

## **Estabilização / Proteção de RNAs**

### **Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia Comunitária, Farmácia Hospitalar e Investigação**

Versão Final após defesa

**Ana Bárbara Costa Lopes Pais**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Ciências Farmacêuticas**  
(Mestrado Integrado)

Orientador: Professora Doutora Fani Pereira de Sousa

**Novembro 2022**

**Folha em branco**

## **Declaração de Integridade**

Eu, Ana Bárbara Costa Lopes Pais, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 40161 de/o Ciências Farmacêuticas da Faculdade Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

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

Universidade da Beira Interior, Covilhã 29 / 11 / 2022

*Ana Bárbara Costa Lopes Pais*

(assinatura conforme Cartão de Cidadão ou preferencialmente assinatura digital no documento original se naquele mesmo formato)

**Folha em branco**

# Dedicatória

À minha avó Hortência que me tem acompanhado  
os últimos dois anos, enquanto estrela guia.

**Folha em branco**

# Agradecimentos

Após cinco árduos anos na Covilhã existem alguns agradecimentos que não posso deixar de fazer.

Primeiramente, quero agradecer aos meus pais por serem sempre o meu porto de abrigo e por me terem permitido iniciar e terminar este curso. Esta conquista não é só minha, mas também deles, não poderia estar aqui hoje a terminar o curso de Ciências Farmacêuticas sem eles. Agradecer à minha irmã, Joana, por me ter apoiado sempre que foi necessário e me permitir estagiar numa cidade diferente, que tanto gosto. Aos meus avós, avó Celeste, avô Orlando, avô Manel por sempre me mimarem e tornarem os meus domingos mais acolhedores, e ainda, à minha avó Hortência, que apesar de já não estar entre nós, foi sempre um pilar para mim. À restante minha família Tia Guida, João Loureiro, Tio Rui, Katy, Tio Manel, Kika e João o meu muito obrigada pela companhia, carinho e atenção que me têm dado nos últimos anos.

À minha melhor amiga, irmã, companheira de casa, Beatriz Rodrigues que me acompanha desde o 10<sup>o</sup> ano em tudo e que está sempre presente em todos os momentos quer sejam bons ou maus. Às restantes amigas, principalmente à Joana e Mariana por se terem cruzado na minha vida e ajudado nesta jornada de 5 anos na Covilhã.

À minha orientadora, professora Fani Sousa, por me ter acolhido fora de horas e me ter acompanhado tão bem neste trabalho de investigação, sempre disponível para me ajudar. À Ana Ferro, por se deslocar ao CICS de propósito, apenas para me acompanhar e orientar o trabalho a nível laboratorial, tornando-se em alguém muito importante para mim. Ao restante grupo de investigação que sempre me auxiliou quando foi necessário.

Aos meus orientadores de estágio, Dr.<sup>a</sup> Filomena Almeida e Dr. Jorge Aperta e restantes equipas por me acolherem tão bem e me proporcionarem estágios de qualidade.

Por fim, mas não menos importante, quero agradecer do fundo do coração à pessoa que mais me acompanhou nesta jornada, que me motivou sempre que necessário, que partilhou diversas vezes a viagem à Covilhã só para estar comigo e que me fez gerir da melhor forma as minhas tarefas apoiando-me sempre que preciso. Ao meu namorado, Jorge.

**Folha em branco**

# Resumo

O presente relatório encontra-se inserido na Unidade Curricular “Estágio” do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, sendo composto por três capítulos referentes à minha experiência profissionalizante em vertente de Farmácia Comunitária, Farmácia Hospitalar e Investigação.

O capítulo I é referente à minha experiência de estágio curricular em Farmácia Comunitária que decorreu entre os dias 7 de fevereiro e o 29 de maio de 2022 na Farmácia Ferreira da Silva no Porto. Este estágio foi orientado pela Dr<sup>a</sup>. Filomena Almeida, Farmacêutica Adjunta.

O capítulo II diz respeito à experiência em Farmácia Hospitalar, em contexto de estágio curricular, tendo decorrido entre o dia 9 de maio a 17 de junho de 2022 nos Serviços Farmacêuticos do Hospital Sousa Martins, pertencente à Unidade Local de Saúde da Guarda, tendo sido orientado pelo Dr. Jorge Aperta, diretor técnico do serviço.

Por fim, o capítulo III é intitulado de Proteção/ Estabilização de RNAs, trabalho este, orientado pela Professora Doutora Fani Pereira de Sousa. Os biofármacos baseados em RNA eram, até recentemente, um assunto pouco abordado e pouco investigado, uma vez que o foco se encontrava noutro tipo de moléculas com atividade terapêutica. O contexto destes fármacos alterou-se com o início da pandemia COVID-19 com o surgimento das vacinas de mRNA associadas ao combate da doença. No entanto, durante o estabelecimento deste tipo de vacinas e biofármacos, existiu sempre a problemática associada à sua conservação em temperaturas muito baixas. Foi também evidenciada a impossibilidade de alguns estabelecimentos de saúde ou até mesmo países menos desenvolvidos, adquirirem equipamentos capazes de armazenar este tipo de medicamentos. Perante esta problemática, foi objetivo deste trabalho testar alguns excipientes como o cloreto de colina, aminoácidos (arginina, metionina, cisteína, alanina, fenilalanina, triptofano, tirosina, glicina) e por fim, solventes eutéticos profundos (DES), combinando o cloreto de colina com os aminoácidos referidos anteriormente, excipientes estes com evidência científica de estabilização e/ou proteção de biofármacos, de forma otimizar as condições de armazenamento deste tipo de moléculas à temperatura ambiente.

## **Palavras-chave**

RNA; Estabilidade; Proteção; Biofármacos; DES; Aminoácidos; Cloreto de Colina;  
Farmácia Comunitária; Farmácia Hospitalar

**Folha em branco**

# Abstract

This report is part of the Curricular Unit “Internship” of the Integrated Master in Pharmaceutical Sciences, consisting of three chapters referring to my professional experience in Community Pharmacy, Hospital Pharmacy and Research.

Chapter I refers my internship experience in Community Pharmacy that took place between February 7<sup>th</sup> and May 29<sup>th</sup> of 2022, at Farmácia Ferreira da Silva in Porto. This internship was supervised by Dr. Filomena Almeida, Assistant Pharmacist.

Chapter II concerns the experience in Hospital Pharmacy, in the context of a curricular internship, which took place between May 9<sup>th</sup> and June 17<sup>th</sup> of 2022, at the Pharmaceutical Services of Hospital Sousa Martins, belonging to the Local Health Unit of Guarda, supervised by Dr. Jorge Aperta, technical director.

Finally, chapter III is entitled Protection / Stabilization of RNAs, supervised by Professor Fani Pereira de Sousa. RNA based biopharmaceuticals were, until recently, a subject little approached and investigated, once therapeutic focus was mainly directed towards other molecules. The context of these medicines has changed with the beginning of COVID-19 pandemic and with the development of mRNA vaccines to fight against this disease. However, during the vaccine establishment, it was always present a major concern regarding the vaccines preservation, due to the need for very low temperatures. This problem is even more impactful when considering some healthcare institutions or underdeveloped countries which do not have access the required. Faced with this problem, the objective of this work was to test some excipients such as choline chloride, amino acids (arginine, methionine, cysteine, alanine, phenylalanine, tryptophan, tyrosine, glycine) and finally, deep eutectic solvents (DES), combining chloride of choline with the amino acids previously mentioned. excipients with scientific evidence of stabilization and/or protection of RNAs, to optimize the storage conditions of this type of presentation at room temperature.

## Keywords

RNA; Stability; Protection; Agarose Gel Electrophoresis; DES; Amino acid; Choline Chloride; Community Pharmacy; Hospital Pharmacy



**Folha em branco**

# Índice

<b>Lista de Figuras.....</b>	<b>xx</b>
<b>Lista de Tabelas.....</b>	<b>xxiii</b>
<b>Lista de Acrónimos.....</b>	<b>xxv</b>
<b>Capítulo I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária .....</b>	<b>1</b>
1. Introdução .....	1
1.1. Farmácia Ferreira da Silva .....	1
2. Aprovisionamento e Armazenamento .....	3
2.1. Fornecedores e Realização de Encomendas .....	3
2.2. Receção de Encomendas .....	4
2.3. Devoluções .....	5
2.4. Armazenamento .....	5
3. Atendimento e Dispensa de Medicamentos .....	7
3.1. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica .....	7
3.2. Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos .....	9
3.3. Regimes de Participação e Complementaridade .....	11
3.4. Dispensa de medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica .....	12
4. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde .....	13
4.1. Produtos Dietéticos Infantis e Nutrição Clínica .....	13
4.2. Suplementos e produtos à base de plantas .....	14
4.3. Produtos de Dermofarmácia .....	14
4.4. Medicamentos de uso Veterinário .....	15
4.5. Dispositivos Médicos .....	16
5. Medicamentos Manipulados .....	18
6. Outros serviços prestados na Farmácia .....	20

7.	<i>Valormed</i> .....	22
8.	<i>Receituário e Faturação</i> .....	23
9.	<i>Conclusão</i> .....	24
10.	<i>Referências Bibliográficas</i> .....	25
<b>Capítulo II: Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar</b> .....		<b>27</b>
1.	<i>Introdução</i> .....	27
1.1.	<i>Hospital Sousa Martins - Unidade Local de Saúde (ULS) da Guarda E.P.E.</i>	28
2.	<i>Organização dos serviços farmacêuticos</i> .....	28
2.1.	<i>Seleção de medicamentos</i> .....	29
2.2.	<i>Armazenamento</i> .....	31
2.3.	<i>Controlo de Stocks e Prazos da Validade</i> .....	32
3.	<i>Distribuição de medicamentos</i> .....	33
3.1.	<i>Sistema Tradicional</i> .....	33
3.2.	<i>Distribuição Individual Diária em Dose Unitária</i> .....	33
4.	<i>Dispensa de medicação exclusiva hospitalar a doentes em ambulatório</i> .....	35
5.	<i>Medicamentos sujeitos a controlo especial</i> .....	36
5.1.	<i>Estupefacientes, psicotrópicos</i> .....	36
5.2.	<i>Hemoderivados</i> .....	37
6.	<i>Farmacotecnia</i> .....	39
6.1.	<i>Preparação de citotóxicos</i> .....	39
6.2.	<i>Preparação de formas farmacêuticas não estéreis</i> .....	40
6.3.	<i>Reembalagem e rotulagem em dose unitária</i> .....	41
7.	<i>Farmácia Clínica</i> .....	42
7.1.	<i>Participação do Farmacêutico em Comissões Técnicas do Hospital</i> .....	42
7.2.	<i>Farmacovigilância</i> .....	43
7.3.	<i>Farmacocinética Clínica</i> .....	43

8.	<i>Ensaio Clínico</i> .....	45
9.	<i>Conclusão</i> .....	46
10.	<i>Referências Bibliográficas</i> .....	47
	<b>Capítulo III: Estabilização / Proteção de RNAs</b> .....	<b>49</b>
1.	<i>Introdução</i> .....	49
1.1.	<i>Biofármacos</i> .....	49
1.2.	Diferenças perante os fármacos de síntese química.....	49
1.3.	<i>Ácidos nucleicos como biofármacos</i> .....	50
1.4.	RNA.....	50
1.5.	<i>Mecanismos de Instabilidade</i> .....	52
1.5.1.	Instabilidade Física.....	52
1.5.2.	Instabilidade Química .....	53
1.6.	<i>Formulação de medicamentos biológicos</i> .....	55
1.6.1.	Excipientes utilizados em formulações de biofármacos.....	55
1.6.1.1.	Agentes tampão .....	55
1.6.1.2.	Aminoácidos .....	56
1.6.1.3.	Osmólitos .....	57
1.6.1.4.	Açúcares.....	57
1.6.1.5.	Polímeros .....	58
1.6.1.6.	Sais.....	58
1.6.1.7.	Surfactantes .....	59
1.6.1.9.	Conservantes.....	60
1.6.1.10.	Polióis .....	60
1.7.	<i>Formas alternativas de estabilização</i> .....	60
1.7.1.	Líquidos Iônicos.....	60
1.7.2.	Solventes Eutéticos (DES) .....	62
2.	<i>Objetivo do trabalho</i> .....	64
3.	<i>Materiais e Métodos</i> .....	64
3.1.	<i>Materiais</i> .....	65
3.2.	<i>Métodos</i> .....	65
3.2.1.	Produção de RNA de baixo peso molecular.....	65

3.2.2.	Ensaio de estabilidade e Proteção .....	67
4.	<i>Resultados e Discussão</i> .....	70
4.1.	<i>Estabilização e proteção de RNA</i> .....	70
4.1.1.	Influência do Cloreto de Colina na Estabilização/Proteção do RNA de baixo peso molecular na presença de RNase .....	72
4.1.2.	Influência de Aminoácidos livres na Estabilização/Proteção do RNA de baixo peso molecular na presença de RNase .....	74
4.1.3.	Influência dos DES na Estabilização/Proteção do RNA de baixo peso molecular na presença de RNase .....	78
5.	<i>Conclusão e Perspectivas Futuras</i> .....	83
6.	<i>Referências Bibliográficas</i> .....	84
	<b>Anexos</b> .....	<b>88</b>

**Folha em branco**

## ***Lista de Figuras***

Figura 1-Plano de estágio no HSM- ULS Guarda.....	27
Figura 2- Exemplo de folha de prescrição terapêutica recebida pelos SF por parte da UCIP do HSM- ULS Guarda.....	34
Figura 3- Principais diferenças químicas e estruturais entre os polímeros de DNA e RNA. ....	51
Figura 4- Estrutura química dos aminoácidos utilizados e do cloreto de colina.....	69
<i>Figura 5- Estudo 1:Estabilização/proteção de RNA com o uso de ChCl 4 mM. ....</i>	<i>72</i>
<i>Figura 6- Estudo 2: Estabilização/proteção de RNA com o uso de Arginina livre a 4 mM. ....</i>	<i>75</i>
<i>Figura 7- Estudo 2: Estabilização/proteção de RNA com o uso de Metionina livre a 4 mM ....</i>	<i>76</i>
Figura 8- Estudo 3: Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Met) a 4 mM: .....	79
<i>Figura 9 -Estudo 3: Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Tyr) a 4 mM .....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 10- Estudo 3: Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Cys) a 4 mM .....</i>	<i>81</i>
Figura 11- Lista de regimes excepcionais de comparticipação em contexto de farmácia comunitária. ....	89
Figura 12- Lista de situações passivas de automedicação.....	90
Figura 13- Trabalho desenvolvido enquanto estagiária na FFS, para posterior formação. ....	98
Figura 14- Trabalho desenvolvido enquanto estagiária na FFS.....	105

Figura 15- Lista de patologias crónicas e respetivos diplomas para dispensa de medicamentos em regime de ambulatório. ....	108
Figura 16- CAUL de imunoglobulina G humana. ....	109
Figura 17- Trabalho desenvolvido enquanto estagiária para apresentação aos farmacêuticos do SF do HSM. ....	112
<i>Figura 18- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Glicina livre a 4 mM. ....</i>	<i>113</i>
<i>Figura 19- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Tirosina livre a 4 mM. ....</i>	<i>114</i>
<i>Figura 20- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Triptofano livre a 4 mM... 114</i>	<i>114</i>
<i>Figura 21- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Alanina livre a 4 mM. ....</i>	<i>115</i>
<i>Figura 22- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Cisteína livre a 4 mM ....</i>	<i>115</i>
<i>Figura 23- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Fenilalanina livre a 4 mM. ....</i>	<i>116</i>
<i>Figura 24- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Ala) a 4 mM ...</i>	<i>116</i>
<i>Figura 25 Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Arg) a 4 mM ....</i>	<i>117</i>
<i>Figura 26- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Trp) a 4 mM ...</i>	<i>118</i>
<i>Figura 27- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Gly) a 4 mM ...</i>	<i>119</i>
<i>Figura 28- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Ala) a 4 mM ..</i>	<i>120</i>

**Folha em branco**

## ***Lista de Tabelas***

Tabela 1- Valores utilizados no HSM para a monitorização farmacocinética. ....	44
Tabela 2- Parâmetros implicados na instabilidade física de formulações farmacêuticas. .....	53
Tabela 3- Parâmetros implicados na instabilidade química de formulações farmacêuticas. ....	54
Tabela 4- Agentes tampão utilizados em formulações de biológicos (adaptado de [21]). .....	56
Tabela 5- Exemplos de aminoácidos utilizados em formulações de biofármacos.....	57
Tabela 6- Excipientes utilizados no estudo 1: Cloreto de Colina.....	67
Tabela 7- Excipientes utilizados no estudo 2: Aminoácidos Livres.....	68
Tabela 8- Excipientes utilizados no estudo 3: DES. ....	68

**Folha em branco**

## ***Lista de Acrónimos***

<b>AIM</b>	Autorização De Introdução No Mercado
<b>AO</b>	Assistente Operacional
<b>Asn</b>	Asparagina
<b>Asp</b>	Aspartato
<b>AUC</b>	Área Sob A Curva
<b>AUE</b>	Autorização De Utilização Excepcional
<b>BZD</b>	Benzodiazepina
<b>CAUL</b>	Certificado De Autorização De Utilização De Lote
<b>CFLV</b>	Câmara De Fluxo Laminar Vertical
<b>CFT</b>	Comissão De Farmácia E Terapêutica
<b>[Ch][HEPES]</b>	Hidróxido De Colina 2- (N Morfolino) Ácido Etanossulfônico
<b>[Ch][MES]</b>	Hidróxido De Colina 2- [4-(2-Hidroietil) Piperazinil] Etanossulfônico Ácido
<b>CIM</b>	Concentração Mínima Inibitória
<b>DCI</b>	Denominação Comum Internacional
<b>DEPC</b>	Dicarbonato De Dietila
<b>DES</b>	<i>Deep Eutectic Solvent</i>
<b>DIDDU</b>	Distribuição Individual Diária em Dose Unitária
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>DO</b>	Densidade Ótica
<b>DT</b>	Diretor Técnico
<b>EDTA</b>	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
<b>EMA</b>	Agência Europeia De Medicamentos
<b>FDA</b>	<i>Food And Drug Administration</i>
<b>FEFO</b>	<i>First Expire- First Out</i>
<b>FFS</b>	Farmácia Ferreira Da Silva
<b>FHNM</b>	Formulário Hospitalar Nacional De Medicamentos
<b>FIFO</b>	<i>First In- First Out</i>
<b>HBA</b>	<i>Hydrogen Bond Acceptor</i>
<b>HBD</b>	<i>Hydrogen Bond Donor</i>
<b>HEPA</b>	High Efficiency Particulate Air
<b>HSM</b>	Hospital Sousa Martins
<b>LASA</b>	Look Alike- Sound Alike
<b>LB</b>	Luria-Bertuni

<b>LI</b>	Líquido Iônico
<b>MEP</b>	Medicamento Estupefaciente E Psicotrópico
<b>MICF</b>	Mestrado Integrado Em Ciências Farmacêuticas
<b>MNSRM</b>	Medicamento Não Sujeito A Receita Médica
<b>MSRM</b>	Medicamento Sujeito a Receita Médica
<b>OMS</b>	Organização Mundial De Saúde
<b>OTC</b>	<i>Over The Counter</i>
<b>PBS</b>	Solução De Tampão Fosfato
<b>PEG</b>	Polietilenoglicol
<b>PSs</b>	Polissorbatos
<b>RAM</b>	Reação Adversa a Medicamentos
<b>RED</b>	Receita Eletrónica Desmaterializada
<b>REM</b>	Receita Eletrónica Materializada
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico
<b>RPM</b>	Rotações Por Minuto
<b>SF</b>	Serviços Farmacêuticos
<b>SNF</b>	Sistema Nacional De Farmacovigilância
<b>SNS</b>	Sistema Nacional De Saúde
<b>TAE</b>	Tris-Acetate-EDTA
<b>TB</b>	Terrific Broth
<b>TMAO</b>	N-Óxido De Trimetilamina
<b>TSDT</b>	Técnico Superior De Diagnóstico E Terapêutica
<b>UCSP</b>	Unidade De Cuidados De Saúde Personalizados
<b>UPC</b>	Unidade De Produção De Citotóxicos
<b>URF</b>	Unidade Regional De Farmacovigilância
<b>USF</b>	Unidade De Saúde Familiar
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>mRNA</b>	RNA mensageiro

**Folha em branco**



# ***Capítulo I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária***

## **1. Introdução**

A Farmácia Comunitária é uma das saídas profissionais que mais emprega Farmacêuticos em Portugal. O papel que estes Farmacêuticos desempenham tem uma importância de grande dimensão na sociedade, uma vez que é neste local que os utentes se sentem mais acolhidos. Assim sendo, é de enorme importância que os estudantes finalistas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) tenham a oportunidade de experienciar a sua futura profissão em contexto de Farmácia Comunitária, e assim perceber a importância da sua profissão.

O relatório que vos apresento, irá descrever a experiência que me foi proporcionada pela Farmácia Ferreira da Silva (FFS), entre o dia 7 de fevereiro e o 29 de maio de 2022, situada no distrito do Porto, concelho de Matosinhos.

### **1.1. Farmácia Ferreira da Silva**

A FFS está situada no Norteshopping loja 140, 4460-996 Senhora da Hora em Matosinhos. Esta é uma farmácia de grandes dimensões, contando em média, com 800 atendimentos diários. Sendo uma farmácia localizada num centro comercial, encontra-se aberta de segunda a domingo das 10 horas até às 23 horas, cumprindo assim com o descrito na portaria nº 277/2012 de 12 de setembro com alterações introduzidas pela portaria nº 14/2013 de 11 de janeiro [1].

A proprietária da Farmácia é a Dr.<sup>a</sup> Maria Margarida Carvalhais Teixeira de Azevedo, e a diretora técnica, a Dr.<sup>a</sup> Susana Pinto Coelho Moreira Nascimento Guimarães e Matos, ambas licenciadas em Farmácia.

A FFS é uma farmácia diferenciadora, possui entregas ao domicílio de medicamentos sujeitos e não sujeitos a receita médica assim como outros produtos vendidos na farmácia, por imposição legal (DL 307/2007 [2] ) apenas é possível fazer esta entrega para os concelhos do Porto, Matosinhos, Maia e Vila do Conde. Possui um site (<https://farmaciaferreiradasilva.pt/>) onde é possível fazer a dispensa de receitas

eletrónicas, sendo que a farmácia está autorizada pelo INFARMED IP a dispensar medicamentos através da internet.

Em relação aos recursos humanos, a farmácia conta com 19 farmacêuticos, entre eles a proprietária, a Diretora técnica, 3 Farmacêuticas adjuntas e 1 farmacêutica responsável pela formação da equipa. Possui também nos seus quadros 3 técnicos de farmácia, 4 técnicos auxiliares de farmácia, 2 nutricionistas, 2 podologistas, 1 enfermeira, 1 operador de logística, 1 motorista, 1 conselheira dermocosmética, 1 gestora de marketing e 1 gestora de projetos. Para o bom funcionamento de toda a equipa e de forma a proporcionar os melhores aconselhamentos, a FFS aposta numa boa e constante formação ao longo do tempo, contando com pelo menos 1 formação por semana.

No que concerne às instalações da FFS, as suas áreas encontram-se de acordo com o referido no artigo 2º da Deliberação nº 1502/2014 de 3 de julho em que é necessário no mínimo, uma área de 95m<sup>2</sup>, assim como no mínimo cinco divisões obrigatórias [3], sendo elas: “a) Sala de atendimento ao público com, pelo menos, 50 m<sup>2</sup>; b) Armazém com, pelo menos, 25 m<sup>2</sup> ; c) Laboratório com, pelo menos, 8 m<sup>2</sup> ; d) Instalações sanitárias com, pelo menos, 5 m<sup>2</sup> ; e) Gabinete de atendimento personalizado, (...) com, pelo menos, 7 m<sup>2</sup>.”. A farmácia conta com 11 postos de atendimento, 2 gabinetes de atendimento personalizado, 1 sala de enfermagem, 3 armazéns, sendo que um é onde se encontram os medicamentos que não couberam no *robot*, outro, de armazenamento de sobras de OTC (*Over the counter*) e medicamentos do armário branco e o último, de sobras de dermocosmética e dispositivos médicos, 1 laboratório, 2 escritórios, 2 zonas sanitárias e 1 cozinha com cacifos.

Quanto ao exterior da FFS, apesar de se encontrar dentro de um centro comercial, ela encontra-se bem identificada com a cruz verde representativa das farmácias, tanto no exterior do centro comercial, como no interior do mesmo. Existe a informação sobre a proprietária, diretora técnica, horário de funcionamento e farmácias de serviço em todas as portas da farmácia. Esta farmácia encontra-se acessível aos utentes com dificuldades motoras, estando por isso, em conformidade com os artigos 10º e 28º do Decreto-lei 307/2007 de 31 de agosto [2].

A Farmácia Ferreira da Silva utiliza o sistema *Kanban* de forma que nunca falem documentos importantes e que tudo se mantenha organizado dentro da farmácia

## **2. Aprovisionamento e Armazenamento**

Durante os dois primeiros meses de estágio, estive alocada a tarefas mais de *back office*, sendo que todas as manhãs realizava a tarefa de *picking* que consistia em repor na farmácia todos os produtos (medicamentos e não-medicamentos) que se tinham vendido no dia anterior, através de listagens retiradas do *software* da farmácia, *Logitools*. Através desta tarefa, foi-me possível ir ambientando com os nomes comerciais dos medicamentos, assim como, perceber as diversas localizações dos produtos.

Durante este período foi-me atribuído a tarefa de verificação de prazos de validade por mês, assim como fazer inventários de certas marcas. Assim como, me foi ensinado como se procedia às encomendas e o procedimento da receção das mesmas.

O maior papel do farmacêutico é uso correto do medicamento, mas cabe também a esta profissão, garantir o correto aprovisionamento e armazenamento dos medicamentos, de forma a garantir a qualidade dos medicamentos e o bom funcionamento da farmácia a nível financeiro.

### **2.1. Fornecedores e Realização de Encomendas**

A tarefa de escolha dos medicamentos a ter na farmácia, é uma tarefa de extrema importância para a parte financeira da farmácia. Assim sendo, esta tarefa está delegada a poucos trabalhadores da FFS.

Dentro da farmácia existem diversas encomendas. Temos a encomenda realizada a armazenistas (OCP e Cooprofar) de medicamentos e alguns suplementos alimentares em que esta é pré automatizada, uma vez que é realizada diariamente por volta das 19h, excluindo fins de semana, tendo como base o nível de *stock* mínimo e máximo.

As encomendas anuais realizadas aos laboratórios, são feitas por um colega farmacêutico e diretora técnica que, tendo em conta os orçamentos / descontos e a rotatividade anual dos produtos farmacêuticos, realiza a encomenda.

Na FFS todas as marcas de dermocosmética, a área de capilares, cosmética de bebé, higiene oral, suplementos oral, veterinária e ortopedia tem um farmacêutico responsável que, mediante a necessidade de cada marca, realiza a encomenda aos laboratórios.

Em contexto de atendimento, existe ainda a possibilidade de encomendas individuais aos armazenistas, de forma a garantirmos um certo medicamento ou produto farmacêutico ao cliente. Enquanto fazemos este tipo de encomendas aos nossos armazenistas preferenciais (OCP ou Cooprofar) conseguimos saber o horário e data no qual iremos receber a encomenda de forma a darmos a melhor informação ao nosso cliente.

Em alguns casos de medicamentos esgotados, existem duas formas de encomenda, encomenda por Via-Verde e encomenda SOS. Encomendas por Via-Verde, são possíveis quando os titulares de autorização de introdução no mercado aceitam e têm a responsabilidade de manter stocks residentes nos armazenistas, apenas alguns medicamentos possuem esta vertente de encomenda [4]. A encomenda SOS é quando se trata de medicamentos *life-saving* em que o laboratório tem de possuir um *stock* mínimo para dispensar às farmácias.

## **2.2. Receção de Encomendas**

Como referido anteriormente, a FFS tem dois armazenistas com os quais mais trabalha, OCP e Cooprofar. No entanto, quando é necessário um medicamento para um utente e nenhum destes armazenistas possui, a FFS encomenda excecionalmente à *Alliance Healthcare*. No ato de receção de encomendas, estas chegam à farmácia em bacias seladas, identificadas e com a(s) fatura(s) anexada(s).

Durante o meu período de estágio quando auxiliava na receção de encomendas, era necessário conferir se existem bacias de frio. Caso houvesse, retirava os medicamentos e apontava na fatura os medicamentos conferidos assim como a sua data de validade.

No que concerne ao resto das encomendas, quando esta se tratava das encomendas vindas da OCP, era necessário conferir todas as unidades e prazos de validade. Quando se tratava das encomendas via Cooprofar ao dar-mos entrada da fatura no sistema operativo da FFS, este incorporava de imediato os prazos de validade, no entanto era também imprescindível a contagem dos produtos de forma a termos a garantia que os números da fatura coincidiam com os reais.

Ainda no momento da receção de encomendas, era necessária atenção a reservas, uma vez que estas podiam ser eletrónicas ou manuais. Caso houvesse reservas eletrónicas de um produto, assim que dessemos entrada do mesmo no sistema, este emitiria um alerta, e assim, colocávamos o produto no local destinado às reservas tendo em conta se seria paga ou não. Caso seja manual, teríamos de estar com atenção e separar o produto em causa.

Uma vez que a contabilidade da FFS é feita por uma empresa externa, no ato da receção de encomendas era obrigatório retirar o número I.D. da fatura, gerado pelo sistema *Logitools*.

### **2.3. Devoluções**

No que concerne às devoluções, estas podem advir de diversas situações. A FFS faz devoluções quando nas encomendas, vêm produtos danificados, quando o produto tem o seu prazo de validade a terminar, quando existem enganos em encomendas ou quando existem pedidos de recolha por parte das autoridades competentes.

O processo de devolução inicia-se com a pesquisa do laboratório competente por um “X” produto. De seguida, no programa *Logitools*, necessitamos de explicar o motivo da devolução e conseqüentemente é gerada uma nota de devolução. Através do sistema utilizado na FFS, o laboratório é automaticamente notificado sobre a devolução. Após este processo, dependendo da resposta do laboratório, este poderá trocar o produto danificado por um novo, pagar com outro produto ou outra situação, acordada entre a farmácia e laboratório.

### **2.4. Armazenamento**

No que concerne ao armazenamento, este vai depender do tipo de produto que estamos a falar, no entanto, todos os produtos se encontram organizados pelo método FEFO (*First Expire- First Off*) ou FIFO (*First in- First out*).

Os medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) ou OTC estão armazenados atrás dos balcões, local onde os clientes não têm acesso e no armário branco, localizado no armazém no piso 0.

Benzodiazepinas e psicotrópicos encontram-se armazenados no *robot*, um local seguro de difícil acesso por parte de pessoal não autorizado.

Os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) encontram-se tanto no robot como no armário branco, dependendo do tamanho da embalagem e formulação, uma vez que todos os colírios e xaropes se encontram no armário branco.

Existem 2 câmaras frigoríficas onde são armazenados todos os medicamentos que necessitam de ser armazenados a baixas temperaturas.

De forma a garantir a qualidade de todos os produtos farmacêuticos durante o seu armazenamento, estão distribuídos por toda a farmácia, incluindo as câmaras frigoríficas, sensores de temperatura e humidade. Estes dados são guardados automaticamente num dos computadores da farmácia, para que seja possível fazer um bom controlo destes parâmetros.

### **3. Atendimento e Dispensa de Medicamentos**

O farmacêutico é o profissional especialista no medicamento, assim sendo, cabe-nos a nós assegurar a adesão à terapêutica e aconselhar da melhor maneira. Para isso é necessário que toda a equipa acompanhe o desenvolvimento que a indústria tem de forma a estar a par das novas moléculas.

No que concerne aos MSRM o farmacêutico não pode praticar o aconselhamento, no entanto, possui o papel de alertar para possíveis efeitos previsíveis do medicamento de forma a garantir que o doente não abandona a terapêutica.

Quanto a MNSRM, ou seja, medicamentos de venda livre, o farmacêutico tem o papel imprescindível de perceber qual o medicamento mais apropriado para o utente que tem à frente, tendo em conta possíveis patologias que este possa apresentar ou alergias.

O sistema operativo existente na FFS, *Logitools*, possui um mecanismo de modo a minimizar ao máximo o erro humano na dispensa de medicação. Quer tenhamos um medicamento inserido numa receita, ou um medicamento de venda livre, quando o selecionamos no atendimento, para prosseguirmos com a dispensa é necessário conferir as caixas, utilizando o *QR Code* ou o código de barras. Por exemplo, se tivermos selecionado no atendimento o Ben-u-ron® 500mg cápsulas, mas tivermos pegado na caixa de Ben-u-ron® 500mg comprimidos, após conferir a caixa, o sistema vai acionar a mensagem “Este medicamento não se encontra no atendimento”, ajudando assim a que não ocorram erros no ato de dispensa. Este procedimento de conferir as caixas dos medicamentos vai também alertar caso haja falsificação de medicação, uma vez que o sistema não vai reconhecer o código lido.

#### **3.1. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica**

Segundo o artigo 114º do Decreto-lei nº 176/2006, de 30 de agosto, são medicamentos sujeitos a receita, os medicamentos que, possam constituir risco para a saúde do doente de forma direta ou indireta, caso sejam utilizados sem vigilância médica; possam constituir um risco para a saúde, quando sejam utilizados com frequência em quantidades consideráveis para fins diferentes daquele a que se destinam, de forma direta ou indireta; quando contém substâncias cuja atividade ou reações adversas seja

indispensável aprofundar; ou ainda quando se destinem a ser administrados por via parentérica [5].

Tratando-se de MSRM, o processo na farmácia inicia-se quando o utente fornece a sua receita ao farmacêutico. Esta receita é habitualmente uma receita eletrónica materializada (REM) ou uma receita eletrónica desmaterializada (RED), no entanto, ainda chegam à farmácia algumas receitas manuais. Os médicos podem prescrever um medicamento em receita manual quando uma destas exceções se encontra preenchida [6]:

- a) Falência informática;
- b) Inadaptação fundamentada do prescritor, previamente confirmada e validada anualmente pela respetiva Ordem Profissional;
- c) Prescrição no domicílio- Excluindo prescrições efetuadas em lares de idosos.
- d) Até 40 receitas/mês

Possuindo a receita manual é necessário verificar se a receita está conforme. É necessário verificar os seguintes tópicos [6]:

- Não podem existir rasuras, caligrafias diferentes, utilização de canetas diferentes ou lápis;
- O número de embalagens prescritas deve constar em cardinal e por extenso;
- Não é permitida mais do que uma via da receita manual;
- Identificação do local de prescrição;
- Vinheta identificativa do prescritor;
- Identificação da exceção que justifica a utilização da receita manual
- Nome e número nacional do utente e, sempre que aplicável, o número de beneficiário;
- Entidade financeira responsável;
- Assinatura do prescritor;
- Data da prescrição;

Quando dispensávamos uma receita manual, tínhamos de ficar com a receita original e colar no verso o talão de venda que o sistema imprime automaticamente, com o número da receita e medicamentos dispensados. Depois, a pessoa responsável pelo atendimento, necessita de datar e assinar o verso da receita e colocar numa gaveta própria, para posteriormente ser validada.

Em todas as receitas, o médico prescritor tem de colocar obrigatoriamente a denominação comum internacional (DCI) da substância ativa. No entanto, poderá também referenciar o titular de Autorização de Introdução no Mercado (AIM) consoante as seguintes exceções [6]:

- Medicamentos de marca sem similares;
- Medicamentos que não disponham de medicamentos genéricos participados;
- Medicamentos que, por razões de propriedade industrial, apenas podem ser prescritos para determinadas indicações terapêuticas;
- Justificação técnica do prescritor, nas seguintes situações:
  - a) Medicamentos com margem ou índice terapêutico estreitos – constantes da lista definida pelo Infarmed.
  - b) Fundada suspeita, previamente reportada ao Infarmed, de intolerância ou reação adversa a um medicamento com a mesma substância ativa, mas identificado por outra denominação comercial;
  - c) Medicamento destinado a assegurar a continuidade de um tratamento com duração estimada superior a 28 dias.

Durante o meu período de estágio, deparei-me com várias receitas manuais, tendo por isso, que conferir todos os itens acima supracitados. Fui também confrontada com uma situação em que o utente se tinha dirigido à farmácia para levantar um medicamento, o utente em causa, queria o medicamento genérico, no entanto, o médico prescritor tinha receitado o medicamento referenciado um titular de AIM, colocando a exceção c). Sendo esta exceção, foi-me possível alterar o medicamento para um genérico, desde que o valor do genérico fosse inferior ao referenciado pelo médico. Sendo a FFS uma farmácia do distrito do Porto, tínhamos frequentemente clientes estrangeiros, e assim sendo, tive um atendimento com uma cliente que queria comprar a sua medicação habitual para o controlo da tensão arterial, no entanto não tinha prescrição portuguesa nem histórico na farmácia, no entanto, possuía a sua prescrição venezuelana. Assim sendo, pudemos dispensar sendo que ficamos com uma cópia desta prescrição para motivos de justificação caso fossemos inspecionados pelo INFARMED.

### **3.2. Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos**

A dispensa de Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEP) é semelhante à dispensa de MSRM com mais uns paços de verificação. É necessário recolher

informações do utente que toma a medicação, assim como do aquirente. Cabe ao farmacêutico garantir que não dispensa um MEP a um utente demente nem menor de idade, uma vez que é proibido [7].

Na FFS, quando existe uma prescrição de um MEP, o sistema coloca a vermelho os campos de preenchimento obrigatório, sem estes campos preenchidos, o sistema não deixa terminar o atendimento.

Os dados pessoais do doente que toma a medicação que são necessários são os seguintes:

- Nome,
- Morada e código postal.

Os dados obrigatórios do aquirente são os seguintes:

- Nome,
- Morada e código postal,
- Data de nascimento (de forma a garantir que é maior de idade)
- N° de identificação (Bilhete de identidade, Cartão de cidadão, Passaporte),
- Data de validade do documento identificativo.

Após a dispensa de MEP, é emitido um documento automaticamente com as seguintes informações:

- Número da receita
- Medicamento dispensado
- Quantidade
- Dados pessoais do utente
- Dados pessoais do aquirente

Este documento é então, rubricado pelo farmacêutico que realizou o atendimento, datado e colocado num local específico para estes documentos. Posteriormente, a farmacêutica responsável pela faturação irá validar todos estes documentos e garantir que tudo se encontra em conformidade.

Durante o meu período de atendimento ao balcão no decorrer do estágio, pude dispensar alguns MEP, sendo que o mais frequente era o metilfenidato ou as marcas correspondentes. Quando não possuíamos o medicamento que o utente pretendia e realizávamos uma encomenda, era necessário ter em atenção que nunca poderíamos

fazer uma reserva paga, de forma a garantirmos os *stocks* corretos em caso de inspeção por parte do INFARMED.

### **3.3. Regimes de Participação e Complementaridade**

De forma a minimizar a não adesão da população à medicação devido a motivos financeiros, o Estado paga uma percentagem do PVP dos medicamentos, denominando-se participação.

A participação é realizada aos beneficiários do SNS e de subsistemas públicos que sejam da responsabilidade da mesma entidade ou, dos que beneficiem de participação em regime de complementaridade, designado procedimento de participação do Estado [8].

Tendo em conta o escalão socioeconómico do indivíduo em causa, existem quatro (4) escalões com níveis diferentes de participação. Segundo a Portaria nº 195-D/2015 de 30 de junho, os escalões são os seguintes:

- Escalão A: 90%
- Escalão B: 69%
- Escalão C: 37%
- Escalão D: 15%

Existem ainda casos especiais de participação em que o médico prescriptor pode referenciar uma portaria ou despacho na receita, tratando-se de Regimes excecionais de participação [9]. No anexo I, pode-se ver todos os regimes de participação excecionais de dispensa em Farmácia Comunitária.

Quando se trata de participações pelo SNS, estas são automatizadas pelas receitas eletrónicas, e o programa *Logitools* realiza de imediato a participação.

Quando se trata de subsistemas de saúde, é necessário selecionar a complementaridade no sistema operativo da FFS e digitar o número do cartão do beneficiário. Durante o meu estágio, realizei várias dispensas em regime de complementaridade, sendo que os mais frequentes eram o SAMS, SAMS-Quadros, Multicare e IASFA. Ainda durante o meu estágio, presenciei um atendimento no qual a

utente trouxe uma receita em que invocava o Despacho n.º 10910/2009, de 22 de Abril, tratando-se assim de um regime excecional de comparticipação (69% de comparticipação) devido à situação de Procriação medicamente assistida. Sempre que finalizávamos um atendimento com complementaridade, era impresso automaticamente pelo sistema operativo, um comprovativo com o nome do medicamento, subsistema de saúde e número do beneficiário. Este comprovativo era colado numa folha, assinado e datado pelo operador do atendimento e colocado numa gaveta própria para posterior verificação.

### **3.4. Dispensa de medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica**

A dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) têm vindo a ter um crescimento muito grande devido à crescente da prática de automedicação. Segundo o Despacho n.º 17690/2007 “A automedicação, é a utilização de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) de forma responsável, sempre que se destine ao alívio e tratamento de queixas de saúde passageiras e sem gravidade, com a assistência ou aconselhamento opcional de um profissional de saúde [10]”. São situações passíveis de automedicação as situações listadas no anexo II do presente documento.

Dentro dos MNSRM existe também a classe dos MNSRM-EF, que são” medicamentos que embora possam ser dispensados sem prescrição médica, a respetiva dispensa é condicionada a intervenção do farmacêutico e aplicação de protocolos de dispensa” [11].

Tendo em conta de que se trata de medicamentos de venda livre, cabe ao farmacêutico intervir com a maior proatividade nestas dispensas, questionando possíveis alergias, patologias concomitantes, medicação habitual e toda a sintomatologia de forma a perceber se a medicação que o utente está a requerer, é a mais indicada ou não para a situação descrita.

Durante o meu estágio dispensei vários MNSRM após realizar as questões acima supracitadas, assim como foi-me possível assistir a algumas formações de MNSRM de forma a conhecer melhor o medicamento e de forma a saber aconselhar da melhor maneira, é exemplo o Candiset®, Dextazin®, Camilia® e algumas cepas de homeopatia.

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

Atualmente a Farmácia Comunitária é um local onde existe uma diversidade imensa de produtos desde produtos de alimentação infantil, suplementação oral, nutrição clínica, dermocosmética, dispositivos médicos e medicamentos.

Durante o meu estágio, foi-me possível aumentar os meus conhecimentos devido a inúmeras formações que tive o prazer de assistir. Estas formações foram essenciais para o bom aconselhamento aos utentes.

### **4.1. Produtos Dietéticos Infantis e Nutrição Clínica**

Na FFS existe alguma procura por estes produtos, e assim sendo, é necessário que toda a equipa perceba a diferença e constituição de cada leite de fórmula infantil. Na FFS existem duas grandes marcas comercializadas neste ramo a NAN<sup>®</sup> pertencente à Nestlé<sup>®</sup> e a Aptamil<sup>®</sup> que pertence à Nutricia<sup>®</sup>.

Na penúltima semana do meu estágio, foi-me permitido ter uma formação sobre a suplementação infantil da marca NAN<sup>®</sup> (NAN Care Flora- Support<sup>®</sup>; NAN Care Flora-Equilibrium<sup>®</sup>; NAN Care DHA, vitamina D, vitamina E<sup>®</sup>; NAN Care vitamina D<sup>®</sup>). Ainda em contexto de formação, estive presente no *webinar* da Humana<sup>®</sup>, de forma a perceber melhor o seu suplemento Vitadé<sup>®</sup>.

No que toca à Nutrição Clínica, esta também é uma área com alguma procura na farmácia onde estagiei, e a qual aconselhamos com alguma frequência, por exemplo, em caso de doente que será submetido a colonoscopia. Na FFS, são comercializadas também duas marcas a Resource<sup>®</sup> da Nestlé<sup>®</sup> e a Fortimel<sup>®</sup> da Nutricia<sup>®</sup>.

Durante o meu estágio, realizei um trabalho de pesquisa, onde diferenciei todos os produtos de Nutrição Clínica e Leites de Fórmula Infantis, tendo em conta as diferentes indicações clínicas e ingredientes, assim como, tentei desmistificar alguns mitos relacionados com os leites de fórmula infantis (Anexo IV).

## **4.2. Suplementos e produtos à base de plantas**

Os produtos mais naturais são cada vez procurados nas farmácias comunitárias. Durante o meu estágio deparei-me com grande procura das cápsulas da Arkopharma<sup>®</sup>, formulações à base de arnica para melhorar hematomas e dores musculares assim como de suplementos naturais para melhorar a qualidade do sono.

De forma a consolidar a formação, no dia 10 de março estive presente num *webinar* sobre Fitoterapia orientado pela Arkopharma<sup>®</sup> e no dia 6 de abril tive uma formação por parte da Boiron<sup>®</sup> sobre os seus produtos de Arnica.

## **4.3. Produtos de Dermofarmácia**

Segundo ao artigo 2º do Regulamento (CE) N.O 1223/2009 Do Parlamento Europeu E Do Conselho de 30 de Novembro de 2009 “(...) um produto cosmético é qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as partes externas do corpo humano (..) ou com os dentes e as mucosas bucais, tendo em vista, exclusiva ou principalmente, limpá-los, perfumá-los, modificar-lhes o aspeto, protegê-los, mantê-los em bom estado ou corrigir os odores corporais.” [12].

Durante o meu estágio, tive acesso a formações de diversas marcas como Caudalie<sup>®</sup>, Nuxe<sup>®</sup>, Apivita<sup>®</sup>, Isidineutics<sup>®</sup>, Skinceuticals<sup>®</sup>, Sesderma<sup>®</sup>, La Roche-Posay<sup>®</sup>, Sensilis<sup>®</sup>, Heliocare<sup>®</sup> e Bioderma<sup>®</sup> proporcionadas pela FFS. Após estas formações senti-me mais confortável a aconselhar os diversos produtos das marcas quando me era solicitado algum produto dermocosmética, assim como, me senti mais bem preparada para realizar *cross-selling*.

Ainda durante o estágio, e de forma a enriquecer a minha passagem pela farmácia, foi-me proposto realizar uma pesquisa sobre os principais fotoprotetores que possuíamos na farmácia, assim como, perceber os efeitos dos diversos ingredientes e idealizar casos práticos em contexto de farmácia comunitária. Este trabalho denominado de “Proteção Solar da Teoria à Prática” foi depois apresentado a toda a equipa da FFS, estando inserido no plano de formação e desenvolvimento profissional da FFS. Esta formação foi sujeita a uma avaliação com o objetivo de aferir a efetividade e relevância das aprendizagens, que decorre em 2 níveis: avaliação da formação (1ª semana) e avaliação dos conhecimentos adquiridos e sua aplicação prática (um mês depois). Esta

avaliação, foi construída e avaliada pela Farmacêutica responsável pela formação FFS (Anexo III).

#### **4.4. Medicamentos de uso Veterinário**

Segundo o artigo 4º do Regulamento (UE) 2019/6 Do Parlamento Europeu E Do Conselho de 11 de dezembro de 2018, “Medicamento veterinário é qualquer substância ou associação de substâncias que satisfaça, pelo menos, uma das seguintes condições:

- a) É apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais;
- b) Destina-se a ser utilizada nos animais ou a ser-lhes administrada com vista a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas ao exercer uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica;
- c) Destina-se a ser utilizada em animais para fazer um diagnóstico médico;
- d) Destina-se a ser utilizada para a eutanásia de animais;” [13]

Apesar de a FFS ser uma farmácia citadina e incorporada num centro comercial, possuímos alguma procura de medicamentos de uso veterinário para animais de companhia.

As farmácias devem conservar registos pormenorizados durante 5 anos das seguintes informações [14]:

- a) Data da transação;
- b) Nome do medicamento veterinário, incluindo, se for caso disso, a forma farmacêutica e a dosagem;
- c) Número do lote;
- d) Quantidade recebida ou fornecida;
- e) Nome ou firma e domicílio ou sede social do fornecedor, em caso de compra, ou do destinatário, em caso de venda;
- f) Nome e dados de contacto do médico veterinário que prescreveu o medicamento e, se for caso disso, uma cópia da receita médico-veterinária;
- g) Número da autorização de introdução no mercado;
- h) Cópia das receitas eletrónicas manuais e das receitas dos modelos transitoriamente aceites.

Assim sendo, guardávamos num local apropriado todas as receitas veterinárias originais, assim como a datávamos e assinávamos.

De forma a podermos dar o melhor aconselhamento, a FFS proporcionou duas formações com as seguintes temáticas “Veterinária- Desparasitação” e “Veterinária- Suplementação” as quais tive o prazer de presenciar. Estas formações foram expostas por uma Médica Veterinária.

Em contexto de atendimento na FFS, caso nos surgisse alguma dúvida sobre o produto a aconselhar ou sobre alternativas terapêuticas, a FFS possui o serviço “Espaço Animal” em que, com apenas um telefonema podemos tirar todas as dúvidas com médicos veterinários, o que nos dá um conforto superior nos aconselhamentos nesta área.

Ainda assim, por iniciativa própria, assisti a um *webinar* denominado por “Noções Básicas Saúde Animal” uma formação da marca Patta® de forma a complementar a minha formação.

## **4.5. Dispositivos Médicos**

Dispositivo médico é um termo que engloba uma diversidade gigante de tecnologias. Este tipo de produto é destinado a prevenir, diagnosticar ou tratar uma doença, mas contrariamente aos medicamentos, estes não têm ação farmacológica, metabólica ou imunológica [15].

Os dispositivos médicos são classificados em várias classes tendo em conta o seu risco [16]:

- Dispositivos médicos de classe I - baixo risco
- Dispositivos médicos de classe IIa - médio risco
- Dispositivos médicos classe IIb - médio risco
- Dispositivos médicos classe III - alto risco

Durante o estágio tive a possibilidade de poder distinguir alguns dispositivos médicos de medicamentos ou de cosmética. É o caso do Rezitop® um spray nasal que poderá ser confundido com um medicamento, assim como o Ectopic®. Ambos possuem ectoína que forma um filme protetor e vão ajudar no tratamento das patologias, mas sem efeito farmacológico. Outros exemplos são Ducray MeD® e todos os protetores solares com indicação para a Queratose Actínica (alguns exemplos são o Heliocare 360° MD AK®, Anthelios 100 Ka+ MED®, Eryfotona® entre outros) que podem ser confundidos com produtos cosméticos, no entanto, estes possuem mais estudos. Para além disso contactei

também com compressas, preservativos masculinos, canetas de insulina, meias de compressão, entre outros.

## 5. Medicamentos Manipulados

Segundo a Portaria nº594/2004 de 2 de junho, medicamento manipulado é “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” [17].

A FFS é uma farmácia que faz alguns manipulados, no entanto, quando se trata de medicamentos manipulados mais complexos como, grânulos de homeopatia, a FFS pede a outras farmácias o orçamento, e consoante o que o utente considerar em relação ao valor orçamentado, procede-se com o medido de manipulação ou cancela-se o mesmo.

Durante o meu estágio tive oportunidade assistir a bastantes manipulados, desde suspensão de trimetropim, vaselina enxofrada, creme de permetrina, solução de minoxidil com e sem finasterida, creme de tretinoína, misturas de pós com ácido salicílico e talco, assim como, reconstituição de preparações extemporâneas como o Augmentin ES<sup>®</sup> e Clavamox<sup>®</sup>.

O processo inicia-se com o pedido de um medicamento manipulado ao balcão com receita associada, em que o farmacêutico irá preencher a folha direcionada a estes medicamentos com os dados do utente, fórmula magistral, quem irá fazer a manipulação se a FFS ou outra farmácia e o valor. Uma vez que estes medicamentos são medicamentos personalizados é necessário garantir que o utente irá levantar a medicação, e por isso, é pedido ao utente que pague o manipulado na totalidade ou uma caução. De seguida, o farmacêutico irá anexar a receita à folha previamente preenchida e colocada num *dossier* específico. Todos os dias, a pessoa responsável pela manipulação, vai ao *dossier* perceber se existem medicamentos para preparar.

A preparação da manipulação, inicia-se com o preenchimento da folha de preparação, onde é imprescindível colocar os dados referentes às matérias-primas, desde lote, marca e validade, assim como, apontar as quantidades realmente medidas. Após a desinfeção do local e de todos os materiais necessários, inicia-se a manipulação. No final, é necessário realizar as verificações, rotular a embalagem e dar baixa das matérias-primas.

Ainda antes de finalizar o processo, é necessário calcular o PVP associado ao medicamento. Na FFS tive oportunidade de fazer um cálculo, uma vez que na farmácia onde estagiei os preços encontram-se todos previamente calculados de forma a facilitar os atendimentos.

Quando se trata de medicamentos que necessitam de conservação em frio, como a suspensão de trimetropim, é necessário colocar um autocolante fluorescente com a indicação de frio de forma ao utente não se esquecer.

## 6. Outros serviços prestados na Farmácia

A FFS prima pelo rigor e inovação e assim sendo, é uma farmácia que tem alguns serviços extra importantes para o bem-estar da população

A farmácia possui o serviço de enfermagem, que conta com a enfermeira contratada e mais 6 enfermeiras prestadoras deste serviço. Algumas das suas atividades de enfermagem em contexto de farmácia comunitária são a furação de orelhas, realização de testes à Covid-19, medição de tensões arteriais usando o equipamento OMRON 907® que realiza três (3) medições consecutivas e faz a média, reduzindo assim o efeito de bata branca, realizam também a administração de injetáveis e vacinas fora do Plano Nacional de Vacinação (PNV), medição de parâmetros bioquímicos como a medição de colesterol e triglicéridos, medição da hemoglobina glicada e pesagem de bebés. Quando não possuímos nenhuma enfermeira, existem farmacêuticas capacitadas a furar orelhas, realização de testes à covid-19 e administração de alguns injetáveis de forma a garantir o funcionamento mínimo deste serviço.

A FFS possui consultas de Nutrição Funcional, que contam com as duas Nutricionistas contratadas. Este serviço é indicado aos utentes que necessitam e procuram uma alimentação cuidada tendo em conta as patologias que possuem, diminuições de peso em crianças, assim como outros serviços.

Existem ainda consultas de Nutrição *Easy Slim*, em que contamos com a presença de mais duas nutricionistas distintas prestadoras deste serviço. Estas consultas são indicadas em utentes que procuram a perda de peso associado a suplementos *Easy Slim* e educação alimentar. São consultas semanais para garantir os efeitos pretendidos pelo utente.

Por fim, existe o serviço de podologia que conta com duas podologistas contratadas pela farmácia. Alguns serviços oferecidos são os moldes palmares, tratamento de unhas encravadas, calosidades, onicomicoses, verrugas assim como o seguimento do pé diabético.

Durante o meu estágio, aconselhei o serviço de podologia a utentes que pediam aconselhamento para redução micoses nas unhas dos pés, assim como, consultas de nutrição *Easy Slim* em utentes que procuravam ajuda na farmácia para a perda de peso

em suplementação. Foi me também possível acompanhar medições de tensões arteriais e avaliar os valores perante o utente.

## 7. Valormed

A Valormed é “uma sociedade sem fins lucrativos à qual está atribuída a responsabilidade da gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso de origem doméstica através do sigrem (sistema integrado de gestão de resíduos de embalagens e medicamentos)” [18].

Desde 1999 que esta empresa se responsabiliza pelo impacto ambiental dos medicamentos, e ao longo dos últimos anos, temos visto uma preocupação crescente por parte dos doentes.

Na FFS deparei-me com uma realidade positiva, uma vez que existiam muitos clientes a trazer à farmácia a medicação que já não usariam ou que estava fora de validade. A farmácia fecha cerca de 5 a 6 contentores por semana.

Quando um contentor se encontra cheio, existe uma pessoa alocada a esta tarefa de fechar devidamente o contentor e comunicar a recolha a um dos nossos armazenistas.

## **8. Receituário e Faturação**

Durante o meu estágio, tive a oportunidade de conferir todas as declarações de honra em relação aos testes à Covid-19 e respetiva faturação, organizar todos os comprovativos segundo subsistemas de saúde, receitas de medicamentos manipulados e receitas veterinárias assim como, verificar os documentos emitidos nas dispensas de medicamentos psicotrópicos e estupefacientes, de forma a conferir se todos os dados se encontravam preenchidos corretamente.

Na FFS existem dois farmacêuticos responsáveis por esta área que fazem um *double check* em todas as receitas e comprovativos de forma que, no momento de se enviar a documentação ao SNS, esteja tudo conforme.

## 9. Conclusão

O estágio na FSS em contexto de farmácia comunitária foi muito importante para o meu desenvolvimento enquanto futura farmacêutica. Com esta experiência, consegui perceber quais seriam os meus pontos fracos, e com a ajuda de toda a equipa, consegui ultrapassá-los.

Nesta farmácia fui sempre muito bem acolhida, tive acesso a todas as formações, que foram preciosas para o meu crescimento profissional.

Durante o estágio, consegui perceber qual é o real papel do farmacêutico na sociedade, apesar de toda a desvalorização que se fala da profissão, senti que os utentes sentem uma enorme confiança nos farmacêuticos.

Ser farmacêutica é olhar para um ser humano como um todo, oferecendo o melhor aconselhamento possível, seja ele, explicar a toma da medicação, retirar dúvidas, potenciar o estilo de vida saudável, ou apenas conversando com a pessoa.

Realizando uma breve análise SWOT do meu estágio:

### Pontos Fortes:

- Equipa jovem e dinâmica
- Grande aposta na formação contínua da equipa
- Ótimo acolhimento

### Pontos Fracos:

- Tendo uma equipa de enfermagem, os farmacêuticos e estagiários não realizam a medição de parâmetros bioquímicos
- Estagiários de outras faculdades realizarem mais tempo de estágio em farmácia comunitária (4 meses ao invés de 3 meses)

### Oportunidades:

- Constante aprendizagem e formação, devido às dimensões da farmácia

### Ameaças:

- Estagiários de outras faculdades possuírem cartões de estagiários



- 2007, Accessed: May 08, 2022. [Online]. Available: <https://files.dre.pt/2s/2007/08/154000000/2284922850.pdf>
- [11] INFARMED, “Lista de DCI identificadas pelo Infarmed como MNSRM-EF e respetivos protocolos de dispensa.” [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes\\_transferencia\\_titular\\_aim/lista\\_dci](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci) (accessed May 08, 2022).
- [12] “REGULAMENTO (CE) N.º 1223/2009 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 30 de Novembro de 2009 relativo aos produtos cosméticos (reformulação),” *Jornal Oficial da União Europeia*, 2009.
- [13] “Regulamento (UE) 2019/6 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 11 de dezembro de 2018, relativo aos medicamentos veterinários, revoga a Diretiva 2001/82/CE,” *Jornal Oficial da União Europeia*, 2018, Accessed: May 08, 2022. [Online]. Available: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0006&from=EN>
- [14] DGAV, “Manual de Dispensa de Medicamentos Veterinários,” 2018, Accessed: May 08, 2022. [Online]. Available: <https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2022/02/DGAMV-manual-de-dispensa.pdf>
- [15] INFARMED, “Dispositivos Médicos.” Accessed: May 04, 2022. [Online]. Available: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos>
- [16] INFARMED, “Classificação de dispositivos médicos.” <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos/classificacao-e-fronteiras> (accessed May 04, 2022).
- [17] Ministério da Saúde, “Portaria nº 594/2004, de 2 de junho,” *Diário da República n.º 129/2004, Série I-B de 2004-06-02, páginas 3441 - 3445*, 2004, Accessed: May 10, 2022. [Online]. Available: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria\\_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a)
- [18] Valormed, “Quem é a Valormed.” <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/> (accessed May 04, 2022).

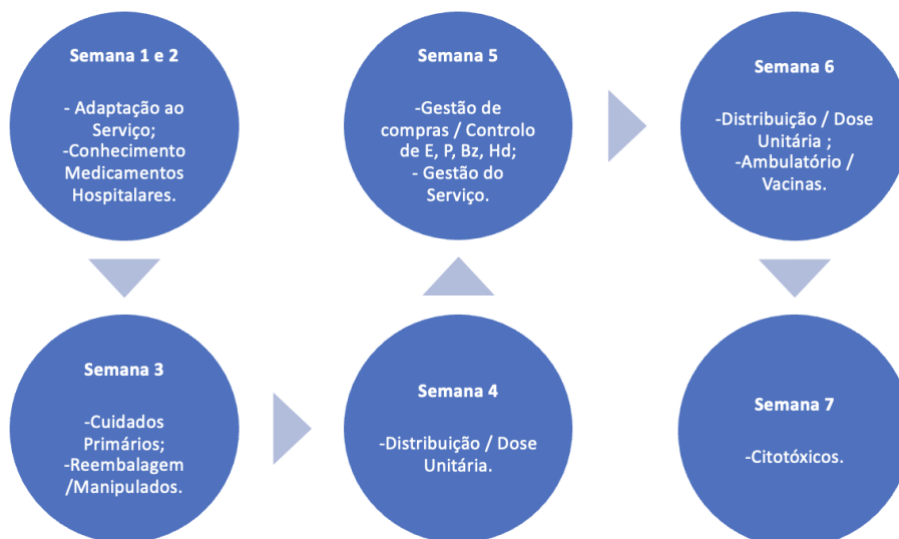
# Capítulo II: Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

## 1. Introdução

O meu estágio em Farmácia Hospitalar do Hospital Sousa Martins foi orientado e supervisionado pelo Diretor Técnico (DT) Dr. Jorge Aperta e, quando este não se encontrava no serviço, pela Dr.<sup>a</sup> Cristina Dinis.

Os Serviços Farmacêuticos (SF) presentes nos hospitais são um dos serviços imprescindíveis no setor da saúde. Cabe ao farmacêutico hospitalar auxiliar, sempre que necessário toda a equipa médica, nas decisões inerentes às terapêuticas dos doentes, gerir a segunda maior despesa do Serviço Nacional de Saúde (SNS), garantir as condições necessárias ao bom armazenamento e uso dos medicamentos, estar presente em algumas das visitas médicas às enfermarias, englobar comissões hospitalares, pertencer ao grupo dos ensaios clínicos, entre outras funções.

O presente relatório reflete o meu percurso no estágio de farmácia hospitalar entre os dias 9 de maio a 17 de junho de 2022. O meu plano de estágio encontra-se resumido na figura 5.



**Figura 1-**Plano de estágio no HSM- ULS Guarda.

Este estágio permitiu-me contactar com a realidade da farmácia hospitalar, conhecendo efetivamente as áreas de intervenção do farmacêutico a este nível, o que me permitiu consolidar os conhecimentos dos 5 anos de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

### **1.1. Hospital Sousa Martins - Unidade Local de Saúde (ULS) da Guarda E.P.E.**

A Unidade Local de Saúde da Guarda engloba os cuidados de saúde primários da região da Guarda (Unidade de Cuidados de Saúde Personalizados (UCSP) de Almeida, UCSP de Celorico da Beira UCSP de Figueira Castelo Rodrigo, UCSP de Fornos de Algodres, UCSP de Gouveia, UCSP da Guarda, UCSP de Manteigas, UCSP de Mêda, UCSP de Pinhel, UCSP de Sabugal, UCSP de Seia, UCSP de Trancoso, UCSP de Vila Nova de Foz Côa, Unidade de Saúde Familiar (USF) da Ribeirinha e USF de Mimar), duas unidades de cuidados de saúde hospitalar (Hospital Sousa Martins na Guarda e o Hospital Nossa Senhora da Assunção em Seia) e ainda o centro de diagnóstico pneumológico da Guarda.

Os SF do Hospital Sousa Martins (HSM) contam com diversos profissionais desde farmacêuticos, técnicos superiores de diagnóstico e terapêutica (TSDT), assistentes operacionais (AO) e administrativos de forma a garantir o bom funcionamento do serviço.

## **2. Organização dos serviços farmacêuticos**

No que diz respeito aos espaços físicos dos SF, todos os espaços possuem fácil acesso sendo que todas as salas se encontram devidamente identificadas, existindo um gabinete onde é possível o atendimento em ambulatório, uma sala referente aos ensaios clínicos, duas áreas para a farmacotecnia, um armazém geral, uma sala para a realização do reembalamento e rotulagem, um gabinete para o diretor técnico e uma copa.

A farmacotécnica subdivide-se em preparação estéreis e não estéreis. No que concerne a preparações estéreis, o HSM dispõe de uma área de preparações de citotóxicos sendo esta constituída por 4 salas: uma sala com alguns bens consumíveis como o vestuário e cacifos, uma antecâmara, uma sala limpa onde se encontra a câmara de fluxo laminar vertical (CFLV) e uma sala de apoio, na qual estão armazenados os fármacos citotóxicos e outros produtos/materiais necessários à sua manipulação, e também onde é efetuada

a validação da prescrição pelo farmacêutico. Existe ainda um laboratório de farmacotecnia, dirigido a preparações não estéreis.

O armazém geral encontra-se dividido em duas áreas. Uma delas dá acesso ao exterior, através do qual o TSDT recebe as encomendas remetidas aos SF. Ainda na mesma área, existem duas salas: uma para o armazenamento de substâncias inflamáveis e outra para soluções de grande volume. Na segunda área do armazém, Farmácia Central, encontram-se os restantes medicamentos e produtos farmacêuticos de armazenamento à temperatura ambiente e de outros que necessitem refrigeração.

Os SF possuem ainda uma sala na qual é efetuado o reembalamento e rotulagem de medicamentos que não estejam adaptados ao circuito do medicamento intra-hospitalar.

Do ponto de vista informático, os SF do Hospital Sousa Martins utilizam o programa de prescrição e gestão GHAF® (Gestão Hospitalar de Armazéns e Farmácia).

## **2.1. Seleção de medicamentos**

A aquisição de medicamentos corresponde à segunda maior despesa de um hospital, cabendo aos SF, efetuar uma seleção e racionalização do processo de acordo com as regras definidas pelos concursos público de aquisição. Durante o meu estágio, pude observar um pedido de introdução de um medicamento à adenda hospitalar do FHNM, sendo ele o isovuconazol para o tratamento de aspergilose pulmonar.

Ainda dentro de pedidos excepcionais, encontramos as Autorizações de Utilização Excepcional de medicamentos (AUE), existindo 3 tipos referenciados posteriormente. Conforme o definido no artigo 92º do Decreto-lei no 176/2006, de 30 de agosto [1], o INFARMED pode autorizar a utilização em Portugal de medicamentos não possuidores de qualquer autorização prevista na legislação quando se verificar uma das seguintes situações:

- “Mediante justificação clínica, sejam considerados imprescindíveis à prevenção, diagnóstico ou tratamento de determinadas patologias;” [1]
- “Sejam necessários para dar resposta à propagação, actual ou potencial, de agentes patogénicos, toxinas, agentes químicos, ou de radiação nuclear, susceptíveis de causar efeitos nocivos;” [1]

- “Em casos excepcionais, sejam adquiridos por serviço farmacêutico ou farmácia de oficina e dispensados a um doente específico.” [1]

Durante a semana que estive a acompanhar a farmacêutica responsável pelas compras de medicamentos, assisti a 2 pedidos de AUE, sendo eles do capmatinib e pembrolizumab.

No momento da seleção é importante ter em consideração as análises ABC e XYZ. Iniciando pela análise ABC, esta divide o *stock* em 3 grupos distintos, tendo como base de avaliação do custo dos medicamentos. No grupo A encontram-se inseridos os medicamentos com os quais se deve ter maior atenção no momento da aquisição dado que representam sensivelmente 80% do valor total da despesa e apenas 20% do total de medicamentos existente no HSM, como exemplo de medicamentos deste grupo temos os medicamentos utilizados no tratamento da hepatite C. No que concerne ao grupo B, representam cerca de 15% do total de medicamentos do hospital. Por fim, no grupo C podemos encontrar os medicamentos com maior rotatividade e que representem aproximadamente, 5% dos custos.

Na análise XYZ o conceito por detrás é referente à existência de alternativas terapêuticas. Os medicamentos pertencentes ao grupo Z, são os que necessitam de maior atenção uma vez que, não existem alternativas terapêuticas, como é o caso dos antídotos. Dentro do grupo Y temos medicamentos que possuem alternativas, por exemplo, os antibacterianos da classe dos macrólidos. Por fim, no grupo X, temos produtos farmacêuticos com maior rotatividade, como é o caso no soro NaCl 0,9% 1000 ml.

Enquanto estagiária, acompanhei o processo de compras realizado diariamente, que teve por base os níveis de *stock* mínimos sendo realizadas aos fornecedores que assumiram a primeira posição do concurso público. No momento de compra, quando se trata de MEP's, é necessário preencher o Anexo VII do Modelo nº 1606 da Imprensa Nacional - Casa da Moeda, SA (INCM, SA). Foi-me também possível observar diversos pedidos de empréstimos ao Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB) quando existiam ruturas de *stock*.

## 2.2. Armazenamento

O armazenamento de medicamentos e produtos farmacêuticos está disposto por ordem alfabética da DCI tendo em conta as condições de armazenamento (temperatura ambiente ou no frio) e também tendo em conta a ordem de prazos de validade *First Expire- First Out* (FEFO) e *First In- First-Out* (FIFO).

No que diz respeito aos medicamentos termolábeis estes encontram-se armazenados em câmaras frigoríficas que mantenham a temperatura entre 2°C e 8°C. No HSM, existem câmaras frigoríficas que possuem sensores de controlo de temperatura ligado a um sistema informático, capaz de registar a temperatura ao longo dos dias, e, caso haja alguma oscilação fora dos intervalos, podendo ser acima ou abaixo do intervalo permitido, os farmacêuticos recebem um alerta no seu e-mail, assim como, os seguranças da Instituição contactam o farmacêutico de serviço, de forma que se possa intervir e impedir o comprometimento da estabilidade dos medicamentos.

Para os medicamentos *Look-Alike*, *Sound-Alike* (LASA) ou seja medicamentos em que a sua fonética e ortografia são semelhantes, é utilizado o método de inserção de letras maiúsculas (*Tall Man Lettering*), ou seja, “método em que se recorre à inserção seletiva de letras maiúsculas no meio das denominações de medicamentos ortograficamente semelhantes para a sua diferenciação” [2], como por exemplo **A**cidoiclovir e **G**ANcicloiclovir, a fim de diminuir o erro humano.

Os medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (MEP's) possuem um armazenamento especial, apenas tendo o farmacêutico, acesso a estes medicamentos dentro dos SF. As benzodiazepinas (BZD) encontram-se num armário de acesso restrito e os estupefacientes e psicotrópicos num cofre fechado.

Existe ainda um segundo cofre no qual estão armazenados medicamentos de elevado valor económico (como é exemplo os medicamentos para o tratamento de hepatite C). Os gases medicinais (azoto e oxigénio) portáteis e de pequeno volume encontram-se na área do cais, na zona externa da farmácia, também com acesso restrito. Os desinfetantes e outros produtos inflamáveis, encontram-se numa sala especialmente criada para o efeito, que possui paredes reforçadas e detetor de fumo para o caso de incêndio.

### **2.3. Controlo de *Stocks* e Prazos da Validade**

O controlo se *stocks* é efetuado periodicamente com recurso ao sistema informático GHAF® e através da contagem física de forma garantir que não existem discrepâncias.

No início de cada mês, o farmacêutico responsável pelas compras retira uma lista dos medicamentos com os prazos de validade a terminar dentro de 3 meses. Posteriormente, são assinalados todos os medicamentos nesta situação com uma etiqueta (“Atenção à validade!”) na respetiva caixa, de forma que os TSDT tenham maior atenção e dispensem estes medicamentos em primeira instância, assim como, de modo que possa averiguar com os respetivos laboratórios a possibilidade de troca por medicamentos com prazo de validade mais longo.

### **3. Distribuição de medicamentos**

Em todos serviços, o processo de distribuição é totalmente informatizado. O farmacêutico, tem um papel fulcral, uma vez que é encarregue de analisar a prescrição realizando revisão de toda a terapêutica e, se for necessário, esclarece algum tipo de dúvida com o prescritor.

#### **3.1. Sistema Tradicional**

Neste tipo de distribuição, é definido previamente um *stock* qualitativo e quantitativo dos medicamentos necessários num determinado serviço. O estabelecimento dos *stocks* nivelados é realizado entre o farmacêutico responsável, enfermeiro chefe, e em alguns casos, com o diretor do serviço em questão. Semanalmente é enviada uma requisição informatizada aos SF, em função dos níveis máximos definidos, salvo consumos pontuais que os possam exceder, de forma a ser possível manter os níveis.

A reposição dos níveis é solicitada através do programa GHAF<sup>®</sup> todas as semanas em dias específicos. Este tipo de distribuição também é utilizado nos centros de saúde como é o caso dos contraceptivos orais, material de penso entre outros.

Dentro do sistema tradicional, existe ainda o sistema de reposição de *stocks* nivelados pré-definidos. Trata-se de um sistema semelhante ao anterior em que é definido previamente um nível, tendo com base as patologias habituais de cada serviço, e a quantidade de cada medicamento é definida de acordo com o seu consumo médio. Habitualmente, associado a este sistema existem duas maletas que acompanham os medicamentos e produtos farmacêuticos para os serviços. A primeira maleta é enviada para o serviço com as necessidades semanais e a segunda maleta, estaria nos SF de forma a restabelecer os níveis.

#### **3.2. Distribuição Individual Diária em Dose Unitária**

A distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU), permite personalizar a medicação preparada em função da prescrição médica, sendo esta preparada diariamente para cada doente internado, permitindo minimizar erros e otimizar recursos.

Este processo inicia-se com a prescrição por parte do médico, seguindo-se a validação farmacêutica, em função da qual é efetuada a preparação da medicação pelos TSDT, sendo diariamente transportada, a uma hora definida, ao respetivo serviço de internamento por um AO.

O papel do farmacêutico neste processo é imprescindível, uma vez que este deverá realizar toda a reconciliação e revisão da terapêutica, detetar possíveis erros de prescrição, sobredosagens, interações medicamentosas e, quando necessário, calcular doses de fármacos (Fig.6). Durante o meu estágio, por exemplo, o farmacêutico contactou o médico responsável a propósito de um doente que tinha na sua prescrição fondaparinux e enoxaparina com risco de hemorragia, tendo sido recomendada a revisão da tabela terapêutica, sugestão que fora aceite.

Na DIDDU, as cassetes contendo gavetas individualizadas são preparadas diariamente com a medicação para as 24 horas seguintes (excluindo fins de semana). Cada gaveta possui dados identificativos de cada doente como o número do processo, número da cama e nome do paciente. Cada gaveta é ainda organizada em três divisões, de forma que a medicação seja colocada em função dos horários das administrações.

MEDICINA INTENSIVA - UCIP - ULS GUARDA		Peso/Estat	Unidade
		101kg/170cm	2
FOLHA DE PRESCRIÇÃO TERAPÊUTICA			
PERFUSÕES CONTÍNUAS INTRA-VENOSAS		DOSE	Vel. Perf. Freq.
LR +60 mEQ KCl			11 mL/h
Fentanilo (BPS 3)		1mg/50mL	(4 mL/h)
Propofol (RASS -5/BIS 45-55)		2%	(10 mL/h)
Ketamina		2g/50mL	4 mL/h
Rocuronio		50mg/50mL	(3 mL/h)
Furosemida (DU 100-120mL/h)		100mg/50mL	(2.0 mL/h)
MEDICAÇÃO FIXA		DOSE	Via Freq.
Paracetamol		1 g	IV 8/8 h
Enoxaparina		60 mg	SC id
Salbutamol		2 inal	TOT 6/6 h
B pralidolol		3 inal	TOT 6/6 h
Pantoprazol		40 mg	IV id
Metoclopramida		10 mg	IV 6/6 h
Eritromicina		250 mg	IV 6/6 h
Bisacodilo		10 mg	SNG 12-12h
Metolazona		5 mg	SNG id
ANTIBIOTERAPIA		DOSE	VIA Freq.
ALIMENTAÇÃO PARENTÉRICA			
BOLSA			
ADITIVOS			
ALIMENTAÇÃO ENTERICA		VEL. PERFUSAO	
Nutrison		ata 63 mL/h	
OBSERVAÇÕES		DATA	HORA
Protocolo de insulina		08/05/2022	10.57
Metamizol 2g em SOS ata 8/8h		O MÉDICO	
		Alexandre	

**Figura 2-** Exemplo de folha de prescrição terapêutica recebida pelos SF por parte da UCIP do HSM- ULS Guarda.

## **4. Dispensa de medicação exclusiva hospitalar a doentes em ambulatório**

Este é um serviço para os doentes que possuam alguma das patologias crónicas que requerem medicação de dispensa exclusiva hospitalar quer sejam seguidos por uma clínica privada ou por um hospital público, neste caso, o HSM. Alguns exemplos de patologias associada a diplomas são a artrite psoriática, psoríase em placas, artrite reumatoide, infeção por HIV, insuficiência renal crónica, esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, doença de *Crohn* entre outras. [3]

Antes de se iniciar uma terapêutica com um medicamento de dispensa exclusiva hospitalar, é necessário que a Comissão de Farmácia e Terapêutica avalie o diagnóstico, e terapêutica selecionada, e emita a sua aprovação. No ato de dispensa, é pedido ao doente que assine um termo de responsabilidade, onde declara que obteve as informações necessárias ao uso e armazenamento do medicamento. Este documento, ficará anexado à prescrição informática associado ao doente em causa.

Este processo é assegurado por um farmacêutico que terá de validar a prescrição médica no programa GHAF<sup>®</sup> (confirmando a substância ativa, dosagem da substância ativa, quantidade e lote). Enquanto estagiária assisti e realizei algumas dispensas sob supervisão farmacêutica, sendo que alguns dos medicamentos com os quais contactei foram o infliximab e adalimumab para o tratamento da artrite reumatoide.

## **5. Medicamentos sujeitos a controlo especial**

Existem medicamentos que possuem uma legislação específica, que obriga a um maior controlo por parte dos farmacêuticos, requerendo assim uma distribuição especial.

Estes medicamentos, possuem um circuito não informatizado, sendo que todos os registos inerentes a MEP's devem ficar arquivado durante pelo menos 3 anos e medicamentos hemoderivados, durante 30 anos.

### **5.1. Estupefacientes, psicotrópicos**

Os psicotrópicos e estupefacientes são medicamentos com muitas propriedades importantes, no entanto, dada a dependência que podem acarretar, estes medicamentos necessitam de um controlo rigoroso de forma a prevenir atos ilícitos, nomeadamente o tráfico e consumo de drogas [4].

O processo de distribuição deste tipo de medicamentos inicia-se com uma requisição telefónica, por parte do enfermeiro chefe de cada serviço aos SF. De seguida, e de preferência o farmacêutico responsável pela área, inicia a preparação dos medicamentos requisitados, sendo necessário preencher o anexo X do livro de requisições nos termos do Modelo no 1509 da Imprensa Nacional - Casa da Moeda, SA. Neste preenchimento, o farmacêutico deve garantir que o número sequencial se encontra correto, que a folha não possui rasuras, que a letra fica legível e que as quantidades, dosagens, forma farmacêutica e substância ativa registadas correspondem ao real. Quando o enfermeiro chefe se desloca aos SF deverá confirmar se tudo o que está registado coincide com o que irá transportar para o seu serviço tendo ainda a obrigatoriedade de rubricar a versão original e duplicado. Tratando-se de papel químico, a versão original (Via Serviço) acompanha os medicamentos para o serviço, enquanto o duplicado (Via Farmácia) fica na farmácia. Quando todos os medicamentos forem administrados ou eventualmente algum medicamento estiver perto do término do prazo de validade deverá ser entregue nos SF, juntamente com a via original da requisição, para ser arquivada.

Seguidamente, a farmacêutica responsável pelo controlo deste tipo de medicamentos, coloca todas as quantidades, dosagens e substâncias ativas e forma farmacêutica num *Excel*, assim como as suas receções, de forma a controlar os *stocks* destes medicamentos, controlando o consumo do hospital e de forma a enviar as listagens mensais ao INFARMED I.P.

Durante o meu estágio preenchi diversas requisições de MEP's, assim como atualizei o *Excel* sempre que necessário, com supervisão de um farmacêutico.

## **5.2. Hemoderivados**

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os medicamentos hemoderivados são moléculas biológicas de interesse terapêutico, constituídos por proteínas plasmáticas. Estas proteínas, não podendo ser sintetizadas por processos químicos nem biotecnológicos, são obtidas de plasma de doadores humanos. As moléculas mais usuais são: albumina, imunoglobulinas e fatores da coagulação (Fator VII, Fator VIII, Fator IX, além dos complexos protrombínicos). No FHNM este grupo de medicamentos encontra-se subdividido em 3 subgrupos, sendo eles: hemostáticos, corretivos de volémia e alterações eletrolíticas e imunoglobulinas [5].

Como referido anteriormente, dada a origem destes medicamentos ser o plasma humano, está inerente uma variabilidade intrínseca derivada da origem biológica. Assim sendo, é requerido um documento, Certificado Oficial Europeu de Libertação de Lote (COELL), no momento de receção destes medicamentos. Caso o documento original seja proveniente de um país estrangeiro, cabe ao INFARMDDED emitir um Certificado de Autorização de Utilização de Lote (CAUL) [6], sendo que este documento deverá ficar arquivado durante 30 anos.

O processo inerente aos medicamentos hemoderivados é um processo não informatizado no caso dos centros de saúde, iniciando-se com a apresentação da requisição Modelo nº 1804 da INCM, nos SF. Esta requisição, similarmente à requisição de MEP's, possui duas vias, Via Farmácia e Via Serviço. Quando a requisição chega aos SF deverá estar totalmente preenchida pelo médico prescriptor, sendo que, cabe ao farmacêutico responsável, confirmar o nome do doente, número do processo, substância ativa, forma farmacêutica e justificação clínica.

No caso de requisições deste tipo de medicamentos seja feita por um serviço do hospital, este processo torna-se informatizado e o pedido será realizado pelo software GHAF®.

Após a validação da requisição, o farmacêutico regista o hemoderivado que irá dispensar, a quantidade, o lote e o CAUL. Por fim, procede à impressão de etiquetas de forma a identificar os medicamentos.

Durante o meu estágio, pude contactar com o controlo deste tipo de medicamentos, tendo realizado numa primeira instância a contagem de *stocks* e posteriormente observei a dispensa deste tipo medicamentos, tais como imunoglobulina anti-D e albumina humana, e ainda a receção de um documento de CAUL (Anexo VI).

## **6. Farmacotecnia**

### **6.1. Preparação de citotóxicos**

Os medicamentos citotóxicos são considerados genotóxicos, uma vez que está comprovado que esta classe de fármacos não é seletiva, podendo afetar o genoma de células não cancerígenas. Dada esta toxicidade, todo o processo que engloba esta classe terapêutica, terá de ser feito com a maior cautela e precisão. No HSM existem 4 valências onde existe intervenção com citotóxicos sendo elas gastroenterologia, urologia, pneumologia e hematologia.

Como referido anteriormente, a unidade de preparação de citotóxicos (UPC) é constituída por 4 zonas, sendo que é na zona limpa que se encontra instalada a CFLV, de classe II tipo B de forma a garantir a segurança do operador na manipulação de citotóxicos. Esta zona, previamente referida, encontra-se equipada com filtros High Efficiency Particulate Air (HEPA) de forma que a que este ambiente não seja contaminado. Com o objetivo de garantir segurança, existem diferenciais de pressão que se devem ter em consideração. Segundo o Manual de Preparação de Citotóxicos da Ordem dos Farmacêuticos [7], a sala limpa deverá possuir uma pressão estática inferior à antecâmara, assim como a antecâmara deverá ter uma pressão estática superior em relação às restantes áreas. Desta forma, previne-se a passagem de partículas perigosas para fora da sala limpa e impede-se que agentes patogénicos entrem na sala de preparação. Estas diferenças de pressão deverão estar dentro do intervalo de 5 Pa a 20 Pa [7]. Para se poder entrar na sala limpa é necessário que o farmacêutico e TSDT se equipem segundo a sequência referida no Manual, sendo a ordem, máscara, touca, óculos de segurança, 1º par de luvas, a bata, a proteção para os sapatos e por último o 2º par de luvas.

Semanalmente é elaborado um plano de doentes que irá realizar tratamento com citotóxicos. Este plano é importante nos SF, de forma que o farmacêutico responsável pela área, tenha conhecimento prévio da quantidade prevista de manipulações que irá realizar. No entanto, todos os tratamentos necessitam de uma prescrição e validação, por parte do médico e enfermeiro respetivamente. Após as duas autorizações, o farmacêutico poderá dar início à preparação.

A preparação destes medicamentos, inicia-se com a verificação por parte do farmacêutico de certos parâmetros como: nome, peso, altura, superfície corporal e

protocolo interno do fármaco prescrito. Habitualmente, enquanto o farmacêutico faz a verificação de todos os medicamentos a nível informático, o TSDT equipa-se para entrar na sala limpa, de forma a colocar dentro desta todos os materiais básicos necessários à manipulação e de forma a limpar e ligar a luz UV na CFLV, para que esta fique esterilizada.

A fim de minimizar a contaminação, no HSM a manipulação inicia-se com os fármacos biológicos e de seguida os citotóxicos. A manipulação destes medicamentos é realizada pelo TSDT, existindo sempre um farmacêutico nesta sala em todos os momentos, garantido a dupla verificação de todo o processo.

Durante o meu estágio, pude acompanhar todo o processo de manipulação deste tipo de medicamentos, ajudando na preparação da medicação adjuvante, assim como, me foi possível entrar na sala limpa de forma a observar a preparação de citarabina e respetiva identificação.

## **6.2. Preparação de formas farmacêuticas não estéreis**

A farmacêutica responsável pela área, em função da prescrição médica regista todas as informações necessárias das matérias-primas como lote, validade, laboratório e no final, no guia de preparação, a quantidade utilizada assim como o nome do doente, nome do prescriptor, lote interno, quantidade a preparar e data da validade do manipulado.

Quando o procedimento de manipulação estiver terminado, é necessário realizar as verificações organolépticas e rotular a embalagem do medicamento. Neste rótulo é importante que esteja escrito o lote (caso seja o primeiro manipulado o lote será a primeira letra do abecedário e data, no caso de um segundo manipulado, a segunda letra do abecedário e data, e assim sucessivamente), nome do doente e nome da preparação. É colada uma etiqueta igual na guia de preparação de forma a ficar arquivada.

Durante o meu período de estagiária, pude assistir às seguintes preparações: vaselina salicilada 2%, nistatina composta, solução de Shohl, xarope de trimetropim, xarope simples e álcool boricado, tendo sido possível intervir em alguns passos.

### **6.3 Reembalagem e rotulagem em dose unitária**

A reembalagem de medicamentos permite adaptar formulações aos circuito intra-hospitalar quer em termos de doses quer ao nível da rotulagem. Esta prática, promove o ajuste de doses às classes geriátricas e pediátricas através do fracionamento de medicamentos, diminuindo assim a sua dose. Incorporado nesta prática, existe ainda a rotulagem, para o caso dos medicamentos que não se encontram devidamente identificados no blister. Na sala de reembalagem procede-se à identificação no blister por detrás de cada comprimido/cápsula, com DCI, dosagem, lote e prazo de validade.

Durante o processo de fracionamento é importante que se tenha em consideração quais os medicamentos que se podem fracionar, e em quais é que este processo não é recomendado, como é o caso da maioria dos comprimidos de libertação prolongada ou revestidos.

Este procedimento é realizado por um TSDT, no entanto, os lotes de medicamentos reembalados e rotulado são libertados após um farmacêutico conferir todos os parâmetros (DCI, dose inicial e final, lote, prazo de validade inicial e final).

## 7. Farmácia Clínica

### 7.1. Participação do Farmacêutico em Comissões Técnicas do Hospital

O farmacêutico possui um papel importante em Comissões Técnicas do Hospital. Esta classe profissional é englobada em diversas comissões técnicas hospitalares de forma a colaborar com diversos profissionais de saúde para o bom funcionamento de um hospital. Dentro destas comissões temos:

- Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) tratando-se de um órgão de ligação entre os SF e os serviços de ação médica. De acordo com o Despacho nº 1083/2004 de 1 de dezembro de 2003, esta comissão possui várias competências das quais realço:
  - “Elaborar as adendas privativas de aditamento ou exclusão ao Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos”; [8]
  - “Emitir pareceres e relatórios, acerca de todos os medicamentos a incluir ou a excluir no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos, que serão enviados trimestralmente ao INFARMED”; [8]
  - “Pronunciar-se sobre a correção da terapêutica prescrita aos doentes, quando solicitado pelo seu presidente e sem quebra das normas deontológicas”; [8]
  - “Apreciar com cada serviço hospitalar os custos da terapêutica que periodicamente lhe são submetidas, após emissão de parecer obrigatório pelo diretor dos serviços farmacêuticos do hospital”; [8]
  - “Elaborar, observando parecer de custos, a emitir pelo diretor dos serviços farmacêuticos, a lista de medicamentos de urgência que devem existir nos serviços de ação médica”. [8]
  
- Comissão de Ética constituída por uma equipa de diversas áreas profissionais como da medicina, direito, filosofia/ética, teologia, enfermagem, farmácia, e outras que garantam os valores culturais e morais da comunidade, sendo o seu principal objetivo segundo Decreto-Lei n.º 80/2018 de 15 de outubro “zelar pelos princípios éticos da dignidade da pessoa humana, da beneficência, da justiça e da autonomia pessoal na prestação de cuidados de saúde” [9];

- Programa de Prevenção e Controlo de Infecção e de Resistências aos Antimicrobianos (PPCIRA) possuindo como principais competências, segundo o Despacho n.º 15423/2013 de 26 de novembro, a redução da taxa de infeção associada aos cuidados de saúde, a promoção do uso correto de antimicrobianos e a diminuição da taxa de microrganismos com resistência a antimicrobianos [10];

Para além das comissões previamente referidas durante o meu período de estágio foi implementada o grupo de trabalho de farmacovigilância na qual se encontram dois farmacêuticos.

## **7.2. Farmacovigilância**

O sistema de farmacovigilância consiste num trabalho entre o Infarmed, englobando as Unidades Regionais de Farmacovigilância (URF), Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF) e a Agência Europeia do Medicamento (EMA). É responsabilidade do SNF monitorizar a segurança dos medicamentos, através da recolha de notificações de reações adversas a medicamentos (RAM), através do Portal RAM do Infarmed.

A notificação de RAMs é um processo que não é devidamente valorizado no espaço nacional. Existindo um problema claro de subnotificação em Portugal.

Durante o meu estágio, presenciei uma chamada de um médico para os SF a referir uma RAM (cefaleias com fingolimod 0,5 mg) a qual, posteriormente, foi notificada pelo portal RAM em conjunto com um farmacêutico.

## **7.3. Farmacocinética Clínica**

Farmacocinética clínica é uma área que permite monitorizar os níveis séricos de determinados fármacos e realizar ajustes de doses em função das necessidades de cada paciente, tendo em conta determinados parâmetros.

A farmacocinética clínica, tem como principal função a individualização das doses para cada utente, de fármacos com margens terapêuticas estreitas. Neste sentido, durante o meu estágio assisti a diversas monitorizações de antibióticos como vancomicina e gentamicina utilizado o programa adquirido pelo hospital PrecisePK®.

Como é conhecido, existem fármacos concentração-dependente, como é o caso dos aminoglicosídeos, sendo que no HSM se monitoriza a gentamicina e amicacina, e fármacos tempo-dependente como é o caso da vancomicina.

Nos fármacos concentração dependente, o efeito sobre a morte bacteriana é superior aquando do aumento de concentração e independente do tempo de exposição. Assim, quando se monitoriza este tipo de fármacos, é necessário analisar o valor do pico para se avaliar se a dose se encontra correta, em níveis subterapêuticos ou tóxicos. Por outro lado, no caso dos fármacos tempo-dependente a sua ação rege-se pelo tempo de exposição e não por concentrações elevadas, no entanto, é de realçar que é necessário que as concentrações permaneçam acima da concentração inibitória mínima (CIM) de forma a melhorar a sua atividade. No HSM o fármaco que se monitoriza sendo tempo-dependente é a vancomicina, sendo necessário analisar o valor do pico e do vale da sua curva farmacocinética de forma a avaliar se estes se encontram acima da CIM, podendo ainda, recorrer-se à análise da área sob a curva (AUC).

Durante o meu estágio, realizei em conjunto com os outros colegas estagiários um trabalho sobre a monitorização farmacocinética do ácido valpróico, no qual referimos quais os motivos pelo qual se deveria monitorizar e ainda um caso fictício de monitorização (Anexo VII).

**Tabela 1-** Valores utilizados no HSM para a monitorização farmacocinética.

DCI	Tempo de perfusão	Tipo	Pico	Vale	AUC
<b>Vancomicina</b>	1h	tempo-dependente	-	20-25 mcg/mL (iv contínuo) 15-20 mcg/mL (iv intermitente)	400-600
<b>Gentamicina</b> <b>Amicacina</b>	30 min	Concentração-dependente	16mcg/mL	< 0,5mcg/mL	-

## 8. Ensaio Clínicos

Entende-se por ensaios clínicos, qualquer investigação destinada a descobrir ou verificar quaisquer efeitos de um medicamento, sejam eles farmacológicos, clínicos ou ainda para avaliar a sua farmacocinética, sendo este procedimento realizado no ser humano. Para a realização de um ensaio clínico é necessário um promotor (pessoa singular ou coletiva, responsável pela realização, financiamento ou gestão do ensaio), um monitor (profissional com competência científica ou clínica escolhido pelo promotor para acompanhar o ensaio na instituição onde decorrerá o ensaio) e participantes [11].

Para que um ensaio clínico se possa realizar no HSM, o promotor avalia previamente se os SF têm as condições e capacidades necessárias para o gerir e armazenar. Apesar de todo o procedimento que engloba medicamentos experimentais ser assegurado por uma equipa multidisciplinar, a receção destes medicamentos, necessita de ser feita por um farmacêutico.

Dentro da sala referente a estes ensaios, existe um armário fechado que contém os medicamentos experimentais e os *dossiers* respetivos dos medicamentos. Estas informações ficarão arquivadas durante pelo menos 5 anos, independentemente do término ou não do ensaio.

No momento da receção é necessário avaliar as condições de transporte e para isso, documentar as mesmas. Caso este verifique que houve temperaturas e/ou humidade fora da janela permitida, o medicamento ficará em quarentena até resposta do promotor. Caso o medicamento seja aprovado, poderá ser armazenado no local específico de medicamentos experimentais.

A cada mês, de igual forma ao que é feito com os restantes medicamentos, é realizada a verificação dos prazos de validade. Quando estes se encontram perto do seu término, os medicamentos são colocados em quarentena enquanto se aguardam instruções do promotor.

Atualmente encontram-se alguns ensaios em curso no HSM, como é o caso do Ensaio *Finearts* tratando-se da associação entre a finerenina e brensocatib.

## 9. Conclusão

De forma geral, o estágio correspondeu às expectativas, tendo demonstrado qual o papel do farmacêutico hospitalar, permitindo-me crescer em termos pessoais e profissionais, dado que me proporcionou obter mais conhecimentos técnicos.

Em vários momentos presenciei uma boa relação entre farmacêutico-médico, originando assim uma confiança superior no pedido de opinião do farmacêutico em relação a algum caso clínico, o que é algo de muito valor e reconhecimento da profissão.

Agradeço a todos os farmacêuticos do serviço que sempre estiveram com a preocupação de nos ensinar algo novo dentro das tarefas de farmacêuticos hospitalares e de nos tornarem úteis dentro deste serviço.

Realizando uma análise do estágio no Hospital Sousa Martins ULS- Guarda:

### Pontos Fortes

- Forte prática de farmacocinética clínica por parte de alguns farmacêuticos, o que me permitiu aprender a prática real
- Visualização da preparação de um citotóxico dentro da sala limpa

### Pontos Fracos

- Ausência dos farmacêuticos nas visitas médicas
- Não se preparam, ainda, bolsas de nutrição parentérica na ULS Guarda, não tendo tido a oportunidade de visualizar a sua preparação
- Período inicial demasiado extenso para a integração no serviço
- No plano de estágio não estão englobadas todas as áreas praticadas no serviço (Ex: Farmacocinética Clínica e Ensaio Clínicos)

### Oportunidades

- Visualização de parte do processo da implementação da consulta farmacêutica em contexto de ambulatório

## 10. Referências Bibliográficas

- [1] Ministério da Saúde, “Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto,” *Diário da República n.º 167/2006, Série I de 2006-08-30, páginas 6297 - 6383*, 2006, Accessed: Aug. 30, 2022. [Online]. Available: <https://files.dre.pt/1s/2006/08/16700/62976383.pdf>
- [2] Direção Geral de Saúde, “Norma DGS N.º 20/2014: Medicamentos com nome ortográfico, fonético ou aspeto semelhantes,” 2014, Accessed: Aug. 09, 2022. [Online]. Available: [https://www.spp.pt/UserFiles/file/EVIDENCIAS%20EM%20PEDIATRIA/1.NORMA%2020\\_2014\\_ACT.DEZ2015.pdf](https://www.spp.pt/UserFiles/file/EVIDENCIAS%20EM%20PEDIATRIA/1.NORMA%2020_2014_ACT.DEZ2015.pdf)
- [3] INFARMED, “Regimes excecionais de participação.” <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/regimes-excecionais-de-competicacao> (accessed Aug. 16, 2022).
- [4] INFARMED, “Psicotrópicos e Estupefacientes,” 2010. [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
- [5] Centro de Informação do Medicamento, “Medicamentos Derivados do Plasma Humano,” 2013, Accessed: Aug. 08, 2022. [Online]. Available: [https://ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/bc.107\\_medicamentos\\_derivados\\_d\\_o\\_plasma\\_humano\\_seguranca\\_e\\_desempenho\\_dos\\_produtos\\_frenteira\\_260185698\\_5a12ebd888db2.pdf](https://ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/bc.107_medicamentos_derivados_d_o_plasma_humano_seguranca_e_desempenho_dos_produtos_frenteira_260185698_5a12ebd888db2.pdf)
- [6] INFARMED, “Autorização de Utilização de Lote.” <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-utilizacao-lote> (accessed Aug. 08, 2022).
- [7] A. Gouveia *et al.*, “Manual de Preparação de Citotóxicos,” 2013, Accessed: Aug. 30, 2022. [Online]. Available: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/manual\\_citotoxicos\\_16297557\\_285941255f09f07.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/manual_citotoxicos_16297557_285941255f09f07.pdf)
- [8] INFARMED, “Despacho n.º 1083/2004, de 1 de Dezembro de 2003”, Accessed: Aug. 10, 2022. [Online]. Available: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1065790/despacho\\_1083-2004.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1065790/despacho_1083-2004.pdf)
- [9] Ministério da Saúde - Gabinete do Secretário de Estado Adjunto do Ministro da Saúde, “Decreto-Lei n.º 80/2018 de 15 de outubro,” *Diário da República n.º 198/2018, Série I de 2018-10-15, páginas 4965 - 4970*, Oct. 2018, Accessed: Aug. 10, 2022. [Online]. Available: <https://files.dre.pt/1s/2018/10/19800/0496504970.pdf>
- [10] Ministério da Saúde - Gabinete do Secretário de Estado Adjunto do Ministro da Saúde, “Despacho n.º 15423/2013, de 26 de novembro,” *Diário da República n.º 229/2013, Série II de 2013-11-26, páginas 34563 - 34565*, Nov. 2013, Accessed: Aug. 10, 2022. [Online]. Available: <https://files.dre.pt/2s/2013/11/229000000/3456334565.pdf>

[11] Assembleia da República, “Lei n.º 21/2014 de 16 de abril,” *Diário da República n.º 75/2014, Série I de 2014-04-16, páginas 2450 - 2465*, 2014, Accessed: Aug. 11, 2022. [Online]. Available: <https://files.dre.pt/1s/2014/04/07500/0245002465.pdf>

# **Capítulo III: Estabilização / Proteção de RNAs**

## **1. Introdução**

### **1.1. Biofármacos**

O conceito de biofármaco ganhou relevância a partir do ano de 1980 diferenciando-se dos medicamentos convencionais, uma vez que estes são produzidos através de processos biotecnológicos [1], utilizando sistemas biológicos ou organismos vivos. Péptidos, citocinas, anticorpos, vacinas e ácidos nucleicos são alguns exemplos de biofármacos [2] utilizados em diversas patologias como diabetes, doenças cardiovasculares, infecções, artrite reumatoide, esclerose múltipla e certos tipos de cancro [3]. Os biofármacos, uma vez que possuem uma elevada seletividade, têm um número reduzido de efeitos adversos [4].

No entanto, este tipo de medicamento está associado a uma significativa instabilidade, elevada suscetibilidade à desnaturação, necessitando de condições de refrigeração a temperaturas bastante reduzidas para se realizarem os transportes e armazenamento, o que pode representar um custo acrescido do produto. Assim, a utilização de estabilizadores adequados na formulação tem sido bastante explorada de forma a aumentar os seus tempos de prateleira [2].

### **1.2. Diferenças perante os fármacos de síntese química**

Dado que os biofármacos são produzidos tendo em conta um único local de ação, possuem menos efeitos secundários, maior especificidade e atividade. Segundo o *Comitee for Medicinal Products for Human Use of the European Medicines Agency* estes fármacos biológicos apresentam menos riscos para o utente. No entanto, os fármacos biológicos são biomoléculas com dimensão de 100 a 1000 vezes superior às moléculas químicas tipicamente utilizadas em formulações farmacêuticas. Esta classe de fármacos não possui formulações de administração oral devido à sua degradação no trato gastrointestinal e ainda à sua reduzida permeabilidade devido ao tamanho, necessitando por isso, de uma administração parentérica, mais invasiva que a via oral. Os biofármacos necessitam ainda, de veículos na sua formulação que aumentem a sua estabilidade, uma

vez que estes possuem uma grande sensibilidade à temperatura [1], [3]. Os biofármacos possuem uma estabilidade superior a temperaturas mais baixas, todavia na presença de temperaturas superiores ( $>25^{\circ}\text{C}$ ) surge a instabilidade do biológico, podendo ocorrer a desnaturação no caso de uma proteína. É ainda conhecido, que estas moléculas são mais estáveis a pH neutro [3].

Devido à sua origem e mecanismo de ação, este tipo de medicamento tende a possuir potencial imunogénico [1], no entanto, este poderá ser reduzido ou mantido dependendo do biofármaco em causa e das estratégias estabelecidas para a sua otimização. As duas maiores problemáticas no desenvolvimento destas biomoléculas incidem na baixa estabilidade e um tempo de semivida reduzido, levando a uma rápida degradação no organismo humano [3]

### **1.3. Ácidos nucleicos como biofármacos**

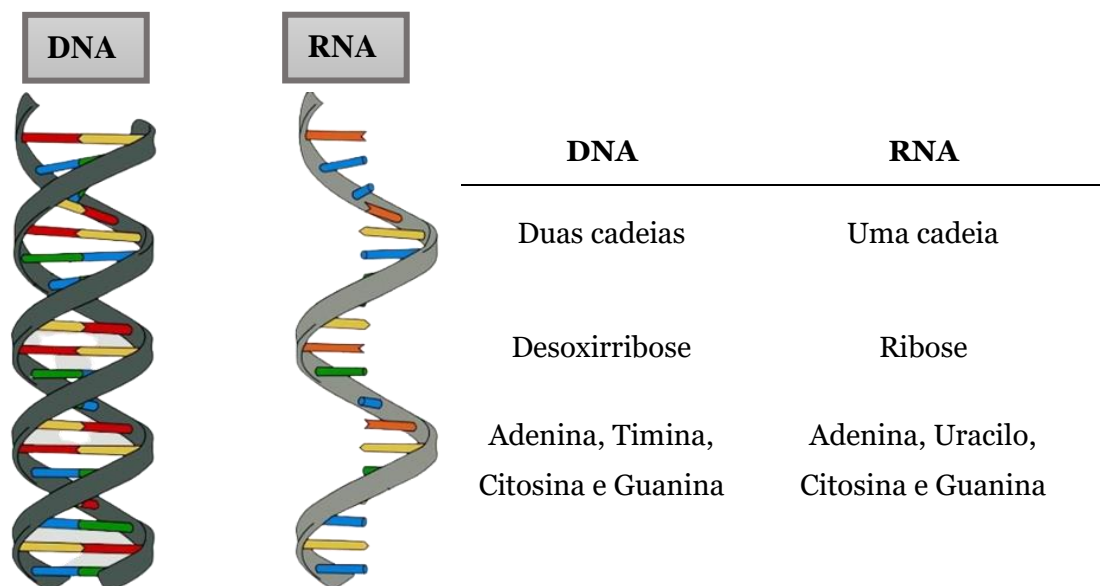
Recentemente, a investigação na área dos ácidos nucleicos sofreu uma evolução, visto que anteriormente, as potencialidades da molécula de ácido ribonucleico (RNA) eram quase esquecidas perante as da molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA). Atualmente, é reconhecido que o RNA desempenha inúmeros papéis fundamentais em processos biológicos indispensáveis na evolução biótica e no processo da hereditariedade [5]. No entanto, a eficácia terapêutica das macromoléculas de ácidos nucleicos é, de alguma forma, imprevista devido à sua relativa instabilidade, dificuldade da molécula chegar ao local alvo e limitada eficiência de expressão. Para além disto, estas macromoléculas não possuem uma farmacodinâmica e farmacocinética ideal, uma vez que apenas uma pequena porção chegará ao alvo quando administrada por via intramuscular ou transdérmica [6]. Ainda assim, devido às vantagens destas moléculas, nomeadamente em termos de especificidade e potencial contribuição para o tratamento de doenças para as quais não é ainda conhecida uma terapia eficaz, a investigação continua a apostar fortemente nesta vertente, tentando ultrapassar as dificuldades já descritas.

### **1.4. RNA**

O RNA pertence ao grupo dos ácidos nucleicos, tratando-se de um polímero organizado de cadeia longa de ribonucleótidos monofosfatos [5], com funções biológicas de codificação e descodificação genética, e regulação de expressão de genes [7], sendo uma molécula essencial ao funcionamento das células procariotas, eucariotas e vírus [8].

Desde que se descobriu que o papel do RNA pode ir mais além do que funcionar como um simples intermediário entre proteínas e DNA [7], houve um crescente investimento na investigação no ramo da biotecnologia no que concerne ao desenvolvimento de biofármacos com base em RNA. De facto, tem sido identificada a capacidade de vários tipos de RNAs para regular a expressão de genes envolvidos em determinadas patologias, tais como cancro e doenças neurodegenerativas [9], [10].

Apesar de as moléculas de RNA e DNA serem semelhantes a nível químico, existem duas características que as diferenciam (Figura 3). No que diz respeito aos nucleótidos, a molécula de RNA contém uracilo (U) ao invés de timina (T) presente no DNA, assim como existe um grupo ribose 2'-OH presente apenas no RNA, contrariamente à molécula de DNA que possui uma desoxirribose, o que torna a molécula mais resistente à hidrólise alcalina [5].



**Figura 3-** Principais diferenças químicas e estruturais entre os polímeros de DNA e RNA.

O RNA é mais instável *in vivo*, e apresenta alguns desafios no que concerne à sua entrega ao organismo, isto porque é uma molécula suscetível a RNases, enzimas que degradam o RNA e que se encontram presentes no sangue e tecidos humanos, assim como, possuem uma vertente imunogénica, levando a uma resposta imunitária por parte do organismo [10].

A preservação deste polímero pode ser realizada em dois veículos distintos água de alta pureza ou solução de tampão fosfato (PBS), em refrigeração mantendo as

temperaturas a -80 °C para conservações mais longas ou a 4 °C para conservações de muito curta duração [9].

## **1.5. Mecanismos de Instabilidade**

### **1.5.1. Instabilidade Física**

A instabilidade física engloba diversos mecanismos entre os quais a desnaturação, agregação, precipitação e adsorção do biofármaco nas superfícies de contacto, levando assim à mudança da conformação da biomolécula e possível perda de atividade biológica [11].

O fenómeno de *unfolding* da proteína, conhecido como desnaturação, decorre de uma perturbação a nível da estrutura secundária e/ou terciária da proteína, colocando aminoácidos previamente protegidos, mais expostos, potenciando a instabilidade da molécula, através de interações inespecíficas e reações químicas que conduzem a uma perda das propriedades originais da molécula [12] e, conseqüentemente, da sua atividade farmacológica. Habitualmente, fatores como temperatura, pH, excipientes [11] (como açúcares redutores, antioxidantes, surfactantes, íons metálicos), exposição à luz ultravioleta ou ureia [12] poderão levar a que o processo de desnaturação ocorra. De notar, que temperaturas elevadas poderão resultar numa desnaturação irreversível da proteína, uma vez que poderá estar implícita a destruição das pontes dissulfureto nos aminoácidos de cistina, caso estes estejam presentes [12].

A agregação é um fenómeno que poderá ocorrer nos passos iniciais do processamento da molécula, assim como no final do processo, já no momento do armazenamento [13]. Diversos fatores poderão despoletar este tipo de instabilidade numa formulação farmacêutica. As condições da solução, como pH, concentração e tipo de sais, presença de moléculas anfífilas (como surfactantes), temperatura, pressão, exposição a interfaces (ar-líquido e sólido-líquido) [14], [13] são alguns dos fatores que podem conduzir ao processo de agregação [14]. Quando este fenómeno ocorre, há um aumento da imunogenicidade do produto, colocando os pacientes em risco, uma vez que poderá ocorrer uma resposta do organismo humano aos agregados, levando a efeitos adversos [13] ou no pior dos cenários, reposta anafilática.

Uma vez que as proteínas possuem resíduos hidrofóbicos, estes poderão facilmente interagir e adsorver à superfície do recipiente em causa, podendo ser ainda nos tanques ao nível industrial, ou nas embalagens de vidro, rolhas de borracha e outros materiais

inerentes ao processo de produção como tubos e filtros. Este fenómeno fará com que haja uma diminuição na concentração do fármaco na formulação [11]. Esta instabilidade é dependente da tensão que existe na superfície, área disponível, a hidrofobicidade da superfície e a estabilidade estrutural do fármaco [11]. A utilização de baixas doses de surfactantes, como polissorbatos 20 e 80 (PSs), é feita com vista a potenciar a proteção dos biofármacos contra a agregação [15], [16]. A ação dos PSs deve-se ao facto de desempenharem um mecanismo competitivo com as interfaces hidrofóbicas assim como, possibilitarem uma ligação à proteína, inibindo assim o processo de adsorção inespecífico às superfícies [16].

Na tabela 2 estão resumidos os parâmetros subjacentes à instabilidade física nas diversas formulações farmacêuticas.

**Tabela 2-** Parâmetros implicados na instabilidade física de formulações farmacêuticas.

<b>Fenómeno de Instabilidade</b>	<b>Parâmetro subjacente</b>	<b>Efeito</b>
<b>Desnaturação</b>	Temperatura, pH	Mudança na estrutura
<b>Agregação</b>	Interfaces, pH, temperatura, pressão	Agregados com potencial imunogenicidade
<b>Adsorção</b>	Aspetos da superfície (pressão e hidrofobicidade)	Alteração na concentração final

### **1.5.2. Instabilidade Química**

Existem diversos fatores, entre os quais químicos responsáveis pela instabilidade dos fármacos, causando assim fenómenos hidrolíticos, oxidação e fotodegradação [11], [4] e ainda quebra nas ligações covalentes, originado outros produtos [4].

No caso de biofármacos proteicos, um dos processos que ocorre com mais frequência é a hidrólise, ocorrendo uma quebra de ligações peptídicas através da adição de água [1]. Ainda na área das reações químicas que resultam em instabilidade, poderão ocorrer os fenómenos de desaminação, isomerização do aspartato, proteólise, beta-eliminação entre outros. Nas proteínas, a desaminação é um processo que ocorre maioritariamente

nos resíduos de asparagina (Asn) resultando numa modificação da cadeia lateral, produzindo o aminoácido aspartato (Asp) ou o seu isómero (iso-Asp) [1], através da via intermediária do succinato [2]. Dependendo da localização do resíduo de Asn, este fenómeno, poderá resultar numa diminuição da estabilidade [2], diminuição da atividade biológica[3], diminuição do tempo de semivida, aumento da imunogenicidade e alteração da própria conformação da biomolécula [4], caso o resíduo de Asn esteja num local estrutural ou funcional da proteína [2].

No caso de biofármacos com base em ácidos nucleicos, o ponto chave da sua instabilidade é a presença de enzimas específicas no organismo humano (RNase e DNase) com capacidade de degradação do RNA e DNA, respetivamente. A resposta imunitária do organismo que leva à fagocitose dos biopolímeros representando igualmente um mecanismo de instabilidade a que os ácidos nucleicos estão sujeitos [5]. Assim, é imprescindível que se utilizem estratégias de proteção destes biológicos, capazes de reduzir a resposta imunitária no organismo humano, assim como, aumentar o tempo de permanência na corrente sanguínea. As estratégias mais conhecidas e referenciadas são a encapsulação ou proteção destes biológicos por complexação, usando vesículas extracelulares compostas por lípidos e proteínas[6], nano transportadores compostos por polietilenoglicol (PEG), nanopartículas de ouro, ou vetores virais [5], ou ainda a utilização de excipientes que possuam uma ação protetora do ácido nucleico de interesse.

No que concerne à exposição à luz, esta poderá levar a uma foto-oxidação do biofármaco, afetando diretamente a atividade biológica do mesmo. Atualmente, ainda não é totalmente conhecido o mecanismo pela qual a radiação ultravioleta (UV) causa este dano [7].

Na tabela 3 estão resumidos os parâmetros subjacentes à instabilidade química nas diversas formulações farmacêuticas.

**Tabela 3-** Parâmetros implicados na instabilidade química de formulações farmacêuticas.

<b>Fenómeno de Instabilidade</b>	<b>Parâmetro subjacente</b>	<b>Efeito</b>
<b>Hidrólise</b>	Hidrólise das ligações	Mudança na estrutura
<b>Desaminação</b>	Resíduos de Asn	Mudança na estrutura

**Oxidação**

Oxigénio, luz, pH

Mudança na estrutura

## **1.6. Formulação de medicamentos biológicos**

Como referido, os medicamentos biológicos apresentam menor estabilidade quando comparados com os medicamentos de síntese química, levando por isso a tempos de prateleira inferiores e limitando o tipo de formulações disponíveis. Esta dificuldade de estabilização dos produtos resulta na apresentação dos biofármacos em formulações que maioritariamente requerem administração intravenosa. Uma formulação intravenosa, necessita de cumprir certos requisitos de forma a não colocar o utente em perigo, nesse sentido, a formulação necessita de ser estéril, ser livre de pirogénios e partículas que possam despoletar uma reação imunológica [22], a menos que esta seja pretendida.

### **1.6.1. Excipientes utilizados em formulações de biofármacos**

Os excipientes ideais a serem usados na formulação dos biofármacos necessitam ser seguros, inertes, economicamente vantajosos e com carácter multifuncional [22], diminuindo assim a quantidade de excipientes a utilizar.

Os biofármacos sendo medicamentos com maior instabilidade, necessitam de excipientes que sejam capazes de prevenir a agregação, a adsorção às superfícies, controlar a osmolalidade, tonicidade e pH da formulação [22]. Os excipientes são utilizados em todas as formulações farmacêuticas, podendo ter, entre outras, funções de tamponamento, aumento da solubilidade, com ação tensioativa, aumento da estabilidade da formulação, melhorar a entrega de fármaco, propriedades de conservação, antioxidantes e de melhorar a segurança do medicamento [22].

#### **1.6.1.1. Agentes tampão**

Os agentes tampão, agentes capazes de resistir a mudanças de pH após a adição/produção de ácido ou base, são utilizados em diversas formulações derivadas de processos químicos, biotecnológicos entre outros. Os biofármacos são, habitualmente,

moléculas muito sensíveis, em que a acidificação ou alcalinização do meio, poderá ter impacto na sua estrutura e/ou função.

Deste modo, a escolha do agente tampão é uma tarefa que deve ser realizada com bastante cautela tendo em conta a concentração de sal, pH e composição iónica. No caso particular do RNA, a sua estabilidade depende diretamente do pH, sendo que este é mais estável no intervalo de 4-5 e a instabilidade aumenta a pH alcalino [23]. Por este motivo, é necessário o uso de excipientes com a capacidade de tamponamento, para garantir a estabilidade da formulação.

Na tabela 4, encontram-se alguns dos agentes tampão mais utilizados em formulações de biológicos e os respetivos pKa e intervalos de pH.

**Tabela 4-** Agentes tampão utilizados em formulações de biológicos (adaptado de [21]).

<b>Tampão</b>	<b>pKa</b>	<b>Intervalo de pH útil</b>
Fosfato	2.16, 7.21 e 12.32	6.2-8.2
Citrato	3.12, 4.76 e 6.40	2.1-7.4
Succinato	4.21 e 5.72	3.2-6.7
Acetato	4.76	3.8-5.8
Glicina	2.35 e 9.78	1.4-3.4
Histidina	1.80, 6.04 e 9.33	5.0-7.0

#### **1.6.1.2. Aminoácidos**

Os aminoácidos são utilizados como excipientes, devido às suas propriedades de estabilização. Os aminoácidos mais utilizados para a formulação de biofármacos são a histidina, arginina e glicina, sendo os mecanismos de estabilização associados ao seu papel de tamponamento das formulações, estabelecimento de interações não covalentes, aumento da solubilidade e ação como agentes de volume [24].

Na tabela 5, encontram-se esquematizados alguns dos aminoácidos mais utilizados.

**Tabela 5-** Exemplos de aminoácidos utilizados em formulações de biofármacos.

<b>Aminoácido</b>	<b>Função</b>
Histidina	Tamponamento Interações não-covalentes
Arginina	Solubilizador
Glicina	Tamponamento Agente de Volume Osmólito
Metionina	Antioxidante

### **1.6.1.3. Osmólitos**

Osmólitos são pequenas moléculas orgânicas, como hidratos de carbono, polióis, aminoácidos, metilaminas e ureia, que permitem que as biomoléculas possam resistir a condições de stress, nomeadamente concentrações altas de sal, desidratação, variações de pH e elevação de temperatura e pressão [8].

Apesar de existirem algumas evidências de o N-óxido de trimetilamina (TMAO) possuir a capacidade de estabilização em proteínas, o mesmo não acontece no caso de ácidos nucleicos. O efeito da TMAO no RNA é variado uma vez que é capaz de estabilizar a estrutura terciária do RNA, no entanto, destabiliza a sua estrutura secundária. Por outro lado, a ureia possui sempre um impacto desestabilizador na estrutura do RNA [25].

Alguns exemplos de osmólitos utilizados na estabilização de biológicos, encontrados na literatura são a sacarose, glicina, manitol, histidina entre outros [26].

### **1.6.1.4. Açúcares**

O grupo dos açúcares é utilizado em formulações farmacêuticas, de forma a manter a osmolalidade e tonicidade fisiológica e estabilizar fármacos dependendo da sua

concentração [9]. Este grupo é também bastante utilizado em formulações liofilizadas devido à sua capacidade de substituir a água [10].

Na literatura encontra-se referência ao sorbitol enquanto estabilizador de formulações, no entanto, este poderá induzir destabilização em alguma extensão, no caso de ser sujeito a cristalização. Existem também referências ao manitol, enquanto agente de volume em formulações liofilizadas. Para o armazenamento de biofármacos, é aconselhado o uso de misturas de manitol e sacarose [11].

#### **1.6.1.5. Polímeros**

A albumina sérica humana e gelatinas hidrolisadas derivadas de animais, são alguns dos exemplos de polímeros utilizados na estabilização de proteínas. Estes polímeros que eram inicialmente de origem natural, são agora produzidos de forma recombinante [24]. Existem ainda outros polímeros como o polietilenoglicol (PEG) e os polímeros de dextrano e glucose [28] que podem ser igualmente utilizados na estabilização de biomoléculas. Os polímeros, são eficazes na estabilização, durante ciclos de liofilização através de processos de exclusão molecular, modificação da tensão da superfície e para aumentar a viscosidade de forma que a mobilidade da biomolécula fique reduzida [28].

#### **1.6.1.6. Sais**

Esta classe de excipientes é utilizada sensivelmente pela sua capacidade de estabilizar proteínas, inibindo o desdobraimento das mesmas, uma vez que irá manter a tonicidade e fortificar as interações hidrofóbicas [22].

De forma a aumentar a estabilidade do RNA são habitualmente utilizados os catiões divalentes (como o  $Mg^{2+}$ ), catiões monovalentes (como por exemplo  $K^+$  e  $Na^+$ ) e aminas policationicas (como as poliaminas). Este aumento de estabilidade é proveniente da proteção do fosfato carregado negativamente presente na estrutura principal do RNA [12].

Habitualmente, o sal mais utilizado é o cloreto de sódio [24], no entanto poderão utilizar-se o sulfato de amónio, sulfato de magnésio, acetato de sódio, lactato de sódio, succinato de sódio, proprionato de sódio e fosfato de potássio [30].

### **1.6.1.7. Surfactantes**

Os surfactantes são moléculas que conferem boas características às formulações, sendo os surfactantes não iônicos os mais utilizados [24] porque previnem a adsorção das proteínas às superfícies, reduzem a agregação provocada pela agitação e previnem a desnaturação provocada pelo congelamento. Está descrito na literatura que os surfactantes não possuem um bom mecanismo de estabilização no que concerne à desnaturação provocada pelo aumento de temperatura. No entanto, grandes quantidades de surfactante, podem destabilizar as macromoléculas [30].

Os PSs 20 e 80 demonstraram propriedades adequadas para a proteção das biomoléculas contra agregação induzida pela agitação, congelamento, liofilização e reconstituição, em diversos estudos da literatura. No entanto, ambos os excipientes contêm na sua formulação peróxidos, que podem oxidar a proteínas [24].

Exemplos de mais surfactantes que poderão ser utilizados na estabilização de macromoléculas são o polaxamero 407 e 188, octoxinol-9, polioxetileno-(23) -lauril álcool, sulfato lauril de sódio [30].

### **1.6.1.8. Antioxidantes**

A oxidação em medicamentos armazenados é um processo comum, uma vez que pode ocorrer esta reação, catalisada por metais, em aminoácidos presentes na proteína, como é o caso da metionina (Met), cisteína (Cys), histidina (His) e triptofano (Trp) [24]. É frequente, em formulações contendo biológicos, a adição de lípidos e ácidos gordos de forma a estabilizar o fármaco, no entanto, estes compostos são suscetíveis à oxidação, sendo necessário inibi-la, através da adição de antioxidantes [30].

Para contornar este fator de instabilidade, existem antioxidantes disponíveis para formulações de biológicos como é o caso do ácido ascórbico, glutathione [30], EDTA [24]. Ainda assim, poderão adotar-se outras estratégias de minimização da oxidação, como por exemplo, procedendo à proteção da formulação do efeito da luz, otimização do pH assim como, adição de aminoácidos (Met, e His) que sofram mais facilmente oxidação, de forma a proteger a biomolécula alvo [24] sendo esta última medida, bastante utilizada em ácidos nucleicos.

### **1.6.1.9. Conservantes**

Perante formulações multidoses, independentemente de se tratar de um fármaco biológico ou não, é necessário recorrer-se a um excipiente com atividade conservante, de forma a garantir o não crescimento microbiológico [24], uma vez que se trata de formulações com exposição recorrente ao ar circundante.

No entanto, é comum necessitar-se de vários conservantes e com diversas concentrações para garantir a segurança da formulação [24]. Alguns exemplos dos excipientes com esta atividade, mais utilizados em formulações parentéricas inclui o fenol, álcool benzílico [22], sendo que será o álcool benzílico o mais utilizado no caso de biofármacos, dado que os compostos fenólicos, dependendo da sua concentração, poderão causar agregação das biomoléculas [24].

### **1.6.1.10. Polióis**

Este grupo engloba hidratos de carbono e álcoois polihídricos [30] tendo a capacidade de proteger contra o stress de congelamento através do aumento da tensão da água, tendo assim, uma ação crioprotetora [22]. Atuam ainda na estabilização de formulações líquidas e em processos de liofilização, assim como, através da prevenção da desnaturação de macromoléculas. Concentrações elevadas de polióis, poderão provocar a desnaturação de proteínas [30].

São exemplos de polióis utilizados na formulação de biofármacos as ciclodextrinas, manitol, sorbitol, glicerol, xilitol e inositol [30]. No entanto, existem alguns compostos deste grupo que possuem outros mecanismos de estabilização, como é o caso do glicerol, uma vez que provoca a solvatação da proteína em causa. As ciclodextrinas, previnem a agregação através do encapsulamento da macromolécula [30].

## **1.7. Formas alternativas de estabilização**

### **1.7.1. Líquidos Iónicos**

De forma a contornar a instabilidade inerente aos biofármacos, tem existido por parte da indústria farmacêutica, biotecnológica e centros de investigação, a pesquisa do uso de líquidos iónicos (LI) de forma a aumentar o tempo de prateleira do biológico.

Os LI são constituídos, por um catião volumoso e um anião fraco formando assim um sal orgânico [31]. Geralmente, estes LI possuem temperaturas de fusão menores, inferiores a 100°C, uma vez que não possuem uma estrutura cristalina bem definida [32], logo tratar-se-á de um sal à temperatura ambiente [33]. Devido à sua baixa temperatura de fusão, os LI tornam-se fortes candidatos à substituição de solventes orgânicos na indústria farmacêutica, de forma a evitar algumas das limitações ou desvantagens associadas aos solventes orgânicos, como são por exemplo a sua volatilidade e impacto causado no meio ambiente [34]. Os LI solubilizam uma grande quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos [34], demonstrando assim um grande potencial de estabilização de biomoléculas. Assim, a indústria tem enorme interesse nos LI uma vez que estes possuem diversas potencialidades. Poderão ser utilizados desde a solubilização de fármacos, entrega de fármacos, nano transportadores, estabilizadores de fármacos, ação antimicrobiana [32].

No caso das proteínas, e uma vez que os LI se comportam como co-solventes hidrofílicos, estes poderão interferir com as pontes de hidrogénio formadas, aumentando a estabilidade de proteínas [34]. Esta estabilidade advém de um controlo da estrutura e morfologia da proteína, permitindo a inibição da agregação [35] e desnaturação [36]. A interação que ocorre entre o LI e a proteína não é totalmente conhecida, no entanto, são levantadas hipóteses por parte dos investigadores da área. Pensa-se que, quando se formulam LI anfífilicos com moléculas hidrofílicas como é o caso de proteínas, se formam propriedades únicas, resultando maioritariamente num aumento de estabilidade [32]. De notar que existem também LI que poderão destabilizar o biofármaco ao invés de o estabilizar [33].

Aquando da escolha do LI, é necessário ter em consideração que a segurança se sobrepõe aos efeitos de estabilização, isto porque, alguns LI possuem propriedades excelentes no que concerne à estabilidade, no entanto, não são seguros havendo risco de citotoxicidade para o utente [2].

Biofármacos baseados em ácidos nucleicos são, habitualmente, estabilizados com LI baseados em colina, uma vez que este é um nutriente que possui uma boa biocompatibilidade, e permite a criação de pontes de hidrogénio. A colina é ainda reconhecida como um ingrediente seguro através da Food and Drug Administration (FDA), o que aumenta o interesse na sua utilização para a estabilização de produtos biológicos [2].

LI em concentrações elevadas em conjunto com a hidrofobicidade do seu catião são fatores que podem despoletar alterações conformacionais no DNA a nível da sua dupla hélice. No entanto, se o DNA for tratado com concentrações mais reduzidas de LI, poderão prevalecer algumas interações electrostáticas entre o catião do LI e os grupos fosfato do DNA resultando numa maior estabilização [13].

Dado que o RNA é mais suscetível à degradação em comparação com o DNA, foi realizado um estudo [12] em que se investigou quais os LI com maior capacidade de manter a integridade do RNA. Foi chegado à conclusão de que os LI baseados em colina [Ch][MES], [Ch][HEPES] não eram tóxicos para as células humanas e que possuíam a capacidade de manter a integridade do RNA, sem necessidade de refrigeração [12]

### **1.7.2. Solventes Eutéticos (DES)**

Para além dos líquidos iónicos, uma nova classe de solventes tem sido estudada, na tentativa de melhorar processos de solubilização e estabilização de biomoléculas, recorrendo a solventes com menor impacto ambiental [14]. Os Solventes Eutéticos (DES) são relatados como uma nova categoria de solventes sustentáveis não aquosos, não tóxicos, baratos, fáceis de preparar não necessitando de purificação após a sua síntese, tendo recebido a conotação de “*green solvent*” [15], [16].

Os Solventes Eutéticos, habitualmente conhecidos pela sua sigla inglesa DES (*Deep Eutectic Solvents*), reportados pela primeira vez na literatura em 2008 [15]. Consistem na combinação de duas ou mais moléculas, uma recetora de ligações de hidrogénio (HBR) e uma doadora de ligações de hidrogénio (HBD) misturadas a temperaturas superiores a oitenta graus Celsius (80 °C) [17], [18]. Tendo em conta a literatura, o HBR mais utilizado será um amónio quaternário como o cloreto de colina (ChCl) devido ao seu custo e característica de biodegradação[18], enquanto os HBD mais referidos são amidas ou álcoois como a ureia e glicerol [14]. Como o nome refere, as ligações entre HBR e HBD são principalmente ligações de hidrogénio, no entanto, existem ainda forças electrostáticas e ligações de *van der Waals* [17]. As vastas ligações de hidrogénio permitem a que os DES possuam baixos pontos de ebulição, baixa volatilidade, propriedades não inflamáveis, baixa pressão de vapor, estabilidade térmica e química, baixa toxicidade e elevada biodegradabilidade [17].

A grande maioria dos estudos de biofármacos com DES dizem respeito a proteínas terapêuticas, no entanto, encontra-se relatada a existência de interações entre o DES e

ácidos nucleicos. No caso de um DES em base de ChCl, os iões de colina estabelecem ligações com os átomos do DNA, formando assim uma rede de ligações de hidrogénio capaz de estabilizar a dupla hélice, de forma mais eficaz que os tampões aquosos tipicamente utilizados [18]. Considerando este potencial de estabilização do DNA, considera-se igualmente relevante o estudo da sua aplicação na estabilização e proteção de RNA.

## **2. Objetivo do trabalho**

Uma vez conhecidas as potencialidades do RNA enquanto polímero com ação terapêutica, verificou-se um crescente interesse na investigação relacionada com este tipo de biofármacos, de modo a explorar formas de contornar a sua degradação no organismo humano, melhorando também as condições de armazenamento.

Assim, foi definido como objetivo deste trabalho de investigação a avaliação de diferentes compostos que potencialmente poderiam ser utilizados como excipientes, capazes de estabilizar o RNA ao longo do tempo e ainda, proteger o RNA da degradação por parte de RNases.

Para a concretização deste trabalho, foram realizados ensaios com cloreto de colina livre, aminoácidos livres (alanina, arginina, metionina, cisteína, glicina, tirosina, triptofano e fenilalanina) e por fim DES, combinando o cloreto de colina com os diferentes aminoácidos. Foram escolhidas estas moléculas devido à existência de evidência científica no que concerne a propriedades de estabilização ou até mesmo de proteção. Logo, foi decidido testar DES com esta constituição devido ao potencial estabilizador/protetor dos constituintes em separado, de forma a entender qual o papel do DES na estabilização de RNA.

## 3. Materiais e Métodos

### 3.1. Materiais

Foi realizada a cultura da *Escherichia coli* DH5α em meio sólido e líquido de forma a promover o seu crescimento bacteriano essencial à produção de RNAs. Para o meio sólido, utilizou-se o meio de agar Luria-Bertani (LB) (Pronalab, Mexico) e para o meio líquido foi utilizada triptona (Biokar, França), extrato de levedura (Biokar, França), hidrogenofosfato de potássio (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) (Sigma-Aldrich, EUA), dihidrogenofosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Panreac, Espanha) e glicerol (Himedia, Germany). Em ambos os meios, foi adicionado o antibiótico, canamicina (Thermo Fischer Scientific Inc., EUA).

Durante o passo de extração foram utilizados os reagentes isopropanol (Thermo Fisher, EUA), fenol e cloreto de sódio (VWR, EUA), tiocianato, sal de N-laurolisarcosine de sódio, citrato de sódio, álcool isoamílico (Sigma-Aldrich, EUA). Todas as soluções usadas nos procedimentos de extração e ensaios de estabilização/proteção foram preparadas com água previamente tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) a 0,05% (Sigma-Aldrich, EUA).

### 3.2. Métodos

#### 3.2.1. Produção de RNA de baixo peso molecular

##### 3.2.1.1. Condições de crescimento da *Escherichia coli* DH5α

Para a obtenção do RNA foi realizada a cultura de *Escherichia coli* DH5α transformada com um plasmídeo contendo a sequência do pre-miR-9 humano (pBHSR1-RM-pre-miR-9). A cultura de *E. coli* foi inicialmente plaqueada em meio de LB-agar suplementado com 50 µg/mL canamicina, deixando-se durante dois dias a crescer, a 37 °C. Posteriormente, com a ajuda de uma ansa em *loop*, transferiu-se para um *Erlenmeyer* de 1 L, contendo 250 mL de meio de cultura Terrific Broth (TB) (12 g/L de triptona; 24 g/L de extrato de levedura; 0,017M de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,072M de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e 55 x 10<sup>-3</sup> M de glicerol) suplementado com 50 µg/mL canamicina, tendo-se incubado o meio de pré-fermentação a 37 °C e 250 RPM, durante 6 h. O crescimento de *E. coli* foi monitorizado utilizando o espectrofotômetro Pharmia Bioyech Ultrospec 3000 UV/visível, medindo a densidade ótica (DO) a 600 nm. Quando a DO era de aproximadamente 2.6, transferiu-se um volume previamente determinado para um *Erlenmeyer* de 1 L, contendo 250 mL de meio TB e o mesmo antibiótico.

O volume transferido para o meio de fermentação calculou-se da seguinte forma:  $V$  (pré-fermentação) =  $[DO$  (fermentação)  $\times V$  (fermentação)] /  $[DO$  (pré-fermentação) –  $DO$  (fermentação)], tendo em conta que a  $DO$  (fermentação) deverá ser de aproximadamente 0,2.

O crescimento de *E. coli* foi mantido durante 8 h com as mesmas condições do meio de pré-fermentação (37 °C e 250 RPM). Posteriormente, de forma a recuperar as células bacterianas, estas foram sujeitas a uma centrifugação (4000 g, 10 minutos, 4 °C). Os *pellets* formados, correspondentes a um volume de 100 mL de meio de fermentação, foram armazenados a -20 °C até à sua utilização.

### **3.2.1.2. Extração de RNA de baixo peso molecular**

A extração do RNA foi realizada considerando o método do tiocianato guanidínio-fenol-clorofórmio. Primeiro, ressuspende-se o *pellet* através da adição de 40 mL de NaCl 0,8%, transferindo-se para tubos de lise, cada um com 20 mL, seguindo-se uma centrifugação de 6000 g, a 4 °C, durante 10 minutos. Posteriormente, descartou-se o sobrenadante e adicionou-se 5 mL da solução mix D (4 M tiocianato guanidínio, 0,5% sódio N-lauril sarcosinato, 0,025 M citrato de sódio pH 7 e 0,1 M beta-mercaptoetanol) em cada tubo de lise, de forma a solubilizar o *pellet* formado após a centrifugação, incubando-se de seguida 10 minutos em gelo. Subsequentemente, adicionou-se 0,5 mL de acetato de sódio, homogeneizando-se muito lentamente. De seguida, adiciona-se também 5 mL de fenol e de igual forma, homogeneiza-se de forma muito cuidadosa. Entretanto, é preparado uma solução *mix* clorofórmio/álcool isoamílico (6 mL de clorofórmio e 0,1224 mL de álcool isoamílico) e adicionou-se 1 mL desta solução aos tubos de lise. Incubou-se durante 15 minutos no gelo e de seguida, faz-se uma centrifugação de 10000 g, durante 20 minutos a 4 °C. No passo seguinte retira-se a fase superior, rica em RNA, para outro tudo de lise e adiciona-se 5 mL de isopropanol, homogeneiza-se e centrifuga-se uma vez mais a 10000 g, durante 20 minutos, a 4 °C. De seguida, ressuspende-se o *pellet* em 1,5 mL de solução mix D, e posteriormente, adiciona-se também 1,5 mL de isopropanol homogeneizando-se e centrifugando a 10000 g, durante 10 minutos, a 4 °C. O sobrenadante é então descartado e o *pellet* ressuspendido em 2,5 mL de etanol 75% em água DEPC e incubado durante 15 minutos à temperatura ambiente. Descarta-se novamente o sobrenadante e deixa-se secar o *pellet* ao ar durante 10 minutos. Por fim, adiciona-se 1 mL de água DEPC e incuba-se à temperatura ambiente durante 15 minutos.

Seguidamente, através de eletroforese em gel de agarose, avaliou-se a pureza e integridade da amostra de RNA, assim como foi medida a concentração de RNA através de um nano fotómetro (IMPLEN). O armazenamento das amostras é feito a -80 °C até ao seu uso.

### **3.2.1.3. Eletroforese em gel de agarose**

Como referido anteriormente, as eletroforeses em gel de agarose têm como intuito analisar a integridade e pureza do RNA extraído previamente.

Este ensaio baseia-se numa eletroforese de gel agarose a 1 % [2 g de agarose e 200 mL de tampão TAE (40 mM base Tris, 20 mM ácido acético, 1 mM EDTA a pH de 8)] e ainda 2,4 µL de *Green Safe*. Todos os ensaios de eletroforese foram sujeitos a uma corrente de 140 V, durante 60 minutos, em tampão TAE. Por fim, os géis foram revelados utilizando luz UV recorrendo ao equipamento Uvitec Cambridge Fire-Reader.

## **3.2.2. Ensaios de estabilidade e Proteção**

### **3.2.2.1. Preparação de amostras de RNA**

Para o ensaios de estabilidade, as amostras de RNA foram preparadas na presença de compostos para os quais se pretende avaliar a capacidade de estabilização. As amostras de RNA foram preparadas em *ependorfs* de 1,5 mL, com um volume final de 40 µL.

Após a determinação da concentração de RNA obtido nas extrações, foi determinado o volume necessário para obter a concentração de 150 µg/mL para um volume final de 40 µL. Foi também preparada previamente, uma solução mãe de RNase de concentração 10 µg/mL. A partir da solução mãe de RNase, foi retirado o volume adequado de forma a obter no final da preparação uma concentração de 0,5 µg/mL para um volume final, também, de 40 µL. O restante volume foi completado com os potenciais excipientes em estudo, nomeadamente cloreto de colina, aminoácidos livres (fig. 4) e solventes eutécticos (DES), com as concentrações referidas nas tabelas 6, 7 e 8.

Os testes foram realizados após incubação à temperatura ambiente, por 0, 16 e 24 h.

**Tabela 6-** Excipientes utilizados no estudo 1: Cloreto de Colina.

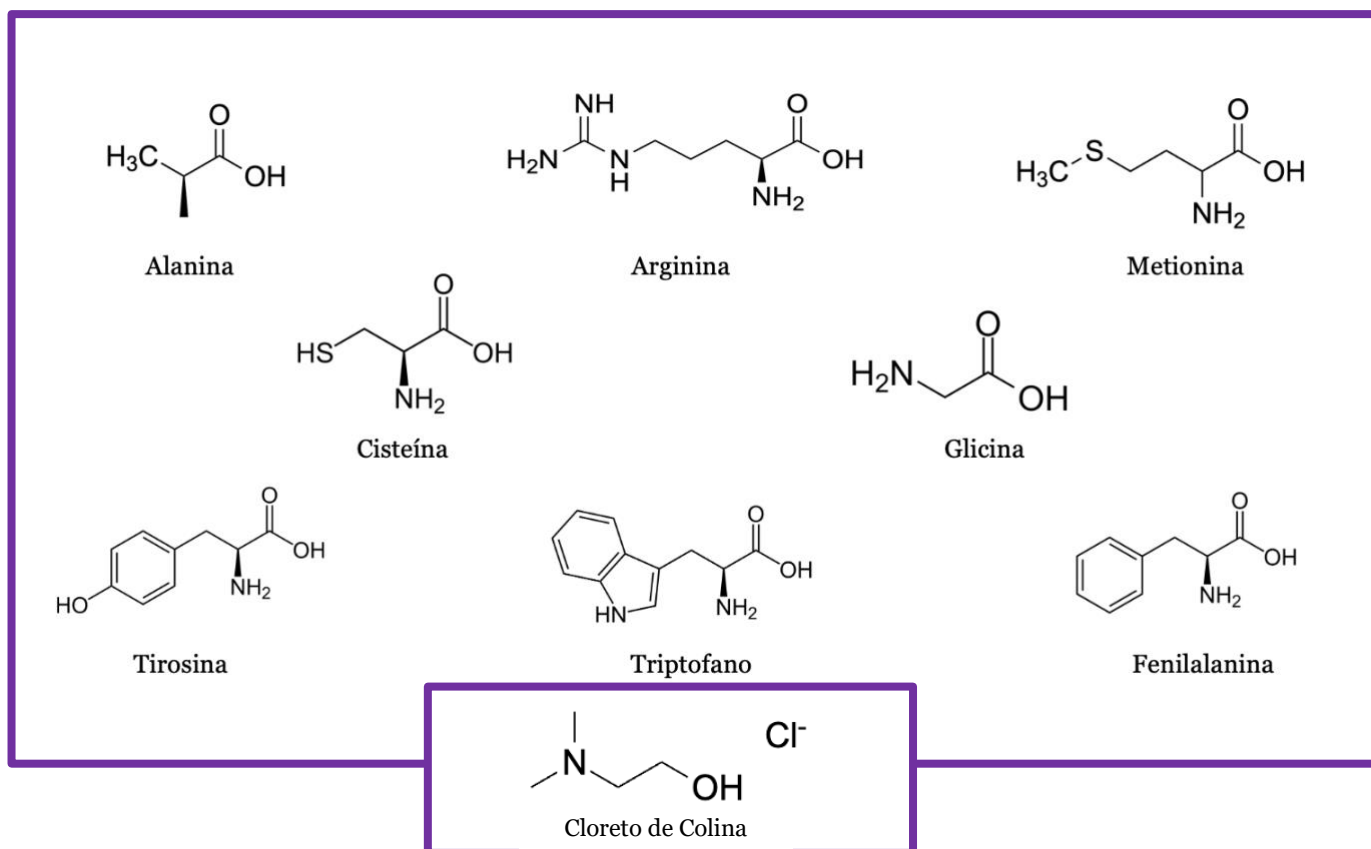
	<b>Excipientes</b>	<b>Concentração</b>
<b>Estudo 1</b>	Cloreto de Colina	4 mM
	Água estéril	-

**Tabela 7-** Excipientes utilizados no estudo 2: Aminoácidos Livres.

	<b>Excipientes</b>	<b>Concentração</b>
<b>Estudo 2</b>	Aminoácidos livres	4 mM
	Água estéril	-

**Tabela 8-** Excipientes utilizados no estudo 3: DES.

	<b>Excipientes</b>	<b>Concentração</b>
<b>Estudo 3</b>	Cloreto de Colina	4 mM
	Aminoácidos livres	4 mM
	DES	4 mM
	Água estéril	-



**Figura 4-** Estrutura química dos aminoácidos utilizados e do cloreto de colina.

### 3.2.2.2. Solventes Eutéticos Profundos (DES)

Como referido, neste trabalho foram utilizados solventes eutéticos profundos (DES) para avaliar a sua potencial ação na estabilização do RNA.

Os DES utilizados foram preparados a partir do cloreto de colina (ChCl) e oito aminoácidos, sendo eles alanina, arginina, metionina, glicina, tirosina, triptofano, fenilalanina e cisteína. No que concerne à preparação, o cloreto de colina e aminoácidos foram dissolvidos em água milli-Q separadamente, para uma concentração de 10 mM respetivamente. De seguida, foi calculado o volume necessário de cloreto de colina e aminoácido para alcançar um DES de concentração 5mM para um volume final de 10 mL. Após a preparação, as soluções foram armazenadas à temperatura de 4 °C até ao seu uso.

## **4. Resultados e Discussão**

### **4.1. Estabilização e proteção de RNA**

Ao longo do trabalho, foi avaliada a estabilidade e proteção de RNA de baixo peso molecular com o uso de diferentes compostos, através de eletroforese em gel de agarose. De salientar, que a estabilização de RNA ocorre quando existe uma manutenção da integridade do RNA na ausência de RNase ao longo do tempo, ao invés de proteção, que ocorre quando o RNA se mantém estável, ou não se encontra totalmente degradado, na presença de RNase.

Devido à potencialidade de estabilização descrita na literatura, foram utilizados para o ensaio, cloreto de colina livre [13], aminoácidos livres (alanina [13], arginina [19], metionina [20], cisteína [21], glicina [13], tirosina [19], triptofano [19] e fenilalanina [19]) e DES compostos por cloreto de colina em associação com os oito aminoácidos mencionados.

Como já foi referido, os biofármacos de uma forma geral, são moléculas bastante instáveis, representando um grande desafio de investigação, aumentar a sua estabilidade, tempo de prateleira, assim como melhorar as condições de armazenamento requeridas.

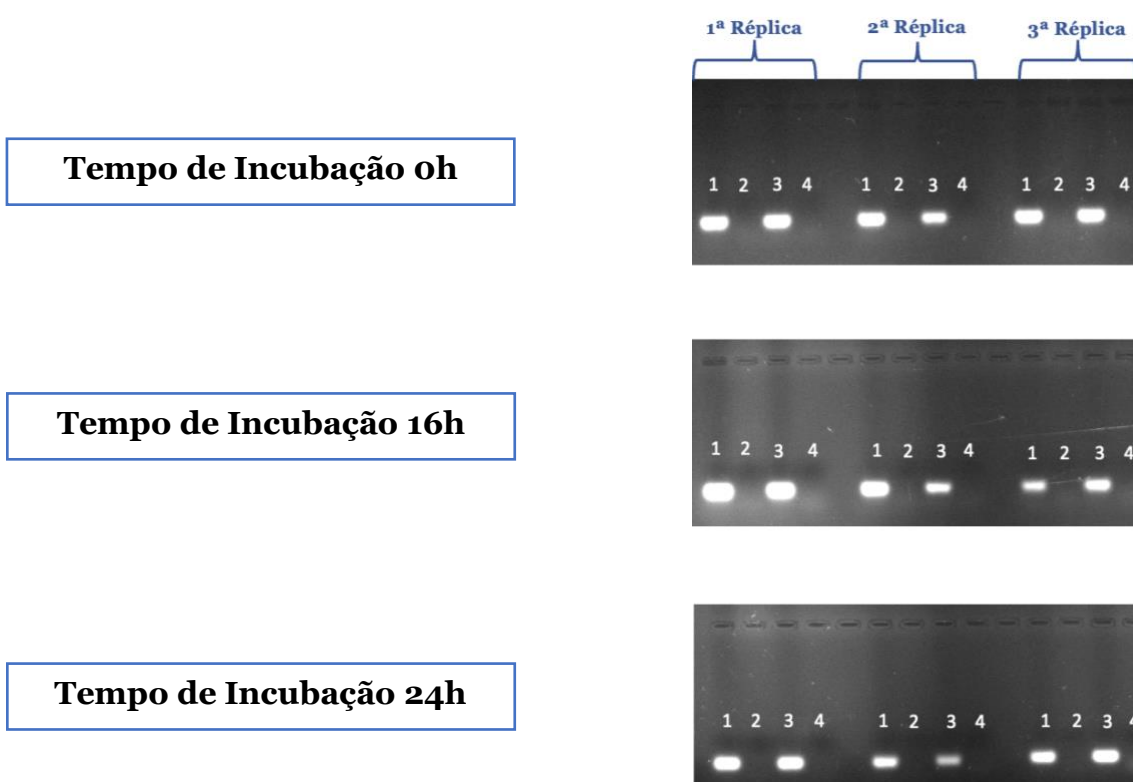
De forma a avaliar-se o potencial de diferentes compostos para estabilizar/proteger RNA, foram utilizadas amostras de RNA de baixo peso molecular como modelo, sendo a análise feita preliminarmente por eletroforese em gel de agarose. Este tipo de eletroforese possui um vasto leque de configurações possíveis, tendo em conta o tipo de moléculas a analisar (DNA, RNA, etc.) [22]. Apesar de o gel de agarose possuir uma baixa resolução, conta com uma boa capacidade de separação dos diferentes tipos de ácidos nucleicos, algo vantajoso para o trabalho em questão [22]. Atendendo ao facto de o RNA ser um biopolímero carregado negativamente, devido ao seu grupo fosfato, este irá migrar do pólo negativo para o positivo durante o ensaio de eletroforese.

O ensaio foi realizado por incubação do RNA com os diferentes compostos, previamente preparados com uma concentração de 4 mM, por três tempos distintos, 0, 16 e 24 horas.

De forma a validar os resultados foram utilizados em todos os estudos dois controlos, um positivo (apenas com RNA) e um negativo (RNA na presença de RNase).

#### 4.1.1. Influência do Cloreto de Colina na Estabilização/Proteção do RNA de baixo peso molecular na presença de RNase

Tendo em conta a literatura, o cloreto de colina é referenciado como um potencial excipiente candidato à estabilização de RNA [23]. O catião colina tem demonstrado capacidade para manter a integridade e melhorar a estabilidade do RNA [12], pelo que foi realizado um estudo (Fig.5) de forma a elucidar a possibilidade de estabilização/proteção do RNA (150 µg/mL) na presença de cloreto de colina (ChCl) a 4 mM. O RNA foi também sujeito à ação da RNase a 0,5 µg/mL, para avaliar o potencial de proteção em condições mais agressivas para a biomolécula.



**Figura 5- Estudo 1:Estabilização/proteção de RNA com o uso de ChCl 4 mM: 1- RNA livre 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + ChCl 4 mM; 4- RNA 150 µg/mL + ChCl 4 mM + RNase 0,5 µg/mL.**

Analisando os resultados obtidos, não é visível uma diferença significativa na banda correspondente ao RNA quando este se encontra na presença de ChCl. As bandas são bastante semelhantes ao controlo, de RNA em água (linhas 1), pelo que não se evidencia uma ação direta do ChCl. No entanto, em algumas réplicas de RNA+ ChCl+ RNase (linha 4 da eletroforese), particularmente na 1ª e 3ª réplica ao tempo de incubação 16h e na 3ª réplica ao tempo de incubação 24h, é possível observar-se uma banda ténue. Este

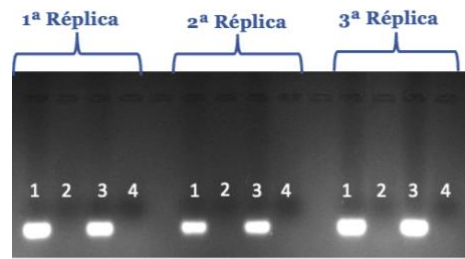
resultado pode indicar que o ChCl possui alguma capacidade para proteger o RNA da ação enzimática da RNase, não inibindo completamente a degradação do RNA. Estudos recentes, descrevem uma interação electrostática entre o catião colina e o grupo fosfato do DNA, como foi referido anteriormente [12], [13], assim como se encontra descrito que o anião cloreto se liga às bases citosina, guanina e adenina[24]. Tendo em conta o resultado obtido neste estudo, a mesma interação deverá ocorrer com o RNA, possibilitando a sua estabilização e proteção. Para uma análise mais detalhada do efeito estabilizador do ChCl, mais estudos deverão ser realizados, usando técnicas complementares mais direccionadas à avaliação da estrutura do RNA, como por exemplo recorrendo ao dicroísmo circular.

#### **4.1.2. Influência de Aminoácidos livres na Estabilização/Proteção do RNA de baixo peso molecular na presença de RNase**

Para o estudo da ação de aminoácidos na estabilização de RNA foram selecionados 8 aminoácidos, com base nas referências encontradas na literatura sobre a possível capacidade de estabilização/proteção destes excipientes e ainda através das suas características hidrofóbicas/hidrofílicas. Os aminoácidos têm vindo a ser cada vez mais utilizados em formulações farmacêuticas devido à sua segurança em humanos e pelas suas mais valias no processo de formulação de biológicos [19]. Este tipo de compostos está bem estudado na estabilização de proteínas, mas o efeito em ácidos nucleicos precisa ainda ser aprofundado.

Devido à quantidade de resultados provenientes do ensaio de eletroforese, estes foram divididos em dois grupos tendo em conta o potencial de estabilização e proteção dos aminoácidos. Os resultados obtidos para aminoácidos que não evidenciaram capacidade de estabilização do RNA, estão representados na Fig. 6 sendo que os resultados de aminoácidos com capacidade de estabilização de RNA estão representados na Fig. 7. As restantes imagens dos géis de eletroforese, encontram-se no anexo (Anexo VIII- Anexo XIII).

**Tempo de Incubação 0h**



**Tempo de Incubação 16h**



**Tempo de Incubação 24h**

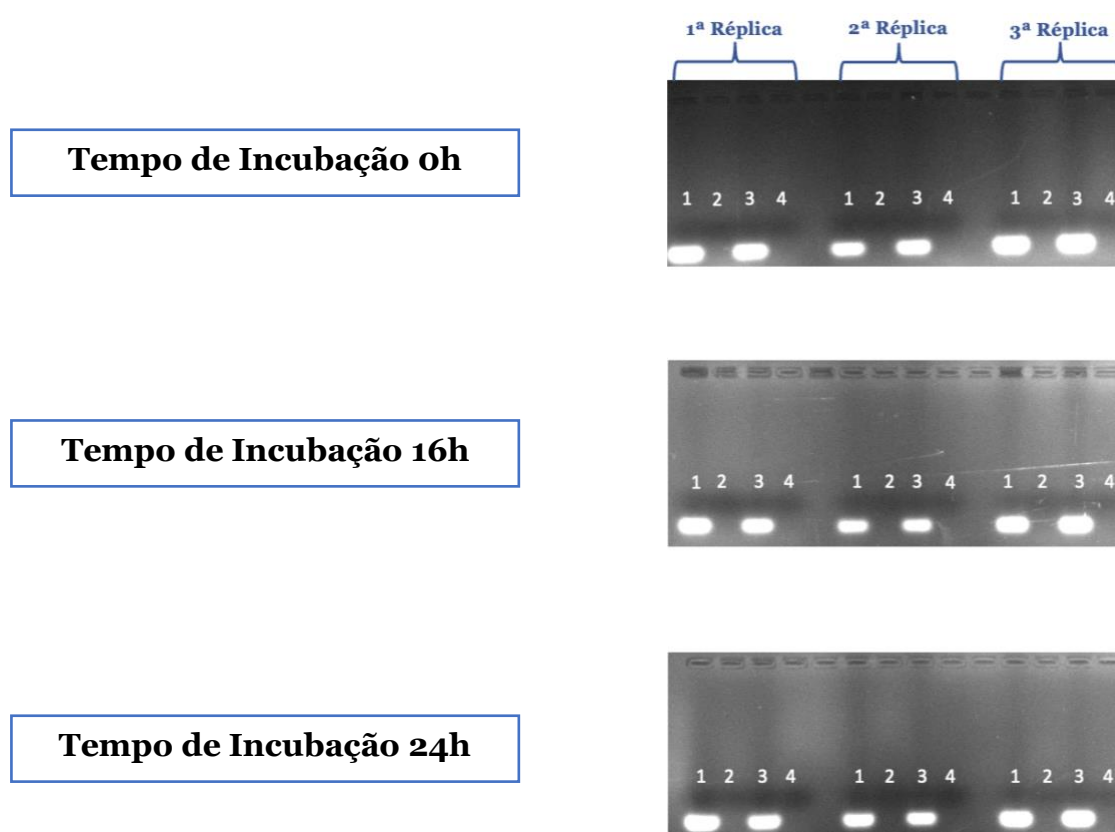


**Figura 6- Estudo 2: Estabilização/proteção de RNA com o uso de Arginina livre a 4 mM:** 1- RNA livre 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + Arg 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + Arg 4mM + RNase 0,5 µg/mL.

A Fig.6 representa a ação do aminoácido arginina na estabilização do RNA de baixo peso molecular, no entanto os resultados obtidos para glicina, cisteína, tirosina, triptofano, fenilalanina e alanina foram muito similares (Anexos VIII- XIII). A arginina, apesar de estar descrita com uma possível ação antioxidante [19], o seu maior efeito reside na capacidade de aumentar a solubilidade de biofármacos e diminuir a viscosidade de formulações concentradas [25]. No que concerne à glicina, este trabalha como agente tampão, abrangendo o intervalo de pH de 3 a 10, englobando o pH ótimo de estabilidade do RNA[25]. No caso do triptofano e tirosina, estes foram testados devido às suas características hidrofóbicas. Por este motivo, estes dois aminoácidos poderão causar alguma instabilidade no RNA, já que são capazes de expulsar água, diminuindo a solubilidade do biopolímero em questão [26]. A alanina, possui um possível mecanismo de estabilização diferente, dado que atua como um osmólito [27]. Devido à existência de um anel aromático na fenilalanina, este poderá ser um dos pontos chave na possível ação estabilizadora deste aminoácido, isto porque o anel poderá criar ligações estabilizadoras com os azotos constituintes do RNA [28]. Por fim, a cisteína é referida como um

aminoácido com potenciais características antioxidantes [29] e, apesar de o estudo em causa ter sido realizado à temperatura ambiente, a cisteína possui também características crioprotetoras [21].

Apesar das potencialidades dos aminoácidos referidos anteriormente, não se verifica uma diferença significativa na intensidade de banda do RNA quando os aminoácidos estão presentes, o que poderia revelar algum potencial de estabilização. Na realidade, em alguns casos, parece até existir uma perda de intensidade da banda referente aos poços de RNA + Aminoácido livre (3) à medida que o tempo de incubação aumenta. Da mesma maneira, em nenhuma das réplicas e tempos de incubação houve revelação de banda nos poços onde se encontrava o RNA + Aminoácido livre (Arg; Gly; Tyr; Trp; Phe; Ala; Cys) + RNase. Ou seja, estes aminoácidos livres, não possuem a capacidade de estabilizar nem proteger o RNA. Considerando o mecanismo de estabilização que é descrito na literatura, para cada um dos aminoácidos, seria interessante no futuro testar o efeito destes aminoácidos para outros parâmetros a considerar nas formulações, nomeadamente ação antioxidante, efeito tampão ou ação na solubilidade do RNA.



**Figura 7- Estudo 2: Estabilização/proteção de RNA com o uso de Metionina livre a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + Met 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + Met 4mM + RNase 0,5 µg/mL.

Em relação à metionina, sendo um aminoácido facilmente oxidável, é utilizado em formulações biológicas como antioxidante, isto porque, protege o biológico da oxidação, sofrendo mais rapidamente oxidação [19], [20], [25].

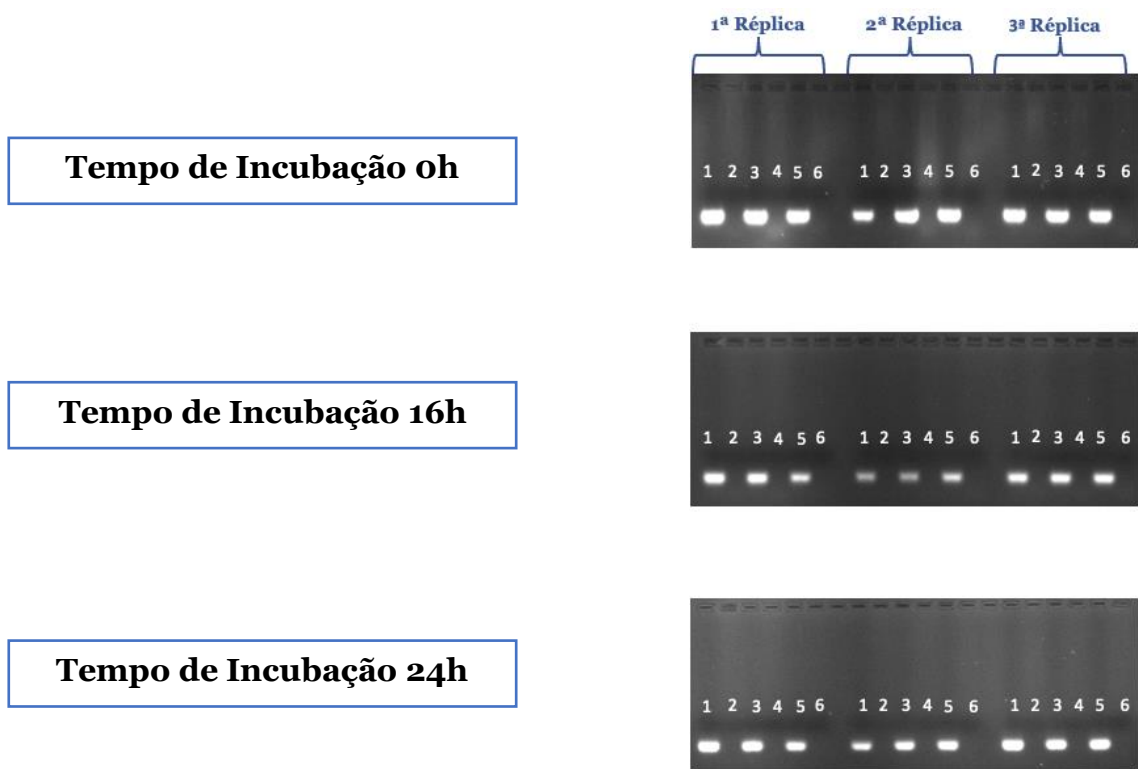
Através do gel apresentado na Fig.7 é perceptível a manutenção da intensidade da banda referente a RNA + Met, no entanto, não na banda RNA + Met + RNase, uma vez que a mesma já não é visível. Logo, conclui-se que a metionina é o aminoácido livre, que possui maior capacidade para estabilizar o RNA, não sendo, no entanto, suficiente para o proteger contra a ação da RNase.

### **4.1.3. Influência dos DES na Estabilização/Proteção do RNA de baixo peso molecular na presença de RNase**

Uma vez que não foram obtidos resultados muito favoráveis para a proteção do RNA com o cloreto de colina e aminoácidos na sua forma livre, o terceiro estudo consistiu na avaliação da estabilização / proteção do RNA utilizando solventes eutéticos profundos (DES), combinando estes elementos.

Como referido anteriormente, os DES são solventes sustentáveis, de fácil produção e com capacidade promissora de estabilização de ácidos nucleicos. No caso de DES baseados em cloreto de colina, o catião colina possui um papel imprescindível na estabilização de ácidos nucleicos devido à sua ligação aos grupos fosfato [18]. No presente trabalho foram testados oito DES diferentes, compostos por cloreto de colina e um aminoácido (arginina, glicina, metionina, tirosina, triptofano, fenilalanina, alanina ou cisteína). Os aminoácidos e cloreto de colina foram dissolvidos separadamente, de forma a aumentar a solubilidade de cada um deles.

Similarmente ao que foi feito nos resultados com aminoácidos livres, apenas os resultados mais representativos com DES são apresentados de seguida, estando os restantes resultados reunidos em anexo (Anexo XIV- Anexo XIX).



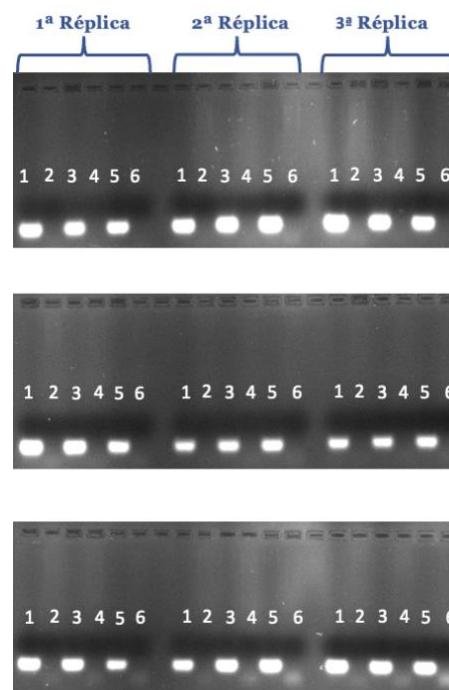
**Figura 8- Estudo 3: Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Met) a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM + RNase 0,5 µg/mL, 5-RNA 150 µg/mL + ChCl:Met 4mM; 6- RNA 150 µg/mL, + ChCl:Met 4mM + RNase 0,5 µg/mL

Os DES ChCl:Met e ChCl:Phe não promoveram a manutenção da integridade do RNA na ausência ou presença de RNase. No caso da metionina, único aminoácido que na sua forma livre foi capaz de estabilizar o RNA, tudo indica que a sua mistura com o cloreto de colina bloqueie a sua ação antioxidante, assim como é bloqueada a capacidade de o cloreto de colina se ligar à RNase. Assim, as misturas ChCl:Met e ChCl:Phe tratam-se de DES sem capacidade de estabilizar ou proteger o DNA.

**Tempo de Incubação 0h**

**Tempo de Incubação 16h**

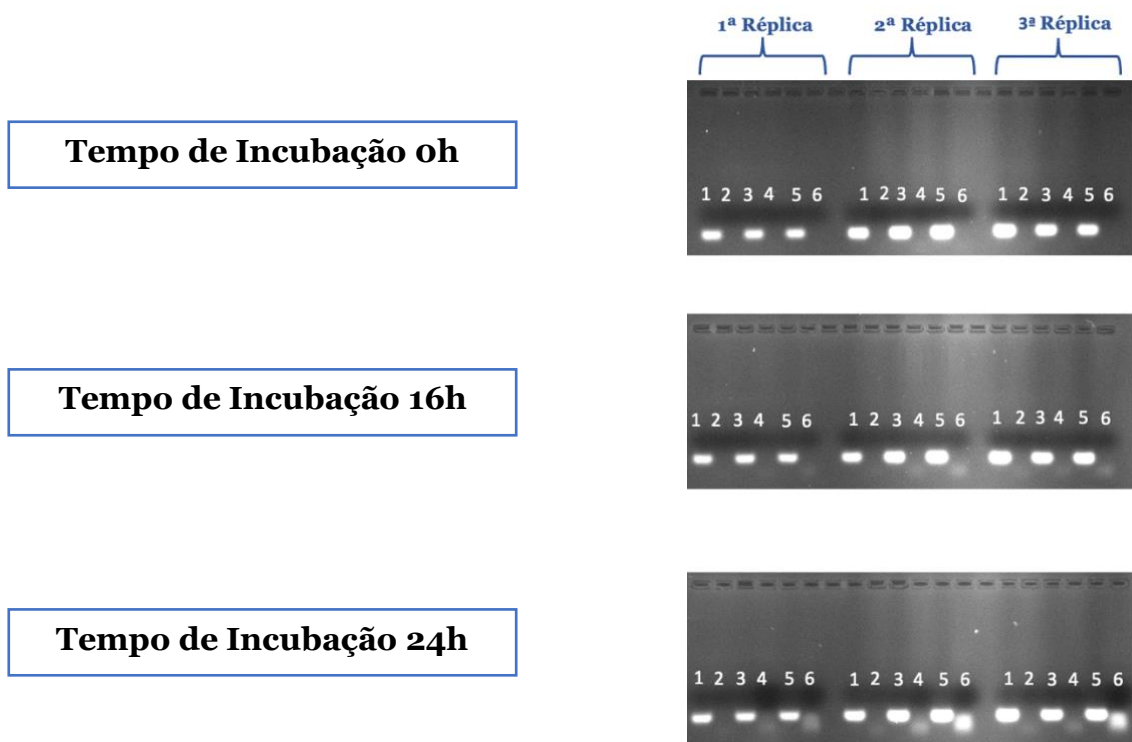
**Tempo de Incubação 24h**



**Figura 9 -Estudo 3: Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Tyr) a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM + RNase 0,5 µg/mL, 5-RNA 150 µg/mL + ChCl:Tyr 4mM; 6- RNA 150 µg/mL + ChCl:Tyr 4mM+ RNase 0,5 µg/mL

Na figura 9 estão representados os resultados obtidos para o DES ChCl:Tyr, mas estes resultados são também representativos do efeito obtido para o estudo com os DES ChCl:Arg; ChCl:Trp e ChCl:Gly (anexo XV- XVII). No que concerne à capacidade de estabilização do RNA por parte destes DES, é notório que as banda referentes ao poço nº5 (RNA + DES), se mantêm constantes ao longo do tempo. No entanto, no âmbito da proteção do RNA da ação da RNase, a conclusão do estudo não é tão linear. Apesar de existirem bandas de fraca intensidade no poço nº 6 em todas as réplicas após 24 h de incubação, estas não aparecem nos tempos de 0 h e 16 h. Para além disso, as bandas encontram-se a um nível inferior, sugerindo que possivelmente existiu alguma degradação do RNA.

Tendo em conta estes resultados é possível concluir que os DES referidos possuem a capacidade de manter a integridade do RNA no mínimo até 24 h à temperatura ambiente, no entanto, não é possível retirar conclusões sobre a ação protetora destes DES, devido à baixa intensidade da banda referente ao poço nº6 e pela presença de banda do poço nº2 em diversas réplicas.



**Figura 10- Estudo 3: Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Cys) a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM; 4- RNA 150 µg/mL, + ChCl 4mM + RNase 0,5 µg/mL, 5-RNA 150 µg/mL, + ChCl:Cys 4mM; 6- RNA 150 µg/mL + ChCl:Cys 4mM + RNase 0,5 µg/mL

Os resultados obtidos para o DES ChCl:Cys estão representados na Fig. 10, mas estes resultados são também representativos do efeito obtido para ChCl:Ala (anexo XIV). Este é o grupo que, considerando os resultados obtidos, possui as características mais promissoras para a estabilização e proteção de RNA. Em relação ao poço nº5 (RNA + DES) é salientável a preservação da intensidade da banda em todos os tempos de incubação e réplicas, levando a querer que as combinações de DES referidas, possuem a capacidade de estabilizar o RNA.

É também de assinalar a intensidade crescente ao longo do tempo referente ao poço nº6 (RNA + DES + RNase), obtendo-se uma intensidade às 24 h semelhante ao controlo positivo. Esta grande intensidade pode ser explicada tendo em conta evidências do grupo de investigação (resultados não publicados), devido à interação entre a cisteína e alanina com a RNase através de estudos de *Docking Molecular*. No caso do aminoácido cisteína, este consegue estabelecer pontes de hidrogénio e interações de *van der Waals* com os aminoácidos responsáveis pela atividade da enzima RNase (HIS<sub>12</sub> e HIS<sub>119</sub>), inibindo assim a sua atividade. O papel do aminoácido alanina passa primeiramente pela sua ação de osmólito, criando um efeito protetor. No entanto, a nível molecular, a alanina interage

com os aminoácidos da RNase responsáveis pela ligação ao RNA (THR<sub>45</sub>, PHE<sub>120</sub>, GLN<sub>11</sub>, ASP<sub>83</sub>), ficando por isso reduzida a sua ação. Ambos os mecanismos permitem que haja uma redução de atividade da RNase, protegendo o RNA. Contudo, de forma semelhante ao que aconteceu no grupo de DES representados na fig. 8 a banda revelada corresponde a espécies de menor peso molecular, que deverão ser analisadas. Esta banda referente às amostras de RNA + DES + RNase poderá dever-se não só à ação dos aminoácidos, mas devido à ação que o cloreto de colina tem perante a enzima RNase. Igualmente através de evidências do grupo de investigação (resultados não publicados) o cloreto de colina estabelece ligações com a RNase em dois locais chave, nos aminoácidos responsáveis pela atividade (HIS<sub>12</sub> e HIS<sub>119</sub>) e ainda interage com os aminoácidos da RNase responsáveis pela ligação ao RNA (THR<sub>45</sub>, PHE<sub>120</sub>, GLN<sub>11</sub>, ASP<sub>83</sub>). Os estudos realizados não permitem ainda avançar com uma explicação para este fenómeno, que deverá ser analisado em estudos futuros.

## 5. Conclusão e Perspetivas Futuras

O RNA é um polímero que tem vindo a ser muito estudado devido a todas as suas potencialidades enquanto molécula terapêutica, mencionadas ao longo deste estudo. No entanto, devido às suas características biológicas, trata-se de uma molécula bastante instável, dependendo diretamente das características do meio onde se encontra dissolvido, para aumentar a sua estabilidade.

Os DES têm sido uma das classes de *green solvents* mais estudados dadas as suas características sustentáveis e de fácil produção. Diversos estudos na área têm vindo a demonstrar também o potencial destes solventes enquanto estabilizadores de RNA.

Perante os resultados obtidos, verificou-se que o aminoácido metionina (Met) na sua forma livre foi capaz de estabilizar o RNA na ausência de RNases, possivelmente, devido às suas características antioxidantes. No estudo de DES, as misturas de cloreto de colina e alanina (ChCl:Ala) e cloreto de colina e cisteína (ChCl:Cys) foram as que obtiveram um melhor resultado no que diz respeito à estabilização e proteção do RNA na presença de RNase, devido às características dos aminoácidos e do cloreto de colina que quimicamente se podem ligar a pontos específicos na RNase, inibindo a sua ação.

Futuramente, deverão ser realizados mais ensaios de forma entender o real efeito dos DES na molécula de RNA, dado que a maioria dos estudos demonstraram um efeito no RNA que precisa ser mais esclarecido. Propõe-se a realização de dicroísmo circular de forma a avaliar a estrutura do RNA ao longo das 24 h com os DES utilizados, e de Ureia-PAGE para avaliar o peso molecular do RNA estabilizado e verificar se ocorre alguma alteração em termos de tamanho. Seria interessante a realização do mesmo ensaio noutra molécula de RNA, tal como o pre-miR-9, uma molécula terapêutica, que apresenta uma estrutura secundário bem definida e conhecida, de forma a comparar resultados e validar a ação dos agentes em estudo.

## 6. Referências Bibliográficas

- [1] D. Jain, S. S. Mahammad, P. P. Singh, and R. Kodipyaka, “A review on parenteral delivery of peptides and proteins,” *Drug Dev Ind Pharm*, vol. 45, no. 9, pp. 1403–1420, Sep. 2019, doi: 10.1080/03639045.2019.1628770.
- [2] M. E. Krause and E. Sahin, “Chemical and physical instabilities in manufacturing and storage of therapeutic proteins,” *Curr Opin Biotechnol*, vol. 60, pp. 159–167, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.copbio.2019.01.014.
- [3] S. Y. Patro, E. Freund, and B. S. Chang, “Protein formulation and fill-finish operations,” *Biotechnol Annu Rev*, vol. 8, 2002.
- [4] A. Butreddy, K. Y. Janga, S. Ajjarapu, S. Sarabu, and N. Dudhipala, “Instability of therapeutic proteins — An overview of stresses, stabilization mechanisms and analytical techniques involved in lyophilized proteins,” *Int J Biol Macromol*, vol. 167, pp. 309–325, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.188.
- [5] C. Rinoldi *et al.*, “Nanotechnology-Assisted RNA Delivery: From Nucleic Acid Therapeutics to COVID-19 Vaccines,” *Small Methods*, vol. 5, no. 9, Sep. 2021, doi: 10.1002/smt.202100402.
- [6] L. Jiang, P. Vader, and R. M. Schiffelers, “Extracellular vesicles for nucleic acid delivery: Progress and prospects for safe RNA-based gene therapy,” *Gene Ther*, vol. 24, no. 3, pp. 157–166, Mar. 2017, doi: 10.1038/gt.2017.8.
- [7] N. Subelzu and C. Schöneich, “Near UV and Visible Light Induce Iron-Dependent Photodegradation Reactions in Pharmaceutical Buffers: Mechanistic and Product Studies,” *Mol Pharm*, vol. 17, no. 11, pp. 4163–4179, Nov. 2020, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00639.
- [8] M. Gao, L. Arns, and R. Winter, “Modulation of the Thermodynamic Signatures of an RNA Thermometer by Osmolytes and Salts,” *Angewandte Chemie*, vol. 129, no. 9, pp. 2342–2346, Feb. 2017, doi: 10.1002/ange.201611843.
- [9] B. M. Rayaprolu, J. J. Strawser, and G. Anyarambhatla, “Excipients in parenteral formulations: selection considerations and effective utilization with small molecules and biologics,” *Drug Dev Ind Pharm*, vol. 44, no. 10, pp. 1565–1571, Oct. 2018, doi: 10.1080/03639045.2018.1483392.
- [10] M. J. Akers, “REVIEW Excipient-Drug Interactions in Parenteral Formulations,” *J Pharm Sci*, vol. 91, 2002, [Online]. Available: [www.fda.gov/cder/drug/iig/default.htm](http://www.fda.gov/cder/drug/iig/default.htm)
- [11] T. J. Kamerzell, R. Esfandiary, S. B. Joshi, C. R. Middaugh, and D. B. Volkin, “Protein-excipient interactions: Mechanisms and biophysical characterization

- applied to protein formulation development,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 63, no. 13, pp. 1118–1159, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.addr.2011.07.006.
- [12] A. Q. Pedro *et al.*, “Cholinium-Based Good’s Buffers Ionic Liquids as Remarkable Stabilizers and Recyclable Preservation Media for Recombinant Small RNAs,” *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 6, no. 12, pp. 16645–16656, Dec. 2018, doi: 10.1021/acssuschemeng.8b03900.
- [13] T. B. V. Dinis, F. Sousa, and M. G. Freire, “Insights on the DNA Stability in Aqueous Solutions of Ionic Liquids,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, Oct. 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.547857.
- [14] Y. Liu, Y. Wu, J. Liu, W. Wang, Q. Yang, and G. Yang, “Deep eutectic solvents: Recent advances in fabrication approaches and pharmaceutical applications,” *Int J Pharm*, vol. 622, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.121811.
- [15] N. Das, A. Kumar, and R. G. Rayavarapu, “The role of deep eutectic solvents and carrageenan in synthesizing biocompatible anisotropic metal nanoparticles,” *Beilstein Journal of Nanotechnology*, vol. 12, pp. 924–938, 2021, doi: 10.3762/bjnano.12.69.
- [16] R. R. Singh, T. J. Devi, T. J. Devi, and O. M. Singh, “Choline based deep eutectic solvent mediated Friedlander annulation: A sustainable and regiospecific approach to polysubstituted quinoline,” *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, vol. 5, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.crgsc.2022.100272.
- [17] Y. P. Mbous, M. Hayyan, A. Hayyan, W. F. Wong, M. A. Hashim, and C. Y. Looi, “Applications of deep eutectic solvents in biotechnology and bioengineering—Promises and challenges,” *Biotechnol Adv*, vol. 35, no. 2, pp. 105–134, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.11.006.
- [18] R. Svegliel, N. Dossi, C. Grazioli, and R. Toniolo, “Deep eutectic solvents (Dess) and their application in biosensor development,” *Sensors*, vol. 21, no. 13, Jul. 2021, doi: 10.3390/s21134263.
- [19] E. Y. Chi, “Excipients used in Biotechnology Products,” in *Pharmaceutical Excipients: Properties, Functionality, and Applications in Research and Industry*, 2017, pp. 145–198.
- [20] X. M. Lam X, J. Y. Yang, and J. L. Cleland, “Antioxidants for Prevention of Methionine Oxidation in Recombinant Monoclonal Antibody HER2,” *J Pharm Sci*, vol. 86, 1997.
- [21] A. Hauptmann, G. Hoelzl, and T. Loerting, “Optical cryomicroscopy and differential scanning calorimetry of buffer solutions containing cryoprotectants,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 163, pp. 127–140, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.ejpb.2021.03.015.

- [22] M. R. Green and J. Sambrook, “Analysis of DNA by agarose gel electrophoresis,” *Cold Spring Harb Protoc*, vol. 2019, no. 1, pp. 6–15, Jan. 2019, doi: 10.1101/pdb.top100388.
- [23] K. D. Tulsiyan, S. Jena, M. González-Viegas, R. K. Kar, and H. S. Biswal, “Structural Dynamics of RNA in the Presence of Choline Amino Acid Based Ionic Liquid: A Spectroscopic and Computational Outlook,” *ACS Cent Sci*, vol. 7, no. 10, pp. 1688–1697, Oct. 2021, doi: 10.1021/acscentsci.1c00768.
- [24] H. Zhao, “DNA stability in ionic liquids and deep eutectic solvents,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 90, no. 1, pp. 19–25, Jan. 2015, doi: 10.1002/jctb.4511.
- [25] T. J. Kamerzell, R. Esfandiary, S. B. Joshi, C. R. Middaugh, and D. B. Volkin, “Protein-excipient interactions: Mechanisms and biophysical characterization applied to protein formulation development,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 63, no. 13, pp. 1118–1159, Oct. 2011, doi: 10.1016/j.addr.2011.07.006.
- [26] M. A. Moret and G. F. Zebende, “Amino acid hydrophobicity and accessible surface area,” *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, vol. 75, no. 1, 2007, doi: 10.1103/PhysRevE.75.011920.
- [27] T. Arakawa and S. N. Timasheff, “The stabilization of proteins by osmolytes,” *Biophys J*, vol. 47, no. 3, pp. 411–414, 1985, doi: 10.1016/S0006-3495(85)83932-1.
- [28] K. L. Copeland, J. A. Anderson, A. R. Farley, J. R. Cox, and G. S. Tschumper, “Probing phenylalanine/adenine  $\pi$ -stacking interactions in protein complexes with explicitly correlated and CCSD(T) computations,” *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 112, no. 45, pp. 14291–14295, Nov. 2008, doi: 10.1021/jp805528v.
- [29] Tim J. Kamerzell, Reza Esfandiary, Sangeeta B. Joshi, C. Russell Middaugh, and David B. Volkin, “Protein–excipient interactions: Mechanisms and biophysical characterization applied to protein formulation developmen,” *Adv Drug Deliv Rev*, 2011.



# Anexos

## Capítulo I

### Anexo I- Regimes Excepcionais de Participação [11]

Patologia Especial	Âmbito	Dispensa	Comp.	Legislação
Doença de Alzheimer	Medicamentos referidos no Despacho n.º 13020/2011, de 20 de setembro	Farmácia comunitária	37%	Despacho n.º 13020/2011, de 20 de setembro
Artrite reumatóide, Artrite idiopática juvenil, Artrite psoriática e Espondiloartrites	Medicamentos referidos na Portaria n.º 281/2017 de 21 de setembro	Farmácia comunitária	100%	Portaria n.º 281/2017 de 21 de setembro
Doença inflamatória intestinal	Medicamentos referidos no Despacho n.º 1234/2007, de 29 de dezembro, na sua redação atual	Farmácia comunitária	90%	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
Dor oncológica moderada a forte	Medicamentos referidos na Portaria n.º 331/2016, de 22 de dezembro	Farmácia comunitária	90%	Portaria n.º 331/2016, de 22 de dezembro
Procriação medicamente assistida	Medicamentos referidos no Despacho n.º 10910/2009, de 22 de Abril, na sua redação atual	Farmácia comunitária	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
Dor crónica não oncológica moderada a forte	Medicamentos referidos na Portaria n.º 329/2016, de 20 de dezembro	Farmácia comunitária	90%	Portaria n.º 329/2016, de 20 de dezembro
Hemofilia	Medicamentos comparticipados	Farmácia comunitária	100%	Despacho n.º 11387-A/2003, de 23 de maio
Hemoglobinopatia	Medicamentos comparticipados	Farmácia comunitária	100%	Despacho n.º 11387-A/2003, de 23 de maio
Lúpus	Medicamentos comparticipados	Farmácia comunitária	100%	Despacho n.º 11387-A/2003, de 23 de maio

Psicose maníaco-depressiva	Medicamentos referidos no Despacho n.º 21094/99, de 14 de setembro	Farmácia comunitária	100%	Despacho n.º 21094/99, de 14 de setembro
Lctiose	Medicamentos referidos no Despacho n.º 5635-A/2014, de 24 de abril	Farmácia comunitária	90%	Despacho n.º 5635-A/2014, de 24 de abril
Psoríase	Medicamentos referidos na Lei n.º 6/2010 de 7 de maio	Farmácia comunitária	90%	Lei n.º 6/2010, de 07/05
Paramiloidose	Todos os medicamentos	Farmácia comunitária	100%	Despacho 4521/2001 de 31 de janeiro

**Figura 11-** Lista de regimes excecionais de comparticipação em contexto de farmácia comunitária.

## Anexo II- Situações passivas de automedicação [12]

### Lista de situações passíveis de automedicação

Sistema	Situações passíveis de automedicação (termos técnicos)
Digestivo . . . . .	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Diarreia.</li> <li>b) Hemorróidas (diagnóstico confirmado).</li> <li>c) Pirose, enfartamento, flatulência.</li> <li>d) Obstipação.</li> <li>e) Vômitos, enjoo do movimento.</li> <li>f) Higiene oral e da orofaringe.</li> <li>g) Endoparasitoses intestinais.</li> <li>h) Estomatites (excluindo graves) e gengivites.</li> <li>i) Odontalgias.</li> <li>j) Profilaxia da cárie dentária.</li> <li>k) Candidíase oral recorrente com diagnóstico médico prévio.</li> <li>l) Modificação dos termos de higiene oral por desinfecção oral.</li> <li>m) Estomatite aftosa.</li> </ul>
Respiratório . . .	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Sintomatologia associada a estados gripais e constipações.</li> <li>b) Odinofagia, faringite (excluindo amigdalite).</li> <li>c) Rinorreia e congestão nasal.</li> <li>d) Tosse e rouquidão.</li> <li>e) Tratamento sintomático da rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio.</li> <li>f) Adjuvante mucolítico do tratamento antibacteriano das infeções respiratórias em presença de hiperssecreção brônquica</li> <li>g) Prevenção e tratamento da rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio (corticóide em inalador nasal) .</li> </ul>
Cutâneo . . . . .	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Queimaduras de 1.º grau, incluindo solares.</li> <li>b) Verrugas.</li> <li>c) Acne ligeiro a moderado.</li> <li>d) Desinfecção e higiene da pele e mucosas.</li> </ul>

Sistema	Situações passíveis de automedicação (termos técnicos)
	<ul style="list-style-type: none"> <li>e) Micoses interdigitais.</li> <li>f) Ectoparasitoses.</li> <li>g) Picadas de insectos.</li> <li>h) <i>Pitiríase capitis</i> (caspa).</li> <li>i) Herpes labial.</li> <li>j) Feridas superficiais.</li> <li>l) Dermatite das fraldas.</li> <li>m) Seborreia.</li> <li>n) Alopecia.</li> <li>o) Calos e calosidades.</li> <li>p) Frieiras.</li> <li>q) Tratamento da pitiríase versicolor.</li> <li>r) Candidíase balânica.</li> <li>s) Anestesia tópica em mucosas e pele nomeadamente mucosa oral e rectal.</li> <li>t) Tratamento sintomático localizado de eczema e dermatite com diagnóstico médico prévio.</li> </ul>
Nervoso/psíquico	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Cefaleias ligeiras a moderadas.</li> <li>b) Tratamento da dependência da nicotina para alívio dos sintomas de privação desta substância em pessoas que desejem deixar de fumar.</li> <li>c) Enxaqueca com diagnóstico médico prévio.</li> <li>d) Ansiedade ligeira temporária.</li> <li>e) Dificuldade temporária em adormecer.</li> </ul>
Muscular/ósseo	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Dores musculares ligeiras a moderadas.</li> <li>b) Contusões.</li> <li>c) Dores pós-traumáticas.</li> <li>d) Dores reumáticas ligeiras a moderadas (osteoartrite/osteoartrite).</li> <li>e) Dores articulares ligeiras a moderadas.</li> <li>f) Tratamento tópico de sinovites, artrites (não infecciosas), bursites, tendinites.</li> <li>g) Inflamação moderada de origem músculo-esquelética nomeadamente pós-traumática ou de origem reumática.</li> </ul>
Geral . . . . .	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Febre (menos de três dias).</li> <li>b) Estados de astenia de causa identificada.</li> <li>c) Prevenção de avitaminoses.</li> </ul>
Ocular . . . . .	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Hipossecção conjuntival, irritação ocular de duração inferior a três dias.</li> <li>b) Tratamento preventivo da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio.</li> <li>c) Tratamento sintomático da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio.</li> </ul>
Ginecológico . . .	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Dismenorreia primária.</li> <li>b) Contraceção de emergência.</li> <li>c) Métodos contraceptivos de barreira e químicos.</li> <li>d) Higiene vaginal.</li> <li>e) Modificação dos termos de higiene vaginal por desinfecção vaginal.</li> <li>f) Candidíase vaginal recorrente com diagnóstico médico prévio. Situação clínica caracterizada por corrimento vaginal esbranquiçado, acompanhado de prurido vaginal e habitualmente com exarcebação pré-menstrual.</li> <li>g) Terapêutica tópica nas alterações tróficas do tracto génito-urinário inferior acompanhadas de queixas vaginais como disparêunia, secura e prurido.</li> </ul>
Vascular . . . . .	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Síndrome varicosa — terapêutica tópica adjuvante.</li> <li>b) Tratamento sintomático por via oral da insuficiência venosa crónica (com descrição de sintomatologia).</li> </ul>

**Figura 12-** Lista de situações passivas de automedicação.

## Anexo III- Formação “Proteção Solar da Teoria à Prática”

### Proteção Solar

Da teoria à prática

Farmácia Ferreira da Silva

Bárbara Pais e Ângela Campos



### Radiação- Espectro Eletromagnético -Radiação Solar



- 45% Radiação Infravermelha (IV/IR)
  - **IRA** (740–1400 nm), **IRB** (1400–3000 nm) and **IRC** (3000 nm–1 mm)
- 50% Radiação Visível
- 5% Radiação Ultravioleta
  - **UVA** (320–400 nm) 95% de toda a radiação UV
  - **UVB** - (280–320 nm) 5%
  - **UVC** - (100–280 nm)– não atinge a superfície da terra nem a pele

### Efeito Biológico da Radiação

- < Comprimento de Onda > Energia
- > Comprimento de Onda > penetração
  - radiações de menor energia (logo maior  $\lambda$ ) têm menor reatividade (menos efeitos biológicos)
  - Luz visível – cerca de 20% atinge a hipoderme
  - IR + Luz visível – funções de aquecimento da pele

### Luz Azul

- Diminuição na renovação celular
- Diminuição na migração dos fibroblastos
- Criação de Radicais livres → Degradação de colágeno e fibras elásticas

↓

Processo de Envelhecimento Cutâneo

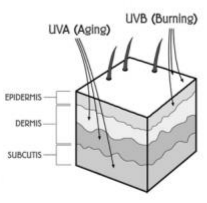
Óxido de Zinco- Importante na proteção contra a luz Azul

### Em termos Práticos

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Anti-depressivo” Natural</li> <li>• Promove a produção de Vitamina D</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Produção de mancha cutânea</li> <li>• Imunossupressão Cutânea</li> <li>• Envelhecimento cutâneo</li> <li>• Queimadura Solar</li> <li>• Carcinogenicidade cutânea</li> </ul>

### Como varia a intensidade da radiação?

- Hora do dia
- Estação do ano – máximo Verão (variação depende da latitude) – mas tem efeito todo o ano
- Latitude – (máxima no equador)
- Altitude – (por cada Km -10-25% de aumento de irradiância)
- Superfícies refletoras – neve e gelo (menor para a areia)
- Condições meteorológicas (nuvens)



**UVA (Aging) UVB (Burning)**

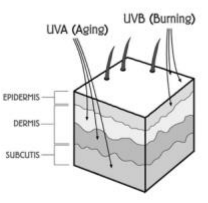
**UVA: Menor energia, maior penetração**

Contribui para o bronzeamento e fotoenvelhecimento (efeito acumulado)

Menos afetada pelo efeito de filtro da atmosfera e por isso não varia significativamente com hora do dia e estações → Efeitos na pele todo o ano

↓

Proteção é muito importante!



**UVA (Aging) UVB (Burning)**

**UVB: Maior energia, menor penetração**

- Resposta imediata de proteção: rubor (espessamento da epiderme (proteção contra efeitos da radiação))

- Contribui para o bronzeado

- Contribui para o fotoenvelhecimento

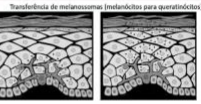
**Eritema-** Resposta Inflamatória

BRONZEADO

Mecanismo de defesa da pele

Pigmentação imediata – fenômeno de **Meirowski**, por oxidação das pré-melaninas (desaparece 6-8h depois), por **UVA**

Pigmentação retardada – por ação da **UVB**



The Fitzpatrick Scale



FPS / SPF



É a relação entre a dose mínima de radiação UVB que causa eritema na pele quando protegida por um protetor solar e a dose mínima de radiação UVB que causa o eritema na mesma pele, quando desprotegida

FPS = DEM com protetor solar / DEM sem protetor solar

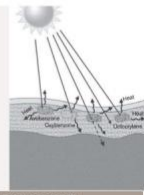
Diz apenas respeito ao UVB (Eritema)



Filtros Solares

Filtros Químicos (orgânicos)

Atuam através da absorção da radiação UV convertendo essa energia em radiação de maior comprimento de onda (menor energia).



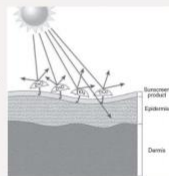
Radiação UVA / UVB	Radiação UVB
Avobenzona; Oxibenzona; Ecamsul	Octocrylene PEG-25 PABA; PARSOL 5000; Octinoxato

Filtros Solares

Filtros Físicos "minerais"

Refletem e dispersam a radiação UV  
 Ingredientes comuns: Dióxido de Titânio e o Óxido de Zinco

Bom perfil de segurança  
 Espectro alargado (UVA e UVB)



Desvantagem: efeito "mascara" -> Formulações com ingredientes "nano"

A quem aconselhar?

- Crianças (< 1ano)
- Barreira Cutânea Fragilizada
- Doentes Oncológicos

ATENÇÃO: É NECESSÁRIO AGITAR BEM !



Os protetores solares causam deficiência em vitamina D?

A síntese de vitamina D requer exposição cutânea à radiação UVB.

Aplicação regular de PS origina níveis insuficientes de vitamina D ? Não é consensual

No entanto, idosos, indivíduos de tez escura, com fotossensibilidade, obesos ou indivíduos que habitem em latitudes mais a norte, que utilizem regularmente PS podem necessitar de suplementação com colesterciferol.

Ingredientes Proibidos para a alegação:

- Oxybenzona
- Octinoxato
- Octocryleno
- Homosalato
- 4-methylbenzylidene camphor (PARSOL 5000)
- PABA
- Parabenos
- Triclosan
- Zinco ou Titânio em tamanho "nano"

"Reef Safe"  
 "Ocean Protect"  
 "Ocean Friendly"

## Aconselhamentos ao balcão

- **Quantidade a aplicar de Protetor Solar**
  - Rosto: Equivalente a 2 dedos
  - Corpo: 36 g equivalente a 6 colheres de sopa
- **Solários?**
  - As lâmpadas de solário emitem uma dose de UVA 12x superior ao sol.
  - O uso dos solários é associado a um aumento de cancro de pele em idade jovem (<25 anos)

**Aconselhar:** Autobronzeadores e/ou suplementação

- **Zonas críticas**
  - Pés
  - Escalpe
  - Orelhas
  - Parte detrás dos joelhos
  - Lábios
- **Reaplicar** no mínimo a cada **2h** ou após cada banho ou quando existir muita transpiração

**ATENÇÃO: É NECESSÁRIO AGITAR BEM!**

## Fotoprotetores de tratamento e os seus ingredientes



### ANTI-ENVELHECIMENTO



- Ácido Hialurónico
- Pré-Resorcinol
- Niacinamida
- Ácido Hialurónico
- Reparadores de DNA (Eryfotona)
- Péptido Q10
- Péptido estimulador de colagénico
- Ferblock+
- Glicosilases
- Complexo Anti envelhecimento: Ácido hialurónico, Serina, Trealose

### ANTI-ENVELHECIMENTO



- Ascopyllina™
- Pró-Vitamina E
- Proturina
- Ácido Hialurónico
- Péptido ativador do Bronzeado
- Péptidos,
- Niacinamida,
- Frações de Probióticos,
- Água Vulcânica Vichy

### ANTI-MANCHAS



- Niacinamida
- Procerad™
- Ferblock+
- Glicosilases
- Niacinamida
- Ácido Elágico

### ANTI-MANCHAS



- DP3-Unify Complex
- Ácido Hialurónico
- Ácido Hialurónico
- Alantoína

### ALERGIA SOLAR



- Ectoina a 1%
- Calmanella
- Feverfew PFE

### PELE COM IMPERFEIÇÕES



- FLUIDACTIVTM
- Ácido Salicílico
- Pós matificantes
- FLUIDACTIVTM
- Ácido Salicílico
- AHA
- Pós matificantes
- Ácido Salicílico
- Niacinamida
- Zinco
- Arlicum

# CASOS PRÁTICOS

Em contexto de Farmácia Comunitária



## Casos Práticos

A Maria chega à farmácia e pergunta como é que pode proteger a sua nova tatuagem do sol?

Nas primeiras 4 semanas-> A pele ainda está em processo de cicatrização

Grande Risco de hiperpigmentação



## Casos Práticos

O João tem 25 anos e dirige-se à farmácia e diz que faz acnatac à noite e o medico aconselhou o uso de um protetor solar diariamente. No entanto, o João diz que não gosta de sentir creme no rosto (película).

Qual o produto que se aconselharia neste caso?



## Casos Práticos

A Joana tem 18 anos e queixa-se da sua pele, uma vez que é muito oleosa. Vai de férias e procura um protetor solar que possa substituir o seu cuidado diário matificante.



### Casos Práticos

A Maria tem 35 anos e diz à farmacêutica que sempre que apanha sol, lhe aparecem umas borbulhas e manchas que lhe dão muita comichão. Já lhe disseram que possivelmente terá uma alergia ao sol.

Que produto se deve aconselhar?



Suplementação: 15 dias antes de exposição

### Casos Práticos

A Joana com 40 anos tem a pele com zonas hiperpigmentadas que agravam sempre no verão, apesar de todos os cuidados que tem diariamente.

Pergunta qual o tratamento mais indicado para evitar o agravamento desta situação.



Sticks Invisíveis  
Proteção local



### Reaplicação Fácil



## Casos Práticos

O Francisco vem à Farmácia à procura de um protetor solar. Diz que é surfista e que quer um protetor resistente, indicado para o contacto constante com a água.



Sticks com cor



## Casos Práticos

A Sara tem 30 anos, gosta de uma rotina prática e com poucos produtos. No verão ela quer usar um protetor solar, mas não queria descurar da cobertura de uma base.

Já a mãe da Sara prefere o efeito de pele saudável sem grande cobertura.

Quais os produtos a recomendar a cada uma delas?



## Casos Práticos

A Margarida está grávida e sabe que tem maior probabilidade de desenvolver melasma. Pergunta se existe algum protetor indicado para grávidas, capaz de diminuir a probabilidade desta condição dermatológica.



### Casos Práticos

O Senhor João dirige-se à sua farmácia habitual com alguma preocupação devido a umas lesões que lhe têm aparecido na zona do couro cabeludo e orelhas.

Pede ajuda e aconselhamento farmacêutico.



### O que é a Queratose Actínica ?

Caracteriza-se por uma área da pele **avermelhada**, esporadicamente **esbranquiçada**, com **textura de papel de areia**, podendo apresentar **alguma dor ou prurido**.

Podem ser lesões subclínicas ( não visíveis ), apenas sentidas ao toque.

Surgem nas áreas mais expostas ao sol ( couro cabeludo, orelhas, mãos, nariz)

Recomenda-se que todos os casos sejam tratados, uma vez que estas lesões poderão **evoluir para cancro de pele não melanoma**.

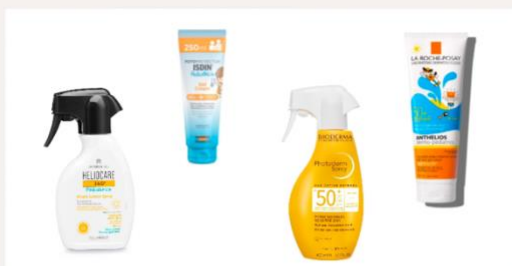
Importante **encaminhar para o médico** ! As lesões necessitam de ser vistas e tratadas pelo profissional mais indicado!



### Casos Práticos

A Francisca e o Manuel, vão de férias na próxima semana e dirigem-se à farmácia para comprar o protetor solar mais indicado para o seu filho de 2 anos. Perguntam se todos podem usar o mesmo protetor.

Quais produtos podemos aconselhar?



E se fosse uma criança com menos de 1 ano?

ATENÇÃO: É NECESSÁRIO AGITAR BEM !




### Casos Práticos


A Mariana dirige-se à farmácia à procura de um protetor solar, diz que tem rosácea e pergunta qual o fotoprotetor que mais se adequa à sua condição de pele.



## Possíveis dúvidas no aconselhamento

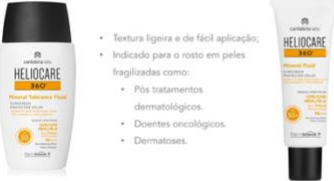


### Posicionamento das diversas texturas gel Heliocare




- Ácido hialurónico
- Oil-free e não comedogénico
- Peles desidratadas
- Pós matificantes
- Oil-free e não comedogénico
- Peles mistas/oleosas
- Com cor e sem cor
- Oil-free e não comedogénico
- Peles mistas/oleosas
- Com tratamentos para o acne
- Cuidado diário matificante

### Posicionamento dos fotoprotectores minerais Heliocare




- Textura leveira e de fácil aplicação;
- Indicado para o rosto em peles fragilizadas como:
  - Pós tratamentos dermatológicos.
  - Doentes oncológicos.
  - Dermatoses.
- Textura mais espessa
- Indicado para zonas localizadas:
  - Tatuagens
  - Cicatrizes
  - Sinais

### Posicionamento da suplementação Heliocare



- Femblock
- Betacaroteno
- Chá verde
- Femblock +
- Vitamina D
- Niacinamida
- Vitamina E
- Femblock
- Vitamina D
- Vitaminas C + E
- Luteína
- Licopeno

### Possíveis dúvidas na gama Anthelios



## “

# Obrigada pela vossa atenção!

Dúvidas?

**Figura 13-** Trabalho desenvolvido enquanto estagiária na FFS, para posterior formação.

## Anexo IV: Nutrição Clínica e Leites de Fórmula Infantis

Índice	
	<b>3</b>
Leites de Fórmula	3
Comparação do leite de fórmula com o leite materno	3
Quantidade de leite (ml) por dia para cada faixa etária	4
Quanto tempo dura uma embalagem?	4
É mais caro alimentar o meu filho com leite de fórmula, em comparação com o leite líder de mercado?	5
Nestlé- NAN	7
O que existe no mercado	7
Indicação Clínica	7
Ingredientes diferentes categorias especiais	10
Nutricia- Aptamil	12
O que existe no mercado:	12
Indicação Clínica	12
Ingredientes diferentes categorias especiais	16
<b>Nutrição Clínica</b>	<b>19</b>
Nestlé- Resource	19
O que existe no mercado	19
Indicação clínica para cada produto	19
Contraindicações	24
Nutricia- Fortimel	25
O que existe no mercado	25
Indicação clínica para cada produto;	25
Contraindicações	27

Estudo sobre Leites de Fórmula Infantil e Nutrição Clínica

## Leites de Fórmula

### Comparação do leite de fórmula com o leite materno

O leite materno tem inúmeros benefícios em comparação com os leites de fórmula existentes no mercado.

Os oligossacarídeos do leite humano são compostos bioativos especiais que só se encontram neste leite. Podem ajudar a desenvolver o sistema imunitário do bebê e proporcionam algumas das suas primeiras defesas intestinais.

O leite materno é composto também por **proteínas de alta qualidade**, principalmente as proteínas séricas. A quantidade de proteínas do leite materno diminui ao longo dos primeiros seis meses, ajustando-se às necessidades do bebê e contribuindo para o crescimento e desenvolvimento adequados do lactente. Já a proteína do leite de vaca é de menor qualidade. Para bebês a partir de 1 ano, o leite de vaca é rico em proteínas, sódio e outros nutrientes que não são adequados para a imaturidade intestinal do bebê.

O **principal hidrato de carbono do leite materno é a lactose**, um açúcar produzido de forma natural. Os bebês recém-nascidos não absorvem totalmente a lactose, o que os ajuda a produzir fezes moles.

Aproximadamente metade das calorias do leite vêm da gordura. O teor de gordura varia ao longo do dia e aumenta gradualmente enquanto dá de mamar: no final da sessão, o seu leite tem um teor de gordura mais elevado. Uma gordura importante que se encontra no leite materno é o ácido docosa-hexaenóico ou **DHA**, um ácido gordo tipo ômega-3 que **contribui para o desenvolvimento normal da visão** do seu bebê. Os leites para lactentes são obrigados por lei a possuírem óleo de peixe na sua composição, devido a esta necessidade por parte do bebê.

Uma boa nutrição é essencial para as mães que amamentam, uma vez que a sua dieta influencia a quantidade de alguns nutrientes presentes no leite materno, como

a vitamina A, vitamina D, vitaminas do grupo B e o iodo. Todos desempenham uma função fundamental no crescimento e desenvolvimento normais do seu bebê.

O leite materno contém algumas bactérias benéficas, como as bifidobactérias e os lactobacilos. Estas bactérias produzem-se de forma natural no leite materno e parecem ajudar a estimular o sistema imunitário do seu bebê.

### Quantidade de leite (ml) por dia para cada faixa etária

A quantidade de leite por dia varia bastante consoante a faixa etária e o peso do lactente. Esta quantidade poderá ser consultada no rótulo de todas as embalagens, contendo o número de doses e a quantidade de água a misturar.

### Quanto tempo dura uma embalagem?

Este valor é muito variável tendo em conta que nem todas as gamas possuem a mesma massa de leite de fórmula. No entanto, após elaborar cálculos em várias gamas e idades do lactente, a embalagem poderá durar entre 3 dias a 9 dias.

No entanto, deverá ser feito o cálculo para cada situação, tendo em conta o rótulo de cada embalagem (faixa etária do lactente, número de refeições por dia e quantidade de medidas necessárias para cada biberão) e a quantidade da embalagem.

**É mais caro alimentar o meu filho com leite de fórmula, em comparação com o leite líder de mercado?**

Uma vez que esta questão se coloca, aproximadamente, a partir do 2º ano de idade, irei fazer a comparação entre o Aptamil Nutri-Biotik 5 e o Mimosa Leite Infantil 1-3 anos.

- **Para 1 semana ( 8 dias)**
  - **Aptamil Nutri-Biotik 5**

Valor no site do Continente: 11,49€

Quantidade da lata: 750g

Quantidades recomendadas: 1-2 refeições , 8 medidas ( cada medida são 3,8g), em cada biberão 240ml água

Cálculos:

Quantidade usada por dia (pior cenário):  $2 \times 8 \times 3,8 = 60,8$  g/dia

Quantidade usada durante 1 semana:  $60,8 \times 8 = 486,4$ g

Se 750g custam 11,49€, então alimentar um bebé durante 1 semana com **Aptamil Nutri-Biotik 5** custa **7,45€**

- **Mimosa Leite Infantil 1-3 anos**

Valor no site do Continente: 2,61€/L

Quantidades recomendadas: 1-2 refeições , 240 ml /cada

Cálculos:

Quantidade usada por dia (pior cenário):  $2 \times 240 = 480$  ml

Quantidade usada durante 1 semana:  $480 \times 8 = 3840$  ml =3,8L

Se 1L custam 2,61€, então alimentar um bebé durante 1 semana com **Mimosa Leite Infantil 1-3 anos** custa **9,9€**

**Conclusão**

Para além de os leites de fórmula terem sido estudados de forma a suprir as necessidades dos bebés tendo em conta a sua idade, tanto a marca Aptamil como a marca NAN encontram-se sistematicamente a investigar novas fórmulas para os seus leites se aproximarem o máximo ao leite materno, apresentando assim inúmeros benefícios quando comparada com o leite de vaca tradicional. Para além disso, pelos cálculos apresentados, pode-se desmistificar a ideia de que alimentar um bebé com leite de vaca (leite líder de mercado) não fica mais barato do que quando o alimentamos com leites e fórmula.

**1. Nestlé- NAN**

Existem 3 tipos de leite: o leite para lactentes, o leite de transição e o leite de crescimento.

- Leite para lactentes: Indicados entre 0-6 meses.
- Leite de Transição: Indicado para + 6 Meses / + 10 Meses
- Leite de Crescimento: Indicado para + 12 Meses / + 3 Anos

**O que existe no mercado**

- NAN SUPREMEPRO HA 1 e NAN SUPREMEPRO HA 2
- NAN Sem Lactose
- NAN OPTIPRO HM-O 1 , NAN OPTIPRO HM-O 2, NAN OPTIPRO HM-O 3 e NAN OPTIPRO HM-O 4
- NAN TOTAL CONFORT 1 e NAN TOTAL CONFORT 2
- NAN OPTIPRO HM-O 1 Líquido e NAN OPTIPRO HM-O 2 Líquido
- NAN OPTIPRO 5
- NAN A.R.
- NAN AC
- PreNAN Stage 2 PDF

**Indicação Clínica**

**NAN SUPREMEPRO HA 1**

- Fórmula infantil para lactentes saudáveis, desde o nascimento, quando não amamentados **a partir do 1º mês**.

**NAN SUPREMEPRO HA 2**

- Leite de transição para lactentes **a partir dos 6 meses** de idade que, em conjunto com outros alimentos, faz parte da alimentação diversificada do bebé.

**NAN Sem Lactose**

- Fórmula infantil isenta de lactose para lactentes saudáveis, **desde o nascimento**, quando não amamentados.

**NAN OPTIPRO HM-O 1**

- fórmula para lactentes saudáveis, **desde o nascimento**, quando não amamentados.

**NAN OPTIPRO HM-O 2**

- leite de transição para lactentes **a partir dos 6 meses** de idade que, em conjunto com outros alimentos, faz parte da alimentação diversificada do bebé.

**NAN OPTIPRO HM-O 3**

- leite de transição para lactentes **a partir dos 10 meses** de idade que, em conjunto com outros alimentos, faz parte da alimentação diversificada do bebé.

**NAN OPTIPRO HM-O 4**

- Bebida láctea infantil (leite de crescimento) para crianças **a partir dos 12 meses** de idade como parte líquida da sua alimentação, **antes da introdução do leite de vaca**.

**NAN OPTIPRO 5**

- Bebida láctea infantil (leite de crescimento) para crianças **a partir dos 24 meses** de idade como parte líquida da sua alimentação, **antes da introdução do leite de vaca**

**NAN TOTAL CONFORT 1 e NAN TOTAL CONFORT 2**

- Alimento para fins medicinais específicos, para a gestão nutricional de **lactentes com distúrbios gastrointestinais** (como a **obstipação, cólicas e regurgitação**) e é adequado para a alimentação de lactentes, como fonte alimentar única:
  - Confort 1: desde o nascimento até aos 6 meses de idade.

ii. Confort 2: A partir dos 6 meses

**NAN OPTIPRO HM-O 1 Líquido**

- É um leite para lactentes saudáveis, **desde o nascimento**, quando não amamentados.

**NAN OPTIPRO HM-O 2 Líquido**

- É um leite de transição para lactentes a partir dos 6 meses de idade que, em conjunto com outros alimentos, faz parte da alimentação diversificada do bebê. Contém uma fórmula única, inspirada na investigação do leite materno. Este leite infantil não deve ser utilizado como substituto do leite materno durante os primeiros 6 meses de vida.

**NAN A.R.**

- É utilizado para satisfação das necessidades nutricionais de lactentes com **regurgitação** e está adequado para a alimentação de lactentes, como fonte alimentar única, **desde o nascimento até aos 6 meses de idade** quando não amamentados. NAN A.R. é espessado com amido natural e contém L. reuteri, eficazes na redução da regurgitação.

**NAN AC**

- É um alimento dietético para fins medicinais específicos, especialmente indicado para o **tratamento dietético da cólica infantil** desde os **primeiros meses de vida**.

**PreNAN Stage 2 PDF**

- É um Alimento Dietético Destinado a Fins Específicos, utilizado para a gestão nutricional de **lactentes prematuros e recém nascidos de baixo peso (>1.800g)**, após alta hospitalar, e é adequado como fonte alimentar única, **desde o nascimento até aos 6 meses de idade**.

**Ingredientes diferentes categorias especiais**

• **NAN OPTIPRO HM-O Líquido**

Trata-se de um leite pronto a beber não necessitando de preparação, por isso, têm **água** na sua composição, ingrediente que não aparece em mais nenhuma fórmula, assim como o **leite magro**.

• **NAN A.R.**

Para além dos ingredientes habituais, possui **amido de batata** e proteínas do soro de leite **parcialmente hidrolisadas enzimaticamente**, essenciais para a sua indicação clínica, de modo a espessar o leite e diminuir o reflexo de regurgitação.

• **NAN AC**

Para além dos ingredientes habituais, possui um **maltodextrina** um substituto do hidrato de carbono do leite, podendo diminuir as cólicas do bebé.

• **PreNAN Stage 2 PDF**

Para além dos ingredientes habituais, possui a **maltodextrina** e **cultura de bifidobactérias**, uma das estirpes habituais no leite materno, necessárias para o bom desenvolvimento do sistema imunitário do recém-nascido prematuro ou com baixo peso.

• **NAN Sem Lactose**

Para além dos ingredientes habituais, possui **xarope de glucose** em substituição do açúcar do leite, a lactose.

• **NAN TOTAL CONFORT**

Para além dos ingredientes habituais, possui **proteínas do soro do leite hidrolisadas** enzimaticamente, o que difere do NAN A.R. e **amido de batata**. Esta combinação de proteínas hidrolisadas e amido de batata, faz com que o leite seja

mais espesso e diminua todos os sintomas relacionados com o funcionamento gastrointestinal.

**2. Nutricia- Aptamil**

**O que existe no mercado:**

- Aptamil 1, Aptamil 2, Aptamil 3, Aptamil 4, Aptamil 5;
- Aptamil Junior 1L;
- Aptamil Profutura 1 e Aptamil Profutura 2;
- Aptamil Prosyneo HA 1 e Aptamil Prosyneo HA 2;
- Aptamil Sem Lactose;
- Aptamil® Nutriton Instant
- Aptamil AR 1 e Aptamil AR 2;
- Aptamil Confort 1 e Aptamil Confort 2;
- Aptamil FMS;
- Aptamil PDF;
- Aptamil Prematil.
- Aptamil Suplemento Proteico;
- Aptamil Pepti Junior;
- Aptamil Pepti Syneo 1 e Aptamil Pepti Syneo 2;

**Indicação Clínica**

• **Gama Aptamil**

- Aptamil 1 é um **leite para lactentes** destinado a fins nutricionais específicos de bebés, **desde o nascimento até aos 6 meses** de vida, como substituto ou complemento do leite materno, quando não amamentados.
- Aptamil Nutri-Biotik 2 é um **leite de transição**, indicado para **bebés a partir dos 6 meses** de vida até ao final da lactação, como parte de uma dieta diversificada. E **não deve ser usado com substituto do leite materno** até então.
- 3- Aptamil Nutri-Biotik 3 é um **leite de transição**, indicado para **bebés a partir dos 9 meses** de vida até ao final da lactação, como parte de uma dieta diversificada. E **não deve ser usado com substituto do leite materno** até então.

- Aptamil Nutri-Biotik 4 é uma bebida láctea infantil adaptada às necessidades nutricionais específicas das crianças a **partir dos 12 meses**, quando consumido como parte de uma dieta equilibrada, não é um substituto do leite materno.
- Aptamil Nutri-Biotik 5 é uma bebida láctea infantil adaptada às necessidades nutricionais específicas das crianças a **partir dos 24 meses**, quando consumido como parte de uma dieta equilibrada, não é um substituto do leite materno.

- **Aptamil Junior 1L**

Aptamil Junior Leite de Crescimento é uma bebida láctea infantil adaptada às necessidades nutricionais específicas das crianças dos **12 aos 36 meses**, quando consumido como **parte de uma dieta equilibrada**.

- **Gama Aptamil Profutura**

- Aptamil Profutura 1 é um **leite para lactentes**. Destinado a fins nutricionais específicos de bebés, **desde o nascimento até aos 6 meses** de vida, como substituto ou complemento do leite materno, quando não amamentados.
- Aptamil Profutura 2 é um **leite de transição**, indicado para bebés a **partir dos 6 meses** de vida até ao final da lactação, como parte de uma dieta diversificada. Não deve ser usado como substituto do leite materno até então.

- **Gama Aptamil Prosyneo HA**

- Aptamil Prosyneo HA 1 é um leite para lactentes dos **0 aos 6 meses**, para **redução do risco alérgico à proteína do leite de vaca**. É adequado para utilizações nutricionais específicas por lactentes a partir do nascimento, quando não são amamentados. Aptamil Prosyneo HA 1 **não é indicado para crianças com alergia às proteínas do leite de vaca**.
- Aptamil Prosyneo HA 2 é um **leite de transição** indicado para dar seguimento a um leite para lactentes indicado para redução do risco

alérgico às proteínas do leite de vaca. Destina-se apenas para fins nutricionais específicos de lactentes de idade **superior a 6 meses**, como componente de uma dieta diversificada, não devendo ser utilizado como substituto do leite materno.

- **Aptamil Sem Lactose**

É um leite para lactentes destinado a fins nutricionais específicos (leite sem lactose) desde o nascimento, como substituto do leite materno, quando não amamentados. É **impróprio para lactentes com galactosemia**.

- **Gama Aptamil AR**

- Aptamil® AR 1 é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional do refluxo gastro-esofágico** ou da **regurgitação excessiva** em lactentes **desde o nascimento até aos 6 meses** de idade. É um alimento nutricionalmente completo e adequado como fonte alimentar única até aos 6 meses de idade.
- Aptamil® AR 2 é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional do refluxo gastro-esofágico** ou da **regurgitação excessiva** em lactentes a **partir dos 6 meses** de idade. Deve ser utilizado como parte de uma alimentação diversificada e não como fonte alimentar única.

- **Aptamil Nutriton Instant**

- É um alimento para fins medicinais específicos, para a gestão nutricional de **refluxo gastro-esofágico**, **regurgitação frequente** e/ou **vômitos**, em lactentes **desde o nascimento**, destinado a espessar o leite materno ou o leite habitual do bebé.

- **Gama Aptamil Confort**

- Aptamil® Confort 1 é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional de distúrbios gastrointestinais**, como a **obstipação e cólicas**, em lactentes **desde o nascimento até aos 6 meses** de vida. É um alimento nutricionalmente completo e adequado como fonte alimentar única até aos 6 meses de idade.
- Aptamil® Confort 2 é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional de distúrbios gastrointestinais**, como a **obstipação e cólicas**, em lactentes a **partir dos 6 meses** de vida. Deve ser utilizado como parte de uma alimentação diversificada e não como fonte alimentar única.

- **Aptamil FMS**

Aptamil Fortificante do Leite Materno (FMS) é um alimento para fins medicinais específicos, é utilizado como um **suplemento do leite humano** indicado para a **gestão nutricional de recém-nascidos prematuros e/ou de baixo peso**.

- **Aptamil PDF**

Aptamil PDF é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional de lactentes prematuros e/ou de baixo peso (> de 1.800g)**, com **necessidades de recuperação de crescimento após alta hospitalar**. É um alimento nutricionalmente completo e adequado como fonte alimentar única até aos 3 meses de idade corrigida.

- **Aptamil Premati**

Aptamil Premati é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional de lactentes prematuros com peso inferior a 1800g**, **desde o nascimento**. É um alimento nutricionalmente completo e adequado como fonte alimentar única.

- **Aptamil Suplemento Proteico**

Aptamil® Suplemento Proteico é um alimento para fins medicinais específicos para a **gestão nutricional de bebés de extremo baixo peso** para os quais os **requisitos proteicos não são satisfeitos através de uma**

**nutrição standard**. Não deve ser usado como fonte alimentar única, deve ser usado em simultâneo com o leite materno ou uma fórmula para recém-nascidos prematuros.

- **Aptamil Pepti Junior**

Aptamil® Pepti Junior é um alimento para fins medicinais específicos para a **gestão nutricional da alergia às proteínas do leite de vaca e/ou má absorção de gorduras**, em lactentes **desde o nascimento**. É um alimento nutricionalmente completo e adequado como fonte alimentar única até aos 6 meses de vida. A partir dos 6 meses de vida, pode ser utilizado como parte de uma alimentação diversificada e não como fonte alimentar única.

- **Gama Aptamil Pepti Syneo**

- Aptamil® Pepti Syneo™ 1 é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional da alergia à proteína do leite de vaca**, em lactentes **até aos 6 meses** de vida. É um alimento nutricionalmente completo e adequado como fonte alimentar única até aos 6 meses de idade.
- Aptamil® Pepti Syneo™ 2 é um alimento para fins medicinais específicos indicado para a **gestão nutricional da alergia à proteína do leite de vaca**, em lactentes a **partir dos 6 meses** de vida. Deve ser utilizado como parte de uma alimentação diversificada e não como fonte alimentar única.

#### Ingredientes diferentes categorias especiais

- **Gama Aptamil Pepti Syneo e Aptamil Pepti Junior**

- Possui **maltodextrina**, **hidrolisado de seroproteínas** e emulsionantes de forma a ajudar a gestão nutricional da alergia à proteína do leite de vaca

- **Aptamil Sem Lactose**
  - Possui **xarope de glicose** em substituição do açúcar do leite, a lactose.
- **Gama Aptamil AR**
  - Possuem na sua composição **goma de alfarroba** de modo a espessar o leite e prevenir o regurgitamento.
- **Aptamil Nutrition Instant**
  - Conjunto de **espessantes** como a maltodextrina e a goma de semente de alfarroba.
- **Gama Aptamil Confort**
  - Possuem na sua composição **hidrolisado de seroproteínas, xarope de glicose, maltodextrina e amido**. Em conjunto atuam como modificadores da viscosidade do leite e facilitam a digestão do lactente, diminuindo sintomas gastrointestinais.
- **Aptamil FMS:**
  - Possui **maltodextrina, seroproteínas hidrolisadas e caseína hidrolisada** provenientes do leite de vaca, fornecendo uma alimentação mais completa e rica ao lactente
- **Aptamil PDE:**
  - Possui maltoextrina, **gordura do leite anidra e gordura de ovo** favorecendo o aumento de peso do lactente.
- **Aptamil Suplemento Proteico:**
  - Possui **seroproteínas hidrolisadas e caseína hidrolisada** provenientes do leite de vaca, fornecendo uma alimentação mais completa e rica ao lactente.
- **Aptamil Prematil.**

- Possui **xarope de glicose, gordura de leite anidra, gordura de ovo**. Em comparação com o Aptamil PDF, o Prematil tem maior quantidade de proteína (seroproteína e caseína), o que seria de esperar visto que está indicado para crianças com um menor peso.

## Nutrição Clínica

### 1. Nestlé- Resource

A gama RESOURCE inclui dietas *standard* (hipercalórica e/ou hiperproteica) para indivíduos desnutridos ou em risco de desnutrição e dietas específicas para:

- Diabéticos
- Seniores frágeis
- Oncologia/Cancro
- Doentes com dificuldade ao engolir e/ou mastigar que necessitam de uma consistência adaptada

#### O que existe no mercado

- Resource Diabet
- Resource Diabet Dense
- Resource Activ
- Resource Crema 2.0
- Resource 2.0
- Resource Energy
- Resource Água Gelificada
- Resource Refresh
- Resource HP/HC
- Resource Dense
- Resource Protein
- Resource Ultra Fruit

#### Indicação clínica para cada produto

##### ■ Resource Diabet

Dieta completa específica para satisfazer as necessidades nutricionais de todos os **indivíduos diabéticos desnutridos ou em risco de desnutrição**. É uma dieta

**hiperproteica de baixo índice glicémico com fibra solúvel, isenta de lactose e sem frutose adicionada.**

A formulação com **hidratos de carbono de baixo índice glicémico e mistura de fibras 100% solúveis favorecem o controlo metabólico dos indivíduos em risco nutricional** incorporando nutrientes com eficácia comprovada no controlo da glicémia e na prevenção de co-morbidades associadas à diabetes.

##### ■ Resource Diabet Dense

Resource Diabet Dense é uma fórmula **completa hipercalórica e hiperproteica**, com textura tipo mel **isenta de lactose sem glúten com baixo índice glicémico e com fibra**.

Alimento para fins medicinais específicos. Para a **gestão nutricional de doentes diabéticos com ou em risco de desnutrição e com dificuldades de deglutição (disfagia)**, assim como em **outras condições em risco de desnutrição tais como:**

- Doentes neurológicos/ com doença neurodegenerativa (AVC, esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, doença de Alzheimer ou outras demências, Doença de Parkinson), entre outros.
- Doentes oncológicos (Cancro cabeça e pescoço, disfagia secundária a tratamentos antineoplásicos ou cirurgia).
- Prebifagia.
- Laringectomizados.

##### ■ Resource Activ

Dieta **hipercalórica e hiperproteica, com fibra**. Para a gestão nutricional de doentes com **necessidades calóricas e proteicas aumentadas e/ou desnutrição ou risco de desnutrição** que apresentam diminuição da mobilidade associada à idade, a **doenças crónicas ou situações agudas tais como quedas.**

- Condições músculo esqueléticas relacionadas com a idade (por exemplo, sarcopenia e fragilidade)
- Quedas e fraturas
- Doenças crónicas que reduzem a mobilidade (ex: osteoartrite ou osteoporose).

→ Diminuição da ingestão energética e proteica associada a anorexia moderada-severa (exemplo: doente geriátrico, doente oncológico)

#### ■ Resource Crema 2.0

É uma **fórmula completa hiperproteica e hipercalórica isenta de lactose, glúten e fibra**. Para gestão nutricional de doentes com/ou em risco de desnutrição e/ou dificuldades de mastigação (disfagia). É adequado como fonte alimentar única.

#### ■ Resource 2.0

Dieta oral completa **hipercalórica normoproteica, possuindo baixo conteúdo em lactose e isento de glúten**. Tratamento dietético de indivíduos com necessidades energéticas aumentadas e/ou doenças que levam à desnutrição: Indivíduos com necessidade de suplementação nutricional elevada (>800 kcal/dia)

- Anorexia/caquexia associada a patologia oncológica ou tratamentos antitumorais
- Insuficiência cardíaca ou respiratória com compromisso severo da ingesta
- Queimados
- Restrição hídrica severa

#### ■ Resource Energy

Dieta oral **completa hipercalórica, isenta de lactose e glúten**, para indivíduos com necessidades energéticas aumentadas, como a diminuição da ingestão associada a anorexia leve a moderada ou patologia obstrutiva que dificulta a deglutição.

Patologia neurológica com aumento da atividade: demências com agitação

Indivíduos com necessidades de suplementação moderada (600 kcal/dia)

- Perda de peso leve (<5%/3 meses)
- Doenças inflamatórias em fase inicial
- Situações que requerem controlo proteico
- Doença de Parkinson
- Restrição hídrica moderada
- Indivíduos com disfagia associada a patologias descritas anteriormente

#### ■ Resource Água Gelificada

Textura gel que facilita a **deglutição sem adição de açúcares e com baixo conteúdo em sal**. Pode ser incorporada num plano de dietas de baixo teor de sal. Possui corantes naturais e uma consistência suave e homogênea

#### ■ Resource Refresh

É um suplemento nutricional oral **incompleto, hipercalórico, normoproteico e isento de lactose, glúten e fibra**.

Para gestão nutricional de doentes oncológicos adultos, com desnutrição ou risco de desnutrição e com alterações do paladar como consequência da radio ou quimioterapia.

#### ■ Resource HP/HC

Dieta oral **completa hipercalórica hiperproteica, isenta de lactose e glúten**.

Pode ser utilizado como dieta total ou complementar em indivíduos com necessidades proteicas e calóricas aumentadas e/ou que apresentam desnutrição:

- Diminuição da ingestão associada a anorexia moderada a severa
- Processos inflamatórios crónicos (DPOC) ou patologia infecciosa
- Caquexia cardíaca ou respiratória
- Intervenção cirúrgica pós fratura da anca em indivíduos com baixo peso.
- Hipoproteinemia moderada com perda de peso.
- Úlceras por pressão

#### ■ Resource Dense

Resource Dense é uma fórmula **completa hipercalórica e hiperproteica, isenta de lactose, sem glúten e fibra** e com textura homogênea tipo mel.

Para a gestão nutricional de doentes em risco de desnutrição e com dificuldades de deglutição (disfagia), tais como:

- Doentes neurológicos/ com doença neurodegenerativa (AVC, esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, doença de Alzheimer ou outras demências, Doença de Parkinson), entre outros.

→ Doentes oncológicos (Cancro cabeça e pescoço, disfagia secundária a tratamentos antineoplásicos ou cirurgia).

- Prebifagia.
- Laringectomizados

#### ■ Resource Protein

Dieta oral **completa hiperproteica isenta de lactose e glúten**, podendo se utilizar como **dieta total ou complementar** em indivíduos com necessidades proteicas aumentadas e/ou patologias que levam à desnutrição:

- Diminuição da ingestão proteica associada a anorexia moderada ou severa
- Sarcopenia
- Idoso frágil
- Intervenção cirúrgica pós fratura da anca
- Úlceras por pressão
- Demência e doença de Alzheimer
- Patologia obstrutiva que dificulta a deglutição
  - ◆ Cirurgia maxilo-facial

#### ■ Resource Ultra Fruit

Resource Ultra Fruit é uma **dieta hipercalórica sem gorduras, sem glúten e sem fibra** com sabor similar a sumo de fruta, apresenta-se como uma alternativa aos suplementos nutricionais orais com sabores lácteos.

Para a gestão nutricional de doentes com desnutrição ou risco de desnutrição. Tais como doentes com:

- Diminuição da ingestão energética e proteica associada a anorexia moderada a severa (exemplo: doente geriátrico, doente oncológico)
- Fragilidade, sarcopenia e declínio funcional
- Baixa tolerância aos suplementos nutricionais orais com sabores lácteos
- Doentes oncológicos com alterações do paladar
- Atraso esvaziamento gástrico (ex: doente geriátrico)
- Doentes hepáticos

#### Contraindicações

##### ◆ Resource Diabet

Menores de 3 anos

##### ◆ Resource Diabet Dense

Menores de 3 anos

##### ◆ Resource Crema 2.0

Menores de 3 anos

##### ◆ Resource Dense

Menores de 3 anos

##### ◆ Resource Ultra Fruit

Menores de 10 anos.

## 2. Nutricia- Fortimel

### O que existe no mercado

- Fortimel;
- Fortimel Compact;
- Fortimel Creme;
- Fortimel Energy;
- Fortimel Extra 2Kcal;
- Fortimel Powder;
- Fortimel Advanced;
- Fortimel Compact Protein.

### Indicação clínica para cada produto;

- **Fortimel:**  
Suplemento nutricional oral hipercalórico e hiperproteico. Especialmente formulado com uma mistura única de 4 proteínas (soroproteína, caseína, ervilha e soja)  
Recomendado para geriatria, perda de peso e/ou apetite, pré e/ou pós-operatório, gravidez. Possui 18g de proteína/200ml sendo isento de glúten e fibra.  
A dose recomendada como suplemento é entre 1-3 garrafas por dia.
- **Fortimel Compact:**  
Suplemento nutricional oral hipercalórico, recomendado para situações de perda moderada de peso e/ou apetite e necessidade de suplementar com baixo volume (125 ml), 12g proteína/125ml, sendo isento de glúten.  
A dose recomendada como fonte alimentar única será entre 5-7 garrafas por dia e, como suplemento, entre 1-3 garrafas por dia.
- **Fortimel Creme:**  
Suplemento nutricional oral hipercalórico e hiperproteico, recomendado para situações em que seja útil variar a consistência do suplemento nutricional oral, possui 12g proteína/125mg, sendo isento de glúten

A dose recomendada como suplemento será entre 1-3 pudins por dia.

- **Fortimel Energy:**  
Suplemento nutricional oral hipercalórico, recomendado para situações de perda moderada de peso e/ou apetite e indicado para doentes que necessitem de uma **dieta isenta de resíduos**, em situações como **Doenças Inflamatórias do Intestino** ou **preparação para colonoscopia**. Possui 12 g proteína/200ml, sendo isento de lactose, glúten e fibra.  
A dose recomendada como fonte alimentar única será entre 5-7 garrafas por dia, como suplemento: entre 1-3 garrafas por dia.
- **Fortimel Extra 2Kcal:**  
Suplemento nutricional oral hipercalórico e hiperproteico, nutricionalmente completo, recomendado para doenças e/ou condições em que as necessidades nutricionais estão aumentadas, como o **câncer** ou o **pós-cirúrgico**. Possui 20,2g proteína/200 ml. Como suplemento: 1 a 2 garrafas por dia, entre as refeições.  
A dose recomendada como fonte alimentar única será de 4 a 5 garrafas por dia.
- **Fortimel Powder:**  
Suplemento nutricional em pó hiperproteico, com fibra, vitaminas e minerais, recomendado no caso de doentes com perda moderada de peso e/ou apetite e para os que **não toleram suplementação nutricional oral líquida**. Possui 10g proteína/porção de 46g e é isento de glúten.  
A dose recomendada como suplemento é de 1 a 3 porções por dia. Cada porção corresponde a 8 colheres de medida (46 g de pó). Pode ser adicionado a refeições líquidas e purés, ou pode ser consumido como uma bebida.
- **Fortimel Advanced:**  
Suplemento nutricional oral hipercalórico e hiperproteico, com 0,8g proteína/200ml (28% Valor Energético Total) sendo especialmente formulado com uma combinação única de Soroproteína, Leucina e Vitamina D, para a gestão nutricional da má nutrição associada a doenças com **perda de massa muscular e/ou sarcopenia**. Isento de glúten contém edulcorantes.

Recomendado para doentes com perda de massa muscular e com necessidade e recuperação funcional devido a:

- envelhecimento
- imobilização prolongada
- má nutrição
- doenças ou condições clínicas, tais como AVC, insuficiência cardíaca, DPOC, fraturas, traumatismos, osteoartrite, doenças neurológicas, miopatia de desuso e doença oncológica

A dose recomendada como fonte alimentar única será de 5-7 garrafas por dia, como suplemento entre 1-3 garrafas.

- **Fortimel Compact Protein:**  
Suplemento nutricional oral hipercalórico e hiperproteico, recomendado para **oncologia, geriatria, pré e/ou pós-operatório**, necessidade em suplementar com baixo volume (125 ml), 18g proteína/125ml  
Isento de glúten  
A dose recomendada como suplemento será entre 1-2 garrafas por dia.

### Contraindicações

- **Fortimel:**  
Não adequado para crianças com idade inferior a 3 anos.
- **Fortimel Compact:**  
Não adequado para crianças com idade inferior a 3 anos.
- **Fortimel Creme:**  
Não adequado para crianças com idade inferior a 3 anos.
- **Fortimel Energy:**  
Não adequado para doentes com galactosemia e para crianças com menos de 3 anos de idade.
- **Fortimel Extra 2Kcal:**

Não adequado para crianças com idade inferior a 3 anos.

- **Fortimel Powder:**  
Não adequado para menores de 18 anos de idade.
- **Fortimel Advanced:**  
Não é adequado para pacientes que necessitem de uma dieta isenta de fibra. Não adequado para crianças com idade inferior a 3 anos.
- **Fortimel Compact Protein:**  
Não adequado para crianças com idade inferior a 3 anos.

**Figura 14-** Trabalho desenvolvido enquanto estagiária na FFS.

## Capítulo II

### Anexo V- Patologias crónicas legisladas para dispensa de medicamentos em regime de ambulatório.

Patologia Especial	Âmbito	Dispensa	Comp.	Legislação
Ictiose	Produtos tópicos para o tratamento da ictiose	Farmácia Hospitalar	100%	Portaria n.º 36/2018, de 26 de janeiro
Hidradenite supurativa (hidrosadenite supurativa ou acne inversa)	Medicamentos referidos na Portaria n.º 38/2017, de 26 de janeiro	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 38/2017, de 26 de janeiro
Hiperfenilalaninemia	Medicamentos referidos na Portaria n.º 3/2022, de 03 de janeiro	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 3/2022, de 03 de janeiro
Doença de Crohn ou colite ulcerosa	Medicamentos referidos na Portaria n.º 351/2017, de 15 de novembro	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 351/2017, de 15 de novembro
Acromegália	Medicamentos referidos na Portaria n.º 321/2017, de 25 de outubro, na sua redação atual	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 321/2017, de 25 de outubro, alterada pela Deliberação n.º 29/CD/2018, de 13 de março
Esclerose múltipla (EM)	Lista de medicamentos referidos na Portaria n.º 330/2016 de 20 de dezembro, na sua redação atual	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 330/2016 de 20 de dezembro, atualizada pela Portaria n.º 302/2018 de 26 de novembro
Hepatite C	Boceprevir; Peginterferão alfa 2-a; Peginterferão alfa 2-b; Ribavirina; Sofosbuvir; Ledipasvir + Sofosbuvir; Dasabuvir; Ombitasvir + Paritaprevir + Ritonavir.	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 158/2014, de 13/02, alterada pela Portaria n.º 114-A/2015, de 17/02, Portaria n.º 216-A/2015, de 14/04 e pela Portaria n.º 146-B/2016, de 12 de maio.
Profilaxia da rejeição aguda do transplante hepático alogénico	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 6818/2004 (2.ª série), de 10 de Março	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06
Profilaxia da rejeição aguda do transplante cardíaco alogénico	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 6818/2004 (2.ª série), de 10 de Março	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06

Profilaxia da rejeição aguda do transplante hepático alogénico	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 6818/2004 (2.ª série), de 10 de Março	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06
Profilaxia da rejeição aguda do transplante cardíaco alogénico	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 6818/2004 (2.ª série), de 10 de Março	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06
Profilaxia da rejeição aguda do transplante renal alogénico	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 6818/2004 (2.ª série), de 10 de Março	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06
Paraplegias espásticas familiares e ataxias cerebelosas hereditárias, nomeadamente a doença de Machado-Joseph	Medicação antiespástica, anti-depressiva, indutora do sono e vitamínica, desde que prescrita em consultas de neurologia dos hospitais da rede oficial e dispensada pelos mesmos hospitais	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 19 972/99 (2.ª série), de 20/9
Síndrome de Lennox-Gastaut	Medicamentos referidos no Despacho n.º 13622/99, de 26 de maio	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 13622/99, de 26 de maio
Esclerose lateral amiotrófica (ELA)	Medicamentos referidos no Despacho n.º 8599/2009, de 19 de Março, na sua redação atual	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 8599/2009, de 19 de março, alterado pelo Despacho n.º 14094/2012, de 16 de outubro

Deficiência da hormona de crescimento na criança, síndrome de Turner, perturbações do crescimento, síndrome de Prader-Willi e terapêutica de substituição em adultos	Medicamentos referidos no Despacho n.º 12455/2010, de 22 de Julho	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 12455/2010, de 22 de julho
Infeção VIH	Medicamentos antiretrovíricos indicados para o tratamento da infeção pelo VIH/sida no termos e condições referidas no Despacho n.º 6716/2012	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 6716/2012
Insuficiência renal crónica	Medicamentos contendo ferro para administração intravenosa; Medicamentos (DCI): Eporex (epoetina alfa); Neorecormon (epoetina beta); Retacrit (epoetina zeta); Aranesp (darbepoetina alfa); Mircera (Metoxipolietilenglicol-epoetina beta).	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 10/96, de 16/05; Despacho n.º 9825/98, 13/05, alterado pelo Despacho n.º 6370/2002, de 07/03, Despacho n.º 22569/2008, de 22/08, Despacho n.º 29793/2008, de 11/11 e Despacho n.º 5821/2011, de 25/03
Insuficiência crónica e Transplantação renal	Medicamentos incluídos no anexo da Portaria n.º 255/2018, de 07 de setembro	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 255/2018, de 07 de setembro
Fibrose quística	Medicamentos comparticipados	Farmácia hospitalar	100%	Despacho n.º 24/89, de 2 de fevereiro
Artrite reumatóide, Espondilite anquilosante, Artrite psoriática, Artrite idiopática juvenil poliarticular e Psoríase em placas	Medicamentos referidos na Portaria n.º 48/2016, de 22 de março, na sua redação atual  Procedimento de registo mínimo	Farmácia hospitalar	100%	Portaria n.º 48/2016, de 22 de março, atualizada no Anexo I pela Deliberação n.º 070/CD/2020, de 3 de setembro

**Figura 15-** Lista de patologias crónicas e respetivos diplomas para dispensa de medicamentos em regime de ambulatório.

## Anexo VI- CAUL de imunoglobulina G humana

REPÚBLICA PORTUGUESA SAÚDE SNS SERVIÇO NACIONAL DE SAÚDE Infarmed

Certificado de Autorização de Utilização de Lote  
Certificado N.º: CAUL- 19422 ✓  
(10)

N.º do Lote	M208A8541 ✓
Nome do medicamento	Octagam
Dosagem – Quantidade	100 mg/ml
Substância(s) ativa(s)	Imunoglobulina G humana
Número de unidades do lote	1971
Embalagem	Frasco para injetáveis
Número de Registo	5115134
Identificação e endereço do Titular AIM ou seu representante legal	Octapharma - Produtos Farmacêuticos Lda. Rua dos Lagares D'el Rei, 21C r/c Dto. Lisboa 1700-268 Lisboa PT
Prazo de validade do lote	31-01-2025 ✓
Data do certificado Europeu de Libertação do lote	30-03-2022
Data da receção da totalidade da documentação no INFARMED, I.P.	04-04-2022

Analisada a documentação bastante para satisfazer os requisitos técnicos de avaliação consignados no Guia Técnico de Libertação de Lotes de Vacinas e Hemoderivados ("Official Control Authority Batch Release of Biological Medicinal Products for Human Use - OCABR"), o Laboratório de Biologia e Microbiologia da Direcção de Comprovação da Qualidade (LBM-DCQ), nada tem a objectar à aprovação para utilização do presente lote.

Por subdelegação de competência nos termos do Despacho 12140/2018 de 17 de dezembro de 2018, publicado em Diário da República n.º 242, 2ª série de 17 de dezembro de 2018 e tendo em consideração o resultado da avaliação supra,

**APROVA-SE PARA UTILIZAÇÃO TERAPÉUTICA**

o lote do medicamento acima identificado.

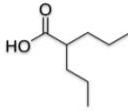
Data de aprovação: 04-04-2022

Maria João Portais  
Directora da Direcção de Comprovação da Qualidade

**Figura 16-** CAUL de imunoglobulina G humana.



## Ácido Valpróico



O ácido valpróico é um ácido gordo com uma cadeia pequena ramificada, derivado do ácido valérico

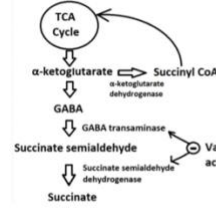
Comercializado desde 1967.

Indicações terapêuticas:

- Crises epilépticas generalizadas ou parciais;
- Tratamento de episódios maníacos na doença bipolar;
- Tratamento profilático de enxaqueca, cefaleia crônica diária e cefaleia em salvas.

(acho que fica melhor aqui a estrutura não??)

## Mecanismo de ação



- Atua nos níveis de GABA no Sistema Nervoso Central;
- Atua como bloqueador de canais iônicos dependentes de voltagem;
- Atua como inibidor das desacetilases de histonas (HDAC).

## O que está disponível no HSM

VALPROATO SEMISODICO	VALPROATO SODIO	VALPROATO SODIO + ÁCIDO VALPROICO
Comprimidos 250 mg	Comprimidos 200 mg	Cápsulas de LP 300 mg
Comprimidos 500 mg	Comprimidos 500 mg	Comprimidos de LP 500 mg
	Solução Oral 200mg/mL	

Table 1. Comparison of different marketed forms of valproate

International nonproprietary name	Content	Equivalent of valproic acid
Divalproex sodium 500 mg	Valproate semisodium 538.2 mg	500 mg
Sodium valproate enteric coated tablets (500 mg)	Sodium valproate 500 mg	433 mg
Sodium valproate and valproic acid in controlled release formulations	Sodium valproate 333 mg/Valproic acid 145 mg	433 mg
Valproic acid enteric coated tablets (500 mg)	Valproic acid 500 mg	500 mg

## Farmacocinética

<b>ABSORÇÃO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biodisponibilidade próxima de 100%</li> </ul>
<b>DISTRIBUIÇÃO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 90% ligação às proteínas plasmáticas (saturável)</li> <li>• Volume de distribuição entre 0.1 a 0.4 L/kg</li> <li>• Penetra o BHE e BP</li> </ul>
<b>METABOLISMO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metabolização Hepática (Ácido 2-propil-3-cetopentanóico e o Ácido 2-propilhidroxipentanóico)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• CYP 2A6, 2C9, 2C19, 2B6</li> <li>• UGT 1A3, 2B7</li> </ul> </li> </ul>
<b>EXCREÇÃO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Via urinária</li> <li>• Semivida é de aproximadamente 8 a 20 horas.</li> <li>• Crianças com idades de 2-10 anos, a clearance de valproato é 50% superior à dos adultos</li> </ul>

## Interações na metabolização

	FÁRMACOS INDUTORES	FÁRMACOS INIBIDORES
ÁCIDO VALPRÓICO	Carbamazepina, fenobarbital, fenitoína, primidona, felbamato, rufinamida, estiripentol, meropenem, naproxeno, rifampicina, ritonavir, COs	Clobazepam, felbamato, clorpromazina, fluoxetina, isoniazida, sertralina

## Porquê monitorizar o Ácido Valpróico?

Drugs and active metabolites	Therapeutic reference range	t1/2	Laboratory alert level	Level of recommendation to use TDM
<b>Antiepileptic drugs</b>				
Artigabine	0.45-0.90 µg/mL	9-10h	1.5 µg/mL	3
Rufinamide	5-30 µg/mL	6-10h	40 µg/mL	2
Serpentol	1-10 µg/mL	4-13h	15 µg/mL	2
Sulfimone	2-4 µg/mL	3-36h	12 µg/mL	2
Topiramate	26-200 ng/mL	7-9h	200 ng/mL	2
Topiramate	2-10 µg/mL	18-23h	16 µg/mL	3
Valproic acid	50-100 µg/mL	17-30h	120 µg/mL	1
Vigabatrin	2-10 µg/mL	5-2h	20 µg/mL	4
Zonisamide	10-40 µg/mL	48-77h	40 µg/mL	2

Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropharmacology Update 2017

- Perfil farmacocinético complexo:
  - Ligação às proteínas plasmáticas extensa e saturável
  - Alterações no metabolismo

Dose ↔ Concentração

## Monitorização Farmacocinética do Ácido Valpróico



## Capítulo III

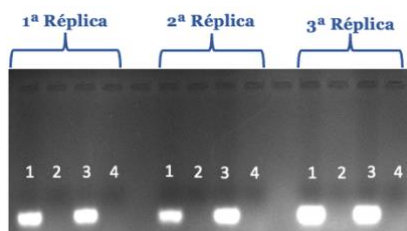
### Anexo VIII- Glicina



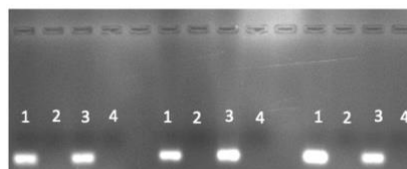
**Figura 18- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Glicina livre a 4 mM:** 1- RNA livre a 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 2- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 3- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + Gly 4mM; 4- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + Gly 4mM + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

## Anexo IX- Tirosina

Tempo de Incubação 0h



Tempo de Incubação 16h



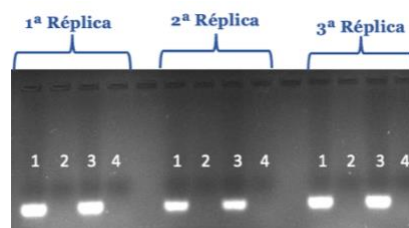
Tempo de Incubação 24h



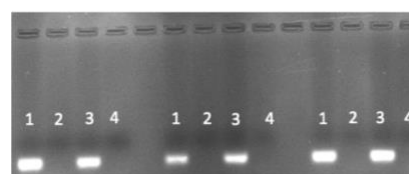
**Figura 19- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Tirosina livre a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + Tyr 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + Tyr 4mM + RNase 0,5 µg/mL.

## Anexo X- Triptofano

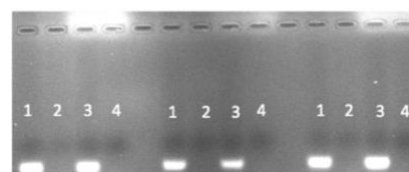
Tempo de Incubação 0h



Tempo de Incubação 16h



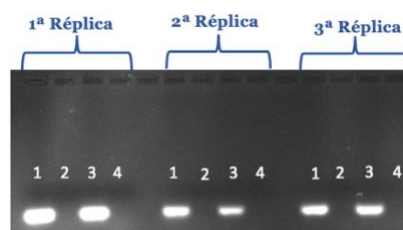
Tempo de Incubação 24h



**Figura 20- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Triptofano livre a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + Trp 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + Trp 4mM + RNase 0,5 µg/mL.

## Anexo XI - Alanina

Tempo de Incubação 0h



Tempo de Incubação 16h



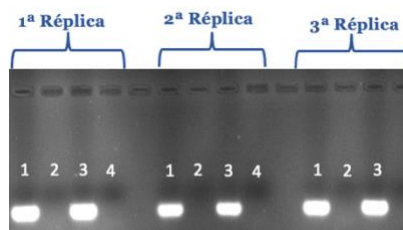
Tempo de Incubação 24h



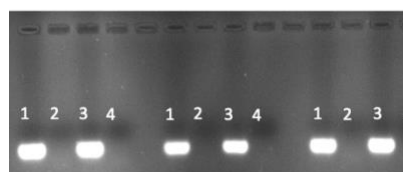
**Figura 21- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Alanina livre a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + Ala 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + Ala 4mM + RNase 0,5 µg/mL.

## Anexo XII- Cisteína

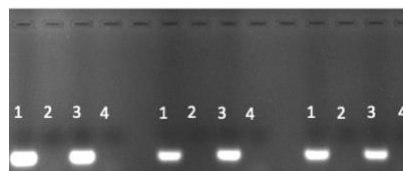
Tempo de Incubação 0h



Tempo de Incubação 16h

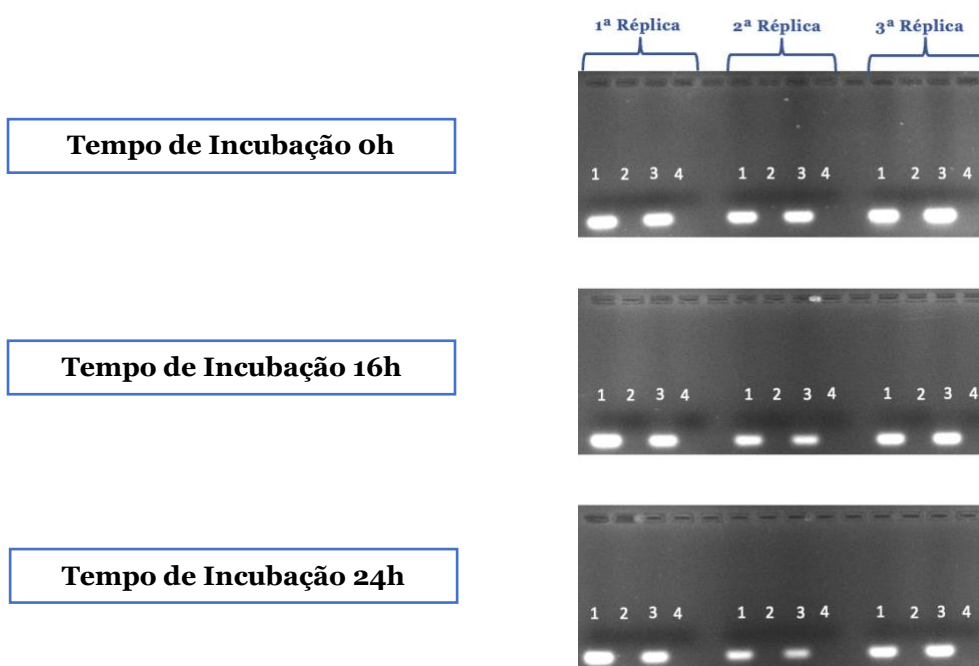


Tempo de Incubação 24h



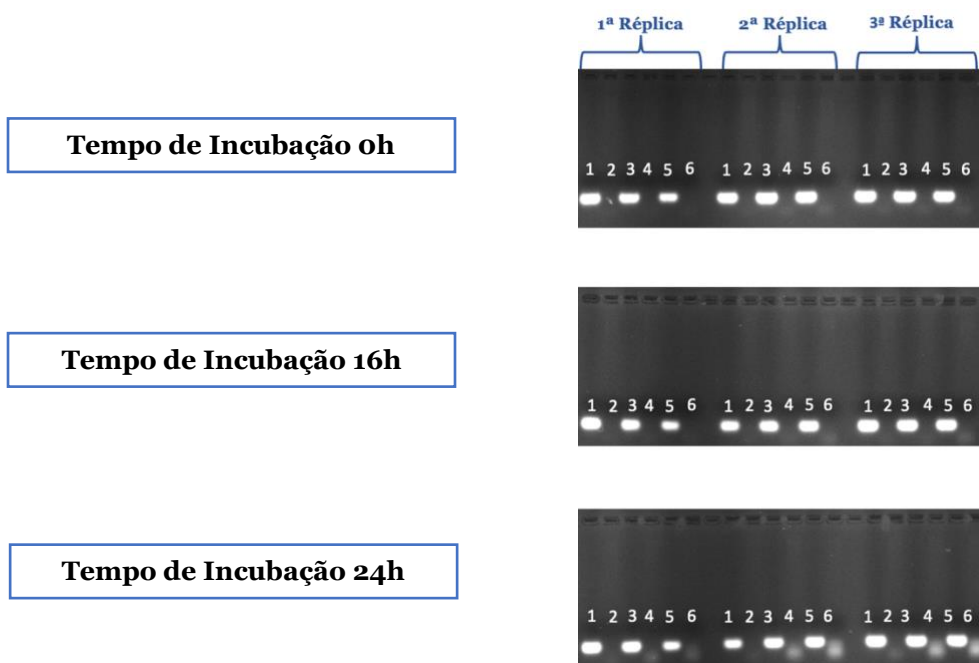
**Figura 22- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Cisteína livre a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + Cys 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + Cys 4mM + RNase 0,5 µg/mL.

### Anexo XIII- Fenilalanina



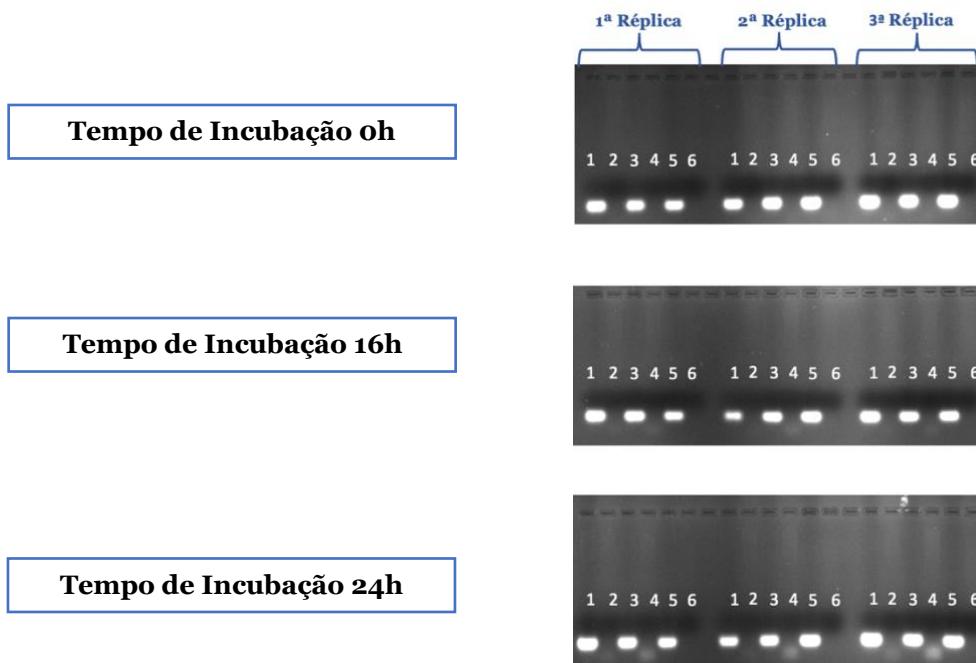
**Figura 23- Estabilização/proteção de RNA com o uso de Fenilalanina livre a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + Phe 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + Phe 4mM + RNase 0,5 µg/mL.

### Anexo XIV- DES (ChCl:Ala)



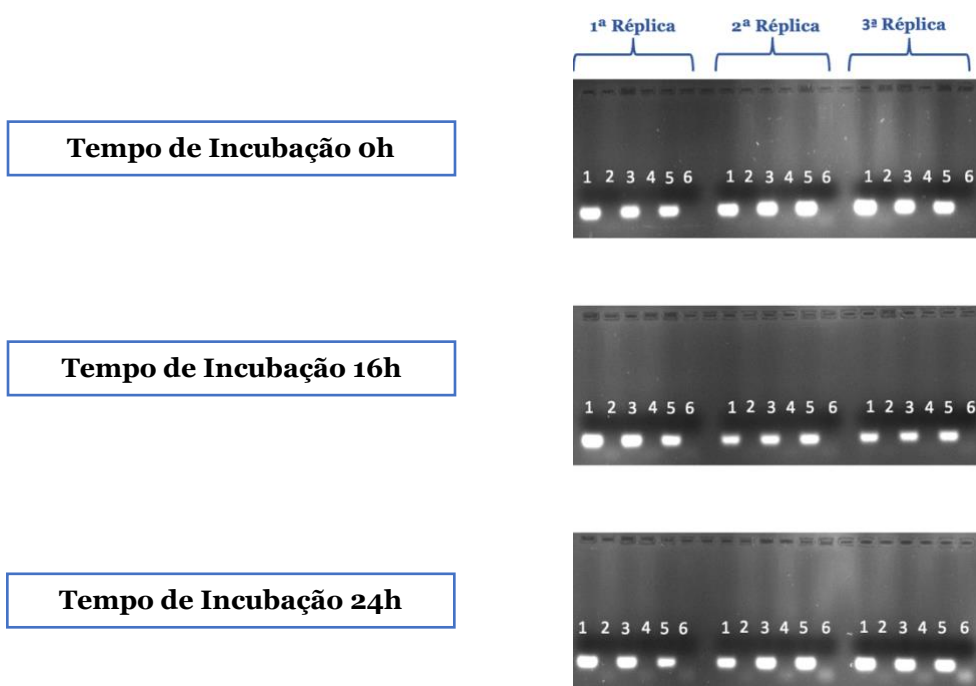
**Figura 24- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Ala) a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM + RNase 0,5 µg/mL, 5-RNA 150 µg/mL + ChCl:Ala 4mM; 6- RNA 150 µg/mL + ChCl:Ala 4mM + RNase 0,5 µg/mL

## Anexo XV- DES (ChCl:Arg)



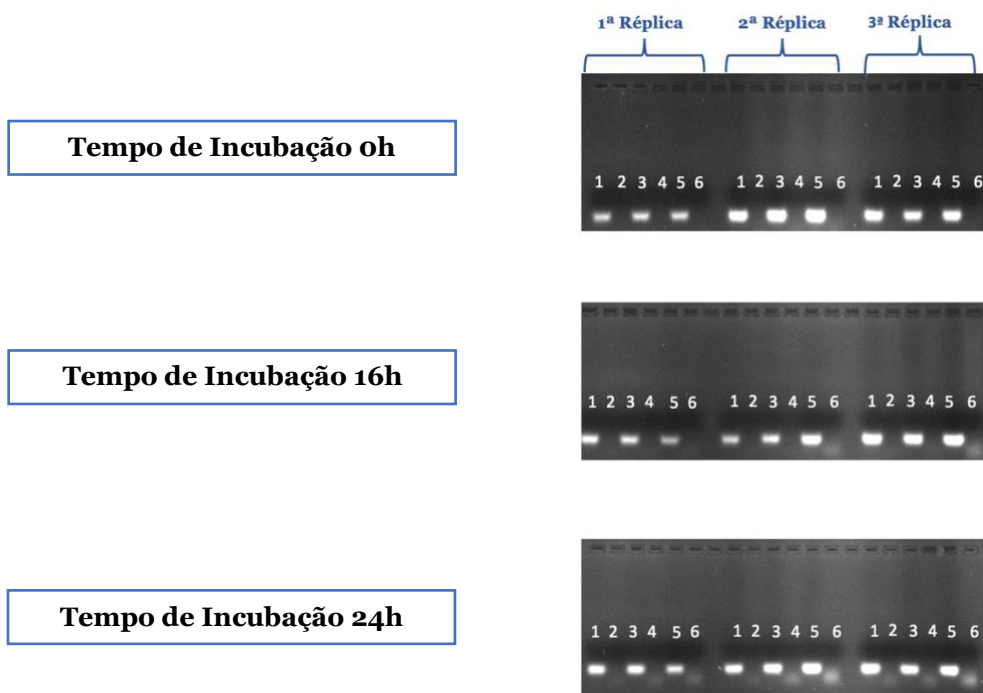
**Figura 25** Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Arg) a 4 mM: 1- RNA livre a 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 2- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 3- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl 4mM; 4- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl 4mM + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 5-RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl:Arg 4mM; 6- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl:Arg 4mM + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$

## Anexo XVI- DES (ChCl:Trp)



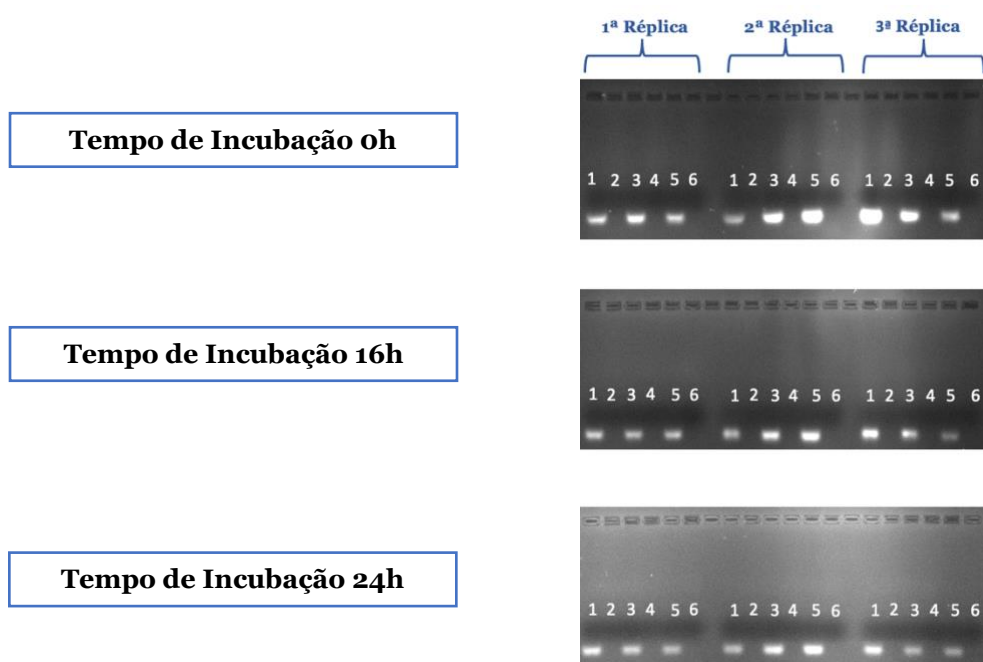
**Figura 26- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Trp) a 4 mM:** 1- RNA livre a 150 µg/mL; 2- RNA 150 µg/mL + RNase 0,5 µg/mL; 3- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM; 4- RNA 150 µg/mL + ChCl 4mM + RNase 0,5 µg/mL, 5-RNA 150 µg/mL + ChCl:Trp 4mM; 6- RNA 150 µg/mL + ChCl:Trp 4mM + RNase 0,5 µg/mL

## Anexo XVII- DES (ChCl:Gly)



**Figura 27- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Gly) a 4 mM:** 1- RNA livre a 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 2- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 3- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl 4mM; 4- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl 4mM + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 5-RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl:Gly4mM; 6- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl:Gly 4mM + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$

## Anexo XVIII- DES (ChCl:Phe)



**Figura 28- Estabilização/proteção de RNA com o uso de DES (ChCl:Ala) a 4 mM:** 1- RNA livre a 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 2- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 3- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl 4mM; 4- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl 4mM + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 5-RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl:Ala 4mM; 6- RNA 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  + ChCl:Ala 4mM + RNase 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$