplementos alimentares

De acordo com o artigo 2º da portaria nº 207-E/2014, “a fitoterapia é a terapêutica que utiliza, como ingredientes terapêuticos, substâncias provenientes de plantas, e inclui a promoção da saúde, a prevenção da doença, o diagnóstico e o tratamento, abrangendo ainda o aconselhamento dietético e a orientação sobre estilos de vida” [44].

Na FSC estão disponíveis para venda diversos produtos fitoterápicos, das marcas Arkocápsulas®, Bioactivo®, Bioarga®, Midro®, Moreno Tisana Natural®, entre outros. Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de dispensar alguns destes produtos, nomeadamente o chá Midro®, quando o utente me solicitou um produto natural que ajudasse a regularizar o funcionamento intestinal. Na dispensa de produtos fitoterápicos habitualmente questionava o utente da medicação concomitante que este realizava, uma vez que alguns dos constituintes dos produtos fitoterápicos, como o hipericão que funciona como indutor metabólico e aumenta os níveis de serotonina no SNC, poderão interagir com a medicação de cada utente e a maioria destes tem erradamente a ideia de que um produto natural, ao contrário dos de síntese química, não provoca interações ou efeitos adversos e não tem qualquer contra-indicação.

Os suplementos alimentares são de acordo com a alínea a) do artigo 3º do Decreto-Lei nº 136/2003 de 28 de junho, “géneros alimentícios que se destinam a complementar ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estremes ou combinadas, comercializadas em forma doseada, tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomadas em unidades medidas de quantidade reduzida”. Os suplementos alimentares podem conter diversas substâncias nutrientes e outros ingredientes, nomeadamente vitaminas, minerais, aminoácidos, ácidos gordos essenciais, fibras e várias plantas e extratos de ervas [45]. A FSC possui disponíveis para venda suplementos alimentares de diversas marcas nomeadamente Centrum®, Chologutt®, Cerebrum®, Panvitol®, Pharmaton® e Sargenor®. No meu estágio tive a oportunidade de dispensar um maior número de suplementos alimentares que produtos fitoterapêuticos, com destaque para os da marca Centrum® e Chologutt®, principalmente para uma população adulta, enquanto os jovens adquiriam principalmente

produtos da marca Cerebrum®. Na dispensa deste tipo de produtos procurava sobretudo garantir que o utente apenas tomava um tipo de suplemento alimentar, para que não existisse o risco de ocorrer uma hipervitaminose, que é possível de ocorrer com a toma concomitante de vários suplementos alimentares.

6.4.5. Medicamentos de uso veterinário

De acordo com a redação atual do artigo 3º do Decreto-Lei nº 148/2008 de 29 de julho, um medicamento veterinário é “toda a substância, ou associação de substâncias, apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas” [46,47]. Ou seja, esta definição é semelhante à definição de medicamento, com a *nuance* de neste caso se aplicar apenas a animais. Quanto à dispensa estes medicamentos são classificados em medicamentos não sujeitos a receita médico-veterinária, medicamentos sujeitos a receita médico-veterinária e medicamentos de uso exclusivo por médicos veterinários [46]. Apesar desta classificação quanto à dispensa, nem mesmo os medicamentos sujeitos a receita médico-veterinária são comparticipados pelo Estado.

Na FSC existe um *stock* de medicamentos de uso veterinário que permite fazer face aos produtos normalmente mais solicitados pelos utentes, nomeadamente contraceptivos de uso oral para cães e gatos, sendo um dos mais vendidos e que eu próprio tive a oportunidade de aconselhar a Pilusoft®, desparasitantes de uso externo, como o Advantix® e Frontline®, desparasitantes intestinais como o Drontal® e Strongid® medicamentos para tratar algumas patologias como o Fortekor®, utilizado para o tratamento de insuficiência cardíaca em cães e insuficiência renal em gatos e alguns antibióticos como a Terramicina®, para o tratamento de infeções em animais. Quando me foi solicitado este tipo de produtos alertei o utente que na maioria das ocasiões a dosagem a ser utilizada, consoante a espécie do animal, dependia sobretudo do seu peso e alertava os utentes que não deveriam utilizar os medicamentos de uso humano nos seus animais, a não ser com indicação do veterinário, pois alguns deles como o paracetamol e os anti-inflamatórios não esteroides, mesmo em doses baixas provocam reações adversas nos seus cães e gatos, podendo mesmo levar à morte do animal.

Quando o utente me solicitava algum aconselhamento em termos de medidas profiláticas, recordei nos cães a vacinação obrigatória contra a raiva e outras vacinas não obrigatórias como as vacinas contra a esgana, leishmaniose e dirofilariose; para gato, vacinação contra a raiva e leucemia infecciosa felina, as quais deveriam ser realizadas pelo médico-veterinário. Importante é também sem dúvida realizar a desparasitação intestinal e externa periódica dos seus animais e também das pessoas que com eles têm contacto. Quando o utente me questionava sobre o que fazer em situações mais complexas, solicitava o auxílio de algum dos

elementos do quadro farmacêutico da FSC ou então aconselhava o utente a consultar um médico-veterinário.

6.4.6. Dispositivos médicos

De acordo com a alínea t) do artigo 3º do Decreto-Lei nº 145/2009, de 17 de junho por dispositivo médico entende-se “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o *software* destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico ou terapêuticos e que seja necessário para o bom funcionamento do dispositivo médico” distinguindo-se um dispositivo médico de um medicamento por o efeito principal alcançado no corpo humano não ser obtido por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora possa ser apoiado por esses meios. Estes são utilizados para diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença e de uma lesão ou deficiência, incluindo compensação destas; estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico; controlo da concepção [12].

Na FC devem estar disponíveis dispositivos médicos da classe I, IIa, IIb, III, de baixo risco, baixo médio risco, alto médio risco e alto risco respetivamente, sendo esta classificação baseada nos potenciais riscos inerentes à utilização do dispositivo, invasibilidade no corpo humano e duração do contacto com o corpo. Além destes, na FC, também devem estar disponíveis dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* [48]. A FSC possui em *stock* dispositivos médicos de qualquer uma destas classes, nomeadamente e a título de exemplo da classe I: sacos coletores de urina, colares cervicais, muletas, seringas sem agulha e ligaduras; da classe IIa: adesivos oclusivos para uso tópico, termómetros e lancetas; da classe IIb: canetas de insulina, preservativos e diafragmas; da classe III: pensos com medicamentos e dispositivos intrauterinos; dispositivos de diagnóstico *in vitro*: testes de gravidez; equipamento para a medição da glicemia e frascos para colheita de urina asséptica. Um outro dispositivo médico disponível na FSC é o xarope GrinTuss® para crianças e para adultos, que pertence à classe IIa, sendo este um dos produtos que só após o início do meu estágio pude perceber que se tratava de um dispositivo médico, pois pela sua apresentação na forma de xarope julgava classificar-se como produto de fitoterapia. Ao longo do meu estágio acabei por algumas vezes dispensar este produto, sobretudo no período do Inverno e início da Primavera, para utentes que apresentavam tosse seca ou produtiva. Nos momentos de dispensa de dispositivos médicos tentei elucidar o utente sobre o modo de funcionamento do dispositivo que estes estavam a adquirir, tendo por vezes solicitado o auxílio de outros elementos do quadro farmacêutico da FSC ou procurado a informação em fontes técnico-científicas válidas.

7. Cuidados de Saúde prestados na Farmácia São Cosme

A portaria nº 1429/2007, de 2 de novembro, veio definir quais os serviços farmacêuticos que podem ser prestados pelas farmácias [1]. Na FSC estão assim disponíveis alguns destes serviços nomeadamente, a administração de vacinas não incluídas no PNV e a utilização de meios auxiliares de diagnóstico e terapêutica para a determinação de valores de pressão arterial, medidas antropométricas e parâmetros bioquímicos, estando, de acordo com a legislação, os serviços prestados e o seu preço visíveis na porta de entrada da farmácia.

Para a determinação das medidas antropométricas, nomeadamente peso, altura e índice de gordura corporal, e medição dos valores de pressão arterial a FSC dispõe de um equipamento junto da porta de entrada, o qual poderá ser utilizado autonomamente pelo utente, no entanto, ao longo do meu estágio prestei aconselhamento sobretudo à população mais idosa do procedimento a realizar para a medição da pressão arterial. Habitualmente aconselhava o utente a sentar-se durante 5 minutos antes de ser efetuada a medição e em seguida era realizada a medição da pressão arterial, permitindo o equipamento da FSC realizar essa medição em posição ortostática fazendo a medição no pulso do utente, após este retirar o seu relógio de pulso, imprimindo o equipamento um talão com os valores da pressão arterial. Os utentes que recorriam a este tipo de medição, habitualmente já efetuavam terapêutica para a hipertensão arterial, fosse com bloqueadores da entrada do cálcio, antagonista do recetor da angiotensina, inibidores da enzima de conversão da angiotensina, ou diuréticos e normalmente realizavam a medição da pressão arterial quando se deslocavam à farmácia para adquirir os medicamentos que constavam das suas prescrições médicas. Quando os valores de pressão arterial se encontravam elevados, acima de 140/90 mmHg habitualmente questionava o utente se cumpria a medicação prescrita pelo médico, se praticava habitualmente exercício físico e se tinha cuidados com a alimentação, nomeadamente diminuição do consumo de sal e gorduras, em caso de resposta afirmativa aconselhava o utente a consultar o seu médico para rever a terapêutica, em caso de resposta negativa, recordava-o da importância do cumprimento da terapêutica e das medidas não farmacológicas para o controlo da pressão arterial.

A determinação dos parâmetros bioquímicos nomeadamente, ácido úrico, colesterol total, creatinina, glicemia capilar, hemoglobina glicada, PSA, triglicéridos, é feita na FSC através de um equipamento fotométrico. Para as determinações destes parâmetros realiza-se uma punção, com um porta-lancetas, num dos dedos do utente, recolhe-se o sangue para um capilar e deste transfere-se para uma tira específica para cada parâmetro a determinar. O equipamento reconhece cada uma das tiras, não sendo necessário indicar qual o teste que se pretende realizar. De referir que todas as determinações de parâmetros bioquímicos são realizadas no gabinete de atendimento personalizado.

A primeira medição que vi efetuar ocorreu no meu terceiro dia de estágio, tendo nessa ocasião sido medido os valores de colesterol total de um utente, que englobou na ida à farmácia, para adquirir os medicamentos que constavam das suas receitas, a monitorização

dos seus níveis de colesterol. Ao longo do meu estágio realizei eu próprio a medição de alguns parâmetros bioquímicos, especificamente, glicemia capilar, colesterol total e triglicéridos, tendo a primeira das quais sido realizada já no meu 2º mês de estágio, no dia 19 de março. A maioria dos utentes que faziam a determinação da glicemia capilar, colesterol total e triglicéridos no sangue já possuíam diagnóstico médico de diabetes mellitus e dislipidemia respetivamente. Nas prescrições médicas dos utentes que faziam estas determinações constavam habitualmente antidiabéticos orais e antidislipidémicos, sobretudo metformina e inibidores da hidroximetilglutaril-coenzima A redutase, respetivamente.

Quando realizava a determinação destes dois parâmetros bioquímicos questionava sempre o utente se este se encontrava em jejum. Após realizadas as medições registava os valores obtidos no cartão de registo de cada utente e prestava o devido aconselhamento. Por exemplo, se os valores de glicemia capilar em jejum fossem muito superiores a 126 mg/dl, questionava o utente do tipo de alimentação nas últimas semanas e se tinha cumprido a medicação, em caso de resposta positiva aconselhava-o a consultar o seu médico para rever a terapêutica, em caso de resposta negativa, sensibilizava-o para a importância do cumprimento da terapêutica e da importância do controlo de peso e da atividade física no controlo da diabetes mellitus. Já as determinações de colesterol total, apesar da maioria delas ter sido realizado em utentes a realizar tratamento antidislipidémico, esporadicamente, alguns utentes deslocavam-se à farmácia para realizar a medicação após terem suspenso a terapêutica. Nessa situação específica, a maioria dos utentes apresentava valores de colesterol total descontrolados e bastante acima de 190 mg/dl. Nesses casos aconselhava o utente a retomar a terapêutica, ou se a suspensão tivesse sido realizada por ordem médica, aconselhava o utente a consultar o seu médico de família.

8. Preparação de medicamentos

A evolução na indústria farmacêutica levou a que o número de medicamentos fornecidos pela indústria nas suas diferentes formulações, dosagens e apresentações, reduzisse substancialmente o número de medicamentos manipulados preparados na FC. No entanto, por vezes existe ainda a necessidade de preparar medicamentos manipulados na FC, de formulações que a indústria ainda não disponibiliza.

De acordo com o anexo da portaria nº 594/2004, de 2 de junho [49], que aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar, um medicamento manipulado é “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” [49]. Por sua vez uma fórmula magistral, corresponde a um medicamento preparado na farmácia comunitária ou hospitalar segundo receita que especifica o doente a quem o medicamento se destina, enquanto um preparado oficial corresponde a um medicamento preparado segundo as indicações compendiais, de uma farmacopeia ou de um formulário, na farmácia comunitária ou hospitalar, destinado a ser dispensado diretamente aos doentes assistidos por essa farmácia [49,50]. Tendo em conta as definições apresentadas, o farmacêutico é o profissional de saúde responsável pela manipulação de medicamentos, ou seja, pelas operações de carácter técnico que englobam a elaboração da forma farmacêutica, a sua embalagem e o seu controlo [51].

Para a preparação de medicamentos manipulados apenas podem ser utilizadas matérias-primas inscritas na Farmacopeia Portuguesa, nas farmacopeias de outros Estados que fazem parte da Convenção Relativa à Elaboração de uma Farmacopeia Europeia, na Farmacopeia Europeia ou na documentação científica compendial e desde que nenhum medicamento que as contenha haja sido objeto de suspensão ou revogação da respetiva autorização de introdução no mercado [50]. Quando se adquire matérias-primas estas vêm acompanhadas de um boletim de análise que comprova que estas estão de acordo com a monografia da Farmacopeia em que estão inseridas.

A prescrição de medicamentos manipulados deverá ser efetuada em receita prescrita por via eletrónica, na qual deverá constar a indicação, através da sigla MM, que se trata de uma receita de medicamentos manipulados. Os medicamentos manipulados têm ainda de ser prescritos isoladamente, ou seja, a receita médica não poderá conter outros medicamentos [30].

No meu estágio curricular na FSC tive a oportunidade de logo na 2ª semana de estágio preparar, sob supervisão, um medicamento manipulado, um álcool boricado a 60 graus. Este medicamento manipulado é um dos que consta no anexo do despacho nº 18694/2010, de 18 de novembro [52] que estabelece as condições de comparticipação de medicamentos manipulados, cuja percentagem atualmente se cifra nos 30%, e aprova a respetiva lista. São desta forma alvo de comparticipação pelo SNS, de acordo com o artigo 1º desta deliberação, medicamentos manipulados que cumpram uma das seguintes condições: “a inexistência no

mercado de especialidade farmacêutica com igual substância ativa na forma farmacêutica pretendida; existência de lacuna terapêutica a nível dos medicamentos preparados industrialmente; a necessidade de adaptação de dosagens ou formas farmacêuticas às carências terapêuticas de populações específicas, como é o caso da pediatria ou da geriatria” [52].

O medicamento preparado, devido à atividade bacteriostática e fungistática do ácido bórico é utilizado para o tratamento tópico de otites externas e em certos casos em otites médias crónicas e no ouvido já submetido a cirurgia [53]. Para a sua preparação utilizei o laboratório e os equipamentos presentes na FSC, que possui o equipamento mínimo de existência obrigatória para as operações de preparação, acondicionamento e controlo de medicamentos manipulados, que consta no anexo da deliberação nº 1500/2004, de 7 de dezembro [54] e utilizei como fontes bibliográficas o Formulário Galénico Português (2007), a Farmacopeia Portuguesa IX (2008) e o livro de procedimentos para a preparação de medicamentos manipulados disponível na FSC. Comecei por preparar o álcool a 60°, partindo de álcool a 70° e de água purificada acondicionada em recipientes (não foi necessária utilizar outro tipo de água pois estava a preparar-se um produto não-estéril), utilizando para os cálculos a tabela de preparação de misturas de etanol e água com diferentes graduações da Farmacopeia Portuguesa IX. Coloquei o álcool preparado em banho de água termostaticado, pesei o ácido bórico e adicionei-o, em pequenas quantidades de cada vez, ao álcool a 60°, agitando fortemente após cada adição. Deixei a solução em repouso durante aproximadamente 1 hora, agitando-a a cada 15 minutos, filtrei-a e efetuei os ensaios de verificação do medicamento, nomeadamente as suas características organolépticas, tendo sido obtida uma solução límpida e incolor, a quantidade dispensada e a conformidade com a definição de preparações auriculares que consta da Farmacopeia portuguesa IX.

O acondicionamento da solução foi feito em frasco de vidro âmbar, constando no rótulo a identificação da farmácia e do seu Diretor Técnico, a morada e o contacto; a identificação do médico prescriptor e do doente; a denominação do medicamento, o seu teor em substância ativa e a quantidade dispensada; o número do lote, a data de preparação e o prazo de utilização; as condições de conservação, a via de administração e algumas advertências.

O cálculo do PVP já não foi feito por mim, no entanto, este seguiu os princípios que constam da portaria nº 769/2004, de 1 de julho, que estabelece o cálculo do PVP de medicamentos manipulados, ou seja, o cálculo do PVP do álcool boricado foi baseado na seguinte fórmula: $1,3 \times (\text{valor dos honorários} + \text{valor das matérias-primas} + \text{valor dos materiais de embalagem}) + \text{valor do IVA à taxa em vigor}$ [55].

Ao mesmo tempo que foi preparada o álcool boricado foi redigida a sua ficha de preparação, na qual consta a denominação do medicamento preparado, o número de lote (sendo que a cada medicamento preparado é atribuído um número de lote, tendo este sido o primeiro preparado na FSC no ano de 2015 e como tal foi-lhe atribuído o número de lote: 01/2015), as matérias-primas utilizadas, o procedimento utilizado, o material de embalagem utilizado, o prazo de utilização e as condições de conservação, os ensaios de verificação

realizados e a folha do cálculo do PVP. A ficha de preparação deste medicamento manipulado e de todos os outros preparados são guardados nas instalações da FSC durante um período mínimo de três anos.

Durante o meu estágio realizei a preparação de mais cinco medicamentos manipulados, por duas vezes a fórmula magistral: 5 g de ácido salicílico + clobetasol pomada 60 g + vaselina pomada qbp 100 g; por uma vez a fórmula magistral: 3 g de ácido salicílico + clobetasol pomada 30 g + vaselina pomada qbp 100 g; por uma vez o preparado oficial 10 g de ácido salicílico + vaselina pomada qbp 50 g e por uma vez o preparado oficial 5 g de ácido salicílico + vaselina pomada qbp 100 g. Em anexo (Anexo VI) encontra-se a ficha de preparação de uma das pomadas preparadas. De referir que nestes medicamentos manipulados efetuei todos os passos da sua preparação, inclusive o cálculo do PVP.

Não se tratando de medicamentos manipulados, mas requerendo também a intervenção do farmacêutico na sua preparação, os pós para suspensão oral, devido ao curto prazo de validade após a sua reconstituição, são apenas preparados no ato da dispensa. Logo no meu 2º dia de estágio pude observar a reconstituição em água destilada de uma suspensão de amoxicilina + ácido clavulânico, prescrita para uma criança. Na minha terceira semana de estágio tive eu próprio a possibilidade de pela primeira vez reconstituir em água destilada uma suspensão oral do mesmo medicamento, processo que voltei a efetuar sempre que dispensei um medicamento para o qual fosse necessário executar este procedimento. Para tal, inicialmente verificava se o selo da tampa estava intacto antes de abrir o frasco, em seguida agitava fortemente o frasco para soltar o pó e adicionava água até um pouco abaixo da marcação no rótulo do frasco, invertia e agitava o frasco. Por fim completava o frasco com água até à marcação e voltava a inverter e agitar o frasco, frisando junto do utente que antes de cada administração era necessário agitar a suspensão.

9. Contabilidade e Gestão

Para que seja possível a faturação às entidades participadoras dos medicamentos, durante cada atendimento de um MSRM participado é impresso no verso de cada receita, a seguinte informação, pela ordem apresentada, gerada pelo Sifarma 2000: identificação da FSC; data da dispensa; impressão do nome do medicamento em caracteres e código de barras; PVP de cada medicamento; valor da participação, pela entidade responsável, em cada medicamento; valor pago pelo utente, em cada medicamento; valor total da receita; valor total da participação, pela entidade responsável; valor total pago pelo utente; informação do exercício ao direito de opção para cada medicamento.

Como a faturação às entidades responsáveis se realiza mensalmente, consoante o plano de participação, o programa informático Sifarma 2000 atribui um número de série em cada mês e dentro de cada série vão-se formando lotes. Cada lote é constituído por 30 receitas médicas e a cada receita médica é então atribuído um número de um a trinta, em cada lote. Como já referi anteriormente eu e todos os restantes elementos da FSC, assim que possível, após a dispensa de cada medicamento conferíamos as receitas para em primeiro lugar verificar se o medicamento prescrito correspondia ao dispensado, e também a validade da receita, a assinatura pelo médico prescriptor, a aplicação do plano de participação correto e todas as restantes informações para que a receita fosse válida. Numa ocasião ao aperceber-me que dispensei um medicamento com a dosagem errada, alopurinol 100 mg, ao invés de alopurinol 300 mg como vinha na prescrição, contactei de imediato o utente o qual se deslocou à farmácia para se realizar a troca do medicamento. Na FSC no processo de verificação se alguém se aperceber de algum erro, por exemplo na validade da receita, contactasse telefonicamente o utente solicitando-lhe uma nova receita, para que a FSC seja ressarcida do valor da participação do medicamento dispensado ao utente, anulando-se a receita inválida na faturação.

De referir que com a introdução da receita eletrónica, como o sistema informático, fazia a validação da receita, alertando para o caso de receitas fora de validade e a opção de verificação permitia, ao ler o código CNPEM impresso na cartonagem, constatar que o medicamento dispensado correspondia ao prescrito, nas receitas registadas eletronicamente apenas verificava se estas se encontravam assinadas pelo utente e pelo médico prescriptor e de seguida, assinava, datava e carimbava cada receita com o carimbo da FSC.

Após a verificação das receitas pelo colaborador da FSC que efetuou a dispensa dos medicamentos, estas são separadas de acordo com o plano de participação e dentro deste o lote a que pertencem. Esta foi uma das tarefas que executei ao longo de todo o meu estágio, desde o primeiro dia. Na FSC após a separação das receitas estas são ainda reverificadas antes de ser impresso o verbete de identificação de lote, gerado pelo Sifarma 2000 e onde consta; nome e código da FSC; mês e ano; plano de participação a que pertence e respetivo número de lote; valor total do PVP dos medicamentos de cada lote; valor pago pelos utentes; valor a ser pago pela entidade responsável; para cada uma das

receitas do lote, o seu número e valor total do PVP dos medicamentos que a constituem, valor pago pelo utente e que será pago pela entidade responsável. No dia 5 de cada mês a Administração Central do Sistema de Saúde recolhe as receitas da FSC, cuja entidade responsável pelo valor da comparticipação dos medicamentos seja o SNS, para que estas sejam conferidas no CCF e a FSC seja ressarcida do valor dos medicamentos pago pelo SNS. A acompanhar as receitas e o respetivo verbete de identificação de lote, envia-se também o original e o duplicado da relação resumo de lotes de cada plano de comparticipação, o original, o duplicado e um triplicado da fatura, e o original e o duplicado da nota de crédito, quando no mês anterior vierem receitas devolvidas pelo CCF. Em todos estes documentos vai também o carimbo da FSC.

A relação resumo de lotes é onde consta resumidamente a informação de cada verbete de lote, nomeadamente além dos elementos identificativos da FSC e datas, o valor total do PVP dos medicamentos de cada lote, o valor pago pelo utente e o valor a ser pago pela entidade responsável. Já a fatura é onde consta os elementos identificativos da farmácia, número e data da fatura, e para cada plano de comparticipação, o valor total do PVP dos medicamentos, o valor pago pelo utente e o valor a ser pago pela entidade responsável. No final aparece a soma do valor total da comparticipação que tem de ser paga pela entidade responsável e o valor do IVA, uma vez que a venda de um medicamento pela farmácia tratando-se da transmissão de um bem, está sujeita ao pagamento do IVA correspondente.

Quando o CCF deteta erros ou diferenças, entre o valor da comparticipação que consta na fatura e o que entende dever ser pago pelo SNS é enviado para o CCF uma nota de crédito, onde se identifica o número e data da fatura a que diz respeito. As receitas que vêm devolvidas pelo CCF e nas quais existe possibilidade de correção são enviadas no mês seguinte. No mês de março efetuei a recolha de uma receita relativa ao mês de janeiro, devolvida pelo CCF e que após a devida retificação foi reenviada para que o valor da comparticipação fosse pago pela entidade responsável.

Uma cópia da fatura e outra da nota de crédito, quando aplicável, são também enviadas, através de envelope registado, para a Associação Nacional de Farmácia (ANF) para que o reembolso à FSC do valor da comparticipação dos medicamentos se efetue de forma célere, reembolsado depois o SNS a ANF.

Já para as restantes entidades responsáveis pelo valor da comparticipação dos medicamentos, que não o SNS, as receitas médicas, os verbetes de lote, o original e o duplicado da relação resumo de lotes, o original, duplicado e triplicado da fatura e o original e duplicado da nota de crédito, quando aplicável, são enviadas apenas para a ANF por correio registado, a qual faz o reembolso à FSC e reenvia estes documentos para a entidade responsável que depois faz o pagamento à ANF.

De referir que quer nos medicamentos cuja entidade responsável pela comparticipação é o SNS, quer nos que é outra entidade responsável, é enviado para a contabilidade da FSC uma cópia da relação resumo de lotes, da fatura e da eventual nota de crédito.

Tendo em conta que no momento da receção de cada encomenda se confere sempre os *stocks*, na FSC existe um inventário permanente, ou seja, em todo o momento se sabe a quantidade de todos os produtos que existem na farmácia. Quanto ao balancete, este é um documento de carácter contabilístico que se pode efetuar em qualquer altura do ano e permite avaliar a situação económica de qualquer farmácia, ou seja, a diferença entre o que lhe é devido (crédito concedido aos utentes, faturas ainda não liquidadas pelas entidades responsáveis pela comparticipação) e o que esta tem a regularizar, como as faturas ainda não liquidadas aos fornecedores.

Para efeitos de pagamento do IVA, os responsáveis pela contabilidade da FSC comunicam, às Finanças, as faturas registadas durante cada mês. A FSC, tal como qualquer outra farmácia tratando-se de uma empresa tem também de declarar, todos os anos, os seus rendimentos e despesas às Finanças, para que lhe seja aplicado o Imposto sobre o Rendimento de pessoas Coletivas (IRC) relativamente aos proveitos que registou no ano anterior. Já quanto ao Rendimento de pessoas singulares (IRS), para além deste ser aplicado em cada mês no vencimento de cada um dos colaboradores da FSC, as despesas efetuadas com medicamentos (IVA de 6%) e com outros produtos de saúde (IVA de 23%) são dedutíveis em sede de IRS, no preenchimento da declaração anual de IRS pelos utentes, desde que tenham optado por se colocar o seu número de contribuinte na fatura aquando do momento da venda, sendo que no caso de produtos com IVA a 23% apenas são dedutíveis nas despesas relativas à Saúde se for apresentada receita médica.

10. Conclusão

A realização deste estágio curricular permitiu-me estar em contacto com todas as tarefas que um farmacêutico tem de desempenhar numa FC, desde o aprovisionamento e armazenamento de medicamentos e outros produtos de saúde, a preparação de medicamentos manipulados, a prestação de serviços de promoção da saúde e bem-estar, a interação com os utentes, os aspetos de gestão e não menos importante a integração e aprendizagem com uma equipa de profissionais de saúde.

Ao longo destes mais de quatro meses pude aplicar todo o conhecimento técnico-científico que adquiri ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, em prol da sociedade e de cada utente de forma a promover a sua saúde e prevenir e tratar a doença. No entanto, para que no futuro seja um profissional de saúde à altura do que a sociedade espera de cada Farmacêutico, não poderei pensar que no fim deste curso já possuirei todo o conhecimento necessário, uma vez que como pude vislumbrar ao longo deste estágio, o conhecimento está em permanente evolução, sendo necessário mantê-lo atualizado para que esteja sempre à altura das necessidades de cada utente.

Ainda assim, por muito que seja o conhecimento técnico-científico de um Farmacêutico, este nunca poderá esquecer-se que para os utentes de uma FC retirarem benefício deste, o Farmacêutico deverá conseguir transmiti-lo com segurança e numa linguagem compreensível, para que possa ser aplicado na prática.

Em suma, com a experiência adquirida e o conhecimento que me foi transmitido pela equipa da FSC sinto que neste momento estou mais perto de ser um profissional de saúde capaz de cumprir as obrigações inerentes à minha futura profissão, como uma gestão racional de uma farmácia, nunca esquecendo que o principal objetivo é promover a saúde e bem-estar da população.

11. Referências bibliográficas

1. Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro. *Define os serviços farmacêuticos que podem ser prestados pelas farmácias*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
2. *Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária*. Ordem dos Farmacêuticos. Revisão n.º 3 de 2009.
3. *Farmácia e a Comunidade*. Associação Nacional das Farmácias. Disponível em: http://www.anf.pt/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=17&Itemid=98 Acedido a 2015-03-26.
4. *Farmácia Comunitária*. Ordem dos Farmacêuticos. Disponível em: http://www.ordemfarmaceuticos.pt/scid//ofWebInst_09/defaultCategoryViewOne.asp?categoryId=1909. Acedido a 2015-03-26.
5. Portaria n.º 277/2012, de 12 de setembro. *Define o horário padrão de funcionamento das farmácias de oficina, regula o procedimento de aprovação e a duração, execução, divulgação e fiscalização das escalas de turnos, bem como o valor máximo a cobrar pelas farmácias de turno pela dispensa de medicamentos não prescritos em receita médica do próprio dia ou do dia anterior*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
6. Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho. *Regulamentação das áreas mínimas das farmácias*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
7. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto. *Regime jurídico das farmácias de oficina*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
8. Deliberação n.º 414/CD/2007, de 29 de outubro. Actos sujeitos a publicação no site do INFARMED. INFARMED.
9. *Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde (CIMI)*. INFARMED. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/CONTACTOS/ATENDIMENTO_ESPECIALIZADO/CENTRO_DE_INFORMACAO. Acedido a 2015-03-29.
10. *Centro de Informação do Medicamento (CIM)*. Ordem dos Farmacêuticos. Disponível em: http://www.ordemfarmaceuticos.pt/scid//ofWebStd_1/defaultCategoryViewOne.asp?categoryId=2015. Acedido a 2015-03-29.
11. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto. *Estatuto do Medicamento*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
12. Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho. *Estabelece as regras a que devem obedecer a investigação, o fabrico, a comercialização, a entrada em serviço, a vigilância e a publicidade dos dispositivos médicos e respectivos acessórios*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
13. Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. *Regime jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.

14. Resumo das Características do Medicamento Ritalina LA®. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=32229&tipo_doc=rcm. Acedido a 2015-04-07.
15. Decreto-Lei nº112/2011, de 29 de novembro. *Regime da formação do preço dos medicamentos sujeitos a receita médica e dos medicamentos não sujeitos a receita médica comparticipados*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
16. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Disponível em: http://www.whocc.no/atc/structure_and_principles/. Acedido a 2015-04-10.
17. Despacho nº4742/2014, de 21 de março. Diário da República, II-Série. Nº65 de 2 de abril de 2014. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
18. Farmacopeia Portuguesa 9.0. Ministério da Saúde - INFARMED, Lisboa, 2008. Formato CD-ROM.
19. Resumo das Características do Medicamento Avamys®. Disponível em: <http://www.euroclinx.com.pt/images/product/bula-avamys.pdf>. Acedido a 2015-04-15.
20. Resumo das Características do Medicamento Daylette®. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=50851&tipo_doc=rcm. Acedido a 2015-04-15.
21. Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto. *Estabelece o regime da venda de medicamentos não sujeitos a receita médica fora das farmácias*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
22. Manual da Farmácia Hospitalar, 2005. Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar. Ministério da Saúde.
23. Decreto-Lei nº 288/2001, de 10 de novembro. *Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos*. Diário da República, I-Série-A. Nº 261 de 10 de novembro de 2001.
24. *Pharmacovigilance*. World Health Organization. Disponível em http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/safety_efficacy/pharmvigi/en/. Acedido a 2015-04-20.
25. *Farmacovigilância*. Infarmed. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PERGUNTAS_FREQUENTES/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/MUH_FARMACOVIGILANCIA. Acedido a 2015-04-20.
26. Decreto-Lei n.º128/2013, de 5 de setembro. Legislação Farmacêutica Compilada. Infarmed.
27. *Portal RAM*. Publicações temáticas. Infarmed. Disponível em http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/SAIBA_MAI_SOBRE/SAIBA_MAI_ARQUIVO/48_Portal_RAM.pdf. Acedido a 2015-04-21.
28. VALORMED, Sociedade Gestora de Resíduos e de Embalagens e Medicamentos, Lda. Disponível em <http://www.valormed.pt/pt/conteudos/conteudo/id/5>. Acedido a 2015-04-22.
29. Portaria nº 137-A/2012, de 11 de maio. *Estabelece o regime jurídico a que obedecem as regras de prescrição de medicamentos, os modelos de receita médica e as condições de*

- dispensa de medicamentos, bem como define as obrigações de informação a prestar aos utentes.* Legislação Farmacêutica Compilada. Infarmed.
30. *Normas relativas á prescrição de medicamentos e produtos de saúde.* Disponível em http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/PRESERCAO_DISPENSA_E_UTILIZACAO/Normas_prescricao.pdf. Acedido a 2015-04-24.
 31. Despacho n.º 15700/2012, de 30 de novembro. *Aprova os modelos de receita médica, no âmbito da regulamentação da Portaria n.º 137-A/2012, de 11 de maio.* Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
 32. Medicamentos Genéricos. INFARMED. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PERGUNTAS_FREQUENTES/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/MUH_MEDICAMENTOS_GENERICOS. Acedido a 2015-04-26.
 33. Despacho n.º 17690/2007, de 23 de julho. *Revoga o anexo ao despacho n.º 2245/2003, de 16 de janeiro - lista das situações de automedicação.* Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
 34. Despacho n.º 2245/2003, de 16 de janeiro. *Grupo de consenso sobre automedicação.* Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
 35. Deliberação nº 24/CD/2014, de 29 de outubro. *Aprova o Regulamento dos medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia.* Actos sujeitos a publicação no site do INFARMED. INFARMED.
 36. Decreto-Lei nº189/2008, de 24 de setembro. *Estabelece o regime jurídico dos produtos cosméticos e de higiene corporal.* Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
 37. *Produtos Cosméticos.* INFARMED. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/COSMETICOS>. Acedido 2015-04-30.
 38. Decreto-lei nº 216/2008, de 11 de novembro. Diário da República, I-Série. Nº 219 de 11 de novembro de 2008.
 39. Despacho nº 14319/2005, de 2 de junho. Diário da República, II-Série. Nº 123 de 29 de junho de 2005.
 40. *Produtos Dietéticos com Carácter Terapêutico.* Disponível em: <http://www.dgs.pt/pagina.aspx?back=1&mid=5005&codigono=651266676670AAAAAAAAAA>. Acedido a 2015-05-01.
 41. Decreto-lei nº 74/2010, de 21 de junho. Diário da República, I-Série. Nº 118 de 21 de junho de 2010.
 42. Nutrition, First Food First. World Health Organization. Disponível em http://www.who.int/nutrition/topics/world_breastfeeding_week/en/. Acedido a 2015-05-01
 43. Decreto-Lei nº 217/2008, de 11 de novembro. Diário da República, I-Série. Nº 219 de 11 de novembro de 2008.
 44. Portaria nº 207-E/2014, de 8 de outubro. Diário da República, I-Série. Nº 194 de 8 de outubro de 2014.

45. Decreto-Lei nº136/2003, de 28 de junho. Diário da República, I-Série-A. Nº 147 de 28 de junho de 2003.
46. Decreto-Lei nº 148/2008 de 29 de julho. Diário da República. I-Série. Nº 145 de 29 de julho de 2008.
47. Decreto-Lei nº 314/2009 de 28 de outubro. Diário da República. I-Série. Nº 209 de 28 de outubro de 2009.
48. *Dispositivos Médicos na Farmácia*. INFARMED. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/DISPOSITIVOS_MEDICOS/AQUISICAO_E_UTILIZACAO/DISPOSITIVOS_MEDICOS_FARMACIA. Acedido a 2015-05-04.
49. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. *Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
50. Decreto-Lei nº 95/2004, de 22 de abril. *Regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
51. Medicamentos Manipulados. INFARMED. Disponível em: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/MEDICAMENTOS_MANIPULADOS/manipulados.pdf. Acedido a 2015-05-05.
52. Despacho nº 18694/2010, de 18 de novembro. *Estabelece as condições de participação de medicamentos manipulados e aprova a respectiva lista*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
53. Formulário Galénico Português. Associação Nacional das Farmácias - CETMED, Lisboa, edição de 2007.
54. Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de dezembro. *Aprova a lista de equipamento mínimo de existência obrigatória para as operações de preparação, acondicionamento e controlo de medicamentos manipulados*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
55. Portaria nº 769/2004, de 1 de julho. *Estabelece que o cálculo do preço de venda ao público dos medicamentos manipulados por parte das farmácias é efectuado com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem*. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.

Anexo I - Margens máximas de comercialização de medicamentos sujeitos a receita médica (Decreto-Lei nº112/2011, de 29 de novembro. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.)

PVA	Margem máxima de comercialização	
	Grossita	Farmácia
≤5€	2,24% sobre o PVA + 0,25€	5,58% sobre o PVA + 0,63€
[5.01, 7] €	2,17% sobre o PVA + 0,52€	5,51% sobre o PVA + 1,31€
[7.01, 10] €	2,12% sobre o PVA + 0,71€	5,36% sobre o PVA + 1,79€
[10.01, 20] €	2,00% sobre o PVA + 1,12€	5,05% sobre o PVA + 2,80€
[20.01, 50] €	1,84% sobre o PVA + 2,20€	4,49% sobre o PVA + 5,32€
>50€	1,18% sobre o PVA + 3,68€	2,66% sobre o PVA + 8,28€

Anexo II - Receita médica prescrita por via eletrónica por mim processada durante o período de estágio


GOVERNO DE PORTUGAL MINISTÉRIO DA SAÚDE		Receita Médica Nº	
		* 2 0 1 1 0 0 0 0 1 5 9 8 1 8 7 1 9 0 2 *	
Utente Telefone: R.C.: Entidade Responsável: SNS Nº. de Beneficiário:		RN	
Especialidade: MEDICINA GERAL E FAMILIAR Telefone:		ACES DOVA BEIÇA CS COVILHA * 0 0 5 0 3 0 0 *	
R	DCI / Nome, dosagem, forma farmacéutica, embalagem,	N.º	Extensão
1	Beta-histina, 16 mg, Comprimido, Blister - 60 unidade(s)	1	Uma
Posologia: .		* 5 0 0 0 3 7 6 3 *	
2	Lorazepam, 1 mg, Comprimido, Blister - 30 unidade(s)	1	Uma
Posologia: .		* 5 0 0 1 1 9 2 8 *	
3			
4			
Validade: 30 dias Data: 2015-05-13		(Assinatura do Médico Prescritor)	

Processado por computador - Prescrição Eletrónica Médica - v2.0.0 - S.M.V.S. I.P.T.S.

Anexo III - Receita médica manual por mim processada durante o período de estágio.

Receita Médica N.º

GOVERNO DE PORTUGAL
Ministério da Saúde


8010000001994496000

Utente: N.º de Utente: Telefone: Entidade Responsável: SNS. N.º de Beneficiário:	RECEITA MANUAL Exceção legal: <input type="checkbox"/> a) Falência informática <input type="checkbox"/> b) Inadaptação do prescriptor <input type="checkbox"/> c) Prescrição no domicílio <input checked="" type="checkbox"/> d) Até 40 receitas/mês
R. C.: Especialidade: Medicina dentária. Telefone:	Vinheta do Local de Prescrição
R. DCI/Nome, dosagem, forma farmacêutica, embalagem	
1 Amoxicilina + Ac. clavulânico (875mg + 125mg) comp, 16	N.º 1 Extensão um
Posologia 1 comp de 12 em 12 horas depois da comida durante 8 dias	
2 Posologia	
3 Posologia	
4 Posologia	
Validade: 30 dias Data: 2015/05/11 <small>(aaaa/mm/aa)</small>	(Assinatura do Médico prescriptor)

Modelo n.º 1006 (Decreto de INCM, S. A.) - 2010

Anexo IV - Regimes especiais de comparticipação de acordo com a patologia apresentada (Disponível em:

http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/AVALIACAO_ECONOMICA_E_COMPARTICIPACAO/MEDICAMENTOS_USO_AMBULATORIO/MEDICAMENTOS_COMPARTICIPADOS/Dispensa_exclusiva_em_Farmacia_Oficina. Acedido a 2015-04-26)

Patologia Especial	Âmbito	Comparticipação	Legislação
PARAMILOIDOSE	Todos os medicamentos	100%	Despacho n.º 4 521/2001 (2ª série), de 31/1/2001
LÚPUS	Medicamentos comparticipados	100%	Despacho n.º 11 387-A/2003 (2ª Série), de 23/5
HEMOFILIA	Medicamentos comparticipados	100%	Despacho n.º 11 387-A/2003 (2ª Série), de 23/5
HEMOGLOBINOPATIAS	Medicamentos comparticipados	100%	Despacho n.º 11 387-A/2003 (2ª Série), de 23/5
DOENÇA DE ALZHEIMER	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 13020/2011 (2ª série), de 20 de setembro	37% (quando prescrito por neurologistas ou psiquiatras)	Despacho n.º 13020/2011, de 20/09
PSICOSE MANIACO-DEPRESSIVA	Priadel (carbonato de lítio)	100%	Despacho n.º 21 094/99, de 14/9
DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 1234/2007 (2ª série), de 29 de dezembro de 2006	90% (quando prescrito por médico especialista)	Despacho n.º 1234/2007, de 29/12/2006, alterado pelo Despacho n.º 19734/2008, de 15/07, Despacho n.º 15442/2009, de 01/07, Despacho n.º 19696/2009, de 20/08, Despacho n.º 5822/2011, de 25/03 e Despacho n.º 8344/2012, de 12/06
ARTRITE REUMATÓIDE E ESPONDILITE ANQUILOSANTE	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 14123/2009 (2ª série), de 12 de junho	69%	Despacho n.º 14123/2009 (2ª série), de 12/06, alterado pelo Despacho n.º 12650/2012, de 20/09
DOR ONCOLÓGICA MODERADA A FORTE	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 10279/2008 (2ª série), de 11 de março de 2008	90%	Despacho n.º 10279/2008, de 11/03, alterado pelo Despacho n.º 22186/2008, de 19/08, Despacho n.º 30995/2008, de 21/11, Despacho n.º 3285/2009, de 19/01, Despacho n.º 6229/2009 de 17/02, Despacho n.º 12221/2009 de 14/05, Declaração de

			Rectificação n.º 1856/2009, de 23/07, Despacho n.º 5725/2010 de 18/03, Despacho n.º 12457/2010 de 22/07 e Despacho n.º 5824/2011 de 25/03 e Despacho n.º 57/2014 de 19/12/2013
DOR CRÓNICA NÃO ONCOLÓGICA MODERADA A FORTE	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 10280/2008 (2ª série), de 11 de março de 2008	90%	Despacho n.º 10280/2008, de 11/03, alterado pelo Despacho n.º 22187/2008, de 19/08, Despacho n.º 30993/2008, de 21/11, Despacho n.º 3286/2009, de 19/01 e Despacho n.º 6230/2009, de 17/02, Despacho n.º 12220/2009, de 14/05, Despacho n.º 5726/2010 de 18/03, Despacho n.º 12458/2010 de 22/07, Despacho n.º 5825/2011 de 25/03 e Despacho n.º 251/2014 de 23/12/2013
PROCRIAÇÃO MEDICAMENTE ASSISTIDA	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 10910/2009, de 22 de abril	69%	Despacho n.º 10910/2009, de 22/04 alterado pela Declaração de Rectificação n.º 1227/2009, de 30/04, Despacho n.º 15443/2009, de 01/07, Despacho n.º 5643/2010, de 23/03, Despacho n.º 8905/2010, de 18/05, Despacho n.º 13796/2012, de 12/10 e Despacho n.º 56/2014, de 19/12/2013
PSORÍASE	Lista de medicamentos para a psoríase	90%	Lei n.º 6/2010, de 07/05
ICTIOSE	Medicamentos referidos nos números 13.3.1, 13.3.2 - Medicamentos queratolíticos e antipsoriáticos - e 13.4.2.2 - Medicamentos usados em afeções cutâneas - do Grupo 13 do Escalão C da tabela anexa à Portaria n.º 78/2014, de 3 de abril	90 %	Despacho n.º 5635-A/2014, de 24/04

Anexo V - Impressão de verso da receita, por mim registada eletronicamente, para faturação às entidades responsáveis.

FARMACIA SAO COSME - Covilhã
Dir. Téc.: Dr. Carlos Alberto Gama Tavares
Reg. C.R.C. 1975/ 19940408



DOCUMENTO PARA FACTURACAO
99x - R/L/S:6/30/2
Rec.: 201000015961071902
Ben.:



R02Kn79FN1q1 - VENDA - 199132 (1063) 14/05/15

Prod	PVP	PRef	Qt	Comp	Utente
------	-----	------	----	------	--------



1) *5410493*						- Beta-histina Bluepharma MG, 16 mg x 6
	4,17	3,73	1	1,38	2,79	



2) *0275404*						- Lorenin, 1 mg x 30 comp
	2,45	1,57	1	0,58	1,87	

T:	6,62		2	1,96	4,66	
----	------	--	---	------	------	--

Declaro que: Me foram dispensadas as 2 embalagens de medicamentos constantes na receita e prestados os conselhos sobre a sua utilização.

Direito de Opção:

1,2 Exerci o direito de opção para o medicamento com preço superior ao 5.º preço mais barato.

Ass. do Utente _____

Anexo VI - Exemplo de ficha de preparação de medicamento manipulado.



Farmácia São Coema

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Medicamento: ácido salicílico 5g + clbetarol pomada 60g + vaselina pomada qly. 100g

Teor em substância(s) activa(s): 100 g (ml ou unidades) contém 5+30_{mg} g (ml) de ácido salicílico + clbetarol

Forma farmacêutica: pomada propriamente dita

Data de preparação: 24-4-15

Número do lote: 03/15

Quantidade a preparar: 100g

Matérias-primas	Lote n.º	Origem	Farmacopeia	Quantidade para 100 g (ou ml, ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do Operador e data	Rubrica do Supervisor e data
ácido salicílico	RAS 1219900	LABCHEM		5g	5g	5,023g	Alexandra Marques 24-4-15	f. 24.4.15
dermopate pomada	C714716	GlaxoSmithKline		60g	60g	57,396g	Alexandra Marques 24-4-15	f. 24.4.15
vaselina pomada	V5142730	Alifan		35g	35g	37,57g	Alexandra Marques 24-4-15	f. 24.4.15

Preparação	Rubrica do Operador
1. <u>Técnica de manipulação 04</u>	Alexandra Marques
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	

Embalagem

Tipo de embalagem: Unguator recipiente

Capacidade do recipiente: 100-140 ml

Material de embalagem	N.º do lote	Origem
<u>Unguator recipiente</u>		<u>Plural</u>

Operador: Alexandra Marques



Farmécia São Cosme

Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Prazo de utilização e Condições de conservação

Condições de conservação: <i>Conservar à temperatura ambiente em recipiente bem fechado</i>	Operador: <i>Alexandre Marques</i>
Prazo de utilização: <i>30 dias (24 de Maio de 2015)</i>	Operador: <i>Alexandre Marques</i>

Verificação

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do Operador
<i>Características organolépticas</i>	<i>uniforme; aspecto homogêneo Cor branca</i>	<i>Conforme</i>	<i>Alexandre Marques</i>
<i>Quantidade</i>	<i>100 ± 5g</i>	<i>98,440 g Conforme</i>	<i>Alexandre Marques</i>

Aprovado Rejeitado

Supervisor: *p.* 24/4/15

Nome, morada e telefone do doente

Nome do prescriptor

Anotações

Cálculo do preço de venda

MATÉRIAS-PRIMAS:

matérias-primas	embalagem existente em armazém		preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/IVA)		quantidade a usar	factor multiplicativo	valor da matéria-prima utilizada na preparação	
	quantidade adquirida	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade unitária	preço				
dióxido de titânio			1	3,42	x 2	x	= 6,84	
ácido salicílico	100g	2,78	1	0,0278	x 5g	x 2,2	= 0,3058	
paralidina sólida	1000g	6,25	1	0,00625	x 35g	x 1,9	= 0,415625	
					x	x	=	
					x	x	=	
subtotal A								7,56

HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:

	forma farmacêutica	quantidade	F (€)	factor multiplicativo	valor
valor referente à quantidade base	tomada propriamente dita	100g	4,57	x 3	= 13,71
valor adicional			x	x	=
subtotal B					13,71

MATERIAL DE EMBALAGEM:

materiais de embalagem	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade	factor multiplicativo	valor
Uniquator 100-140	1,24	x 1	x 1,2	= 1,488
		x	x 1,2	=
subtotal C				1,49

PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:

(A + B + C) x 1,3 = 29,59
 + IVA = 1,77
 D = 31,36

DISPOSITIVOS AUXILIARES DE ADMINISTRAÇÃO:

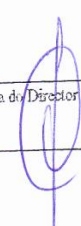
dispositivo	preço unitário	quantidade	valor

E = 0

PREÇO FINAL: D + E = 31,36

Operador: Alexandre Marques

Supervisor: Am. Faran.

Rubrica do Director Técnico  Data
 24/4/15