

Relatório de Estágio na BlueClinical Versão Final Após Defesa

Telma Daniela Silva Costa

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Biotechnologia
(2º ciclo de estudos)

Orientadora UBI: Prof.^a Ana Cristina Monteiro Ramalinho Tavares Patrício
Orientadora BlueClinical: Prof.^a Dr.^a Nádia Filipa Soares Gonçalves

agosto de 2024

Folha em branco

Declaração de Integridade

Eu, Telma Daniela Silva Costa que abaixo assino, estudante com o número de inscrição M12413 de Biotecnologia da Faculdade de Ciências, 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 referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 14/08/2024

Folha em branco

Agradecimentos

A concretização de mais esta etapa na minha vida não seria possível sem todo o apoio que recebi em todo o meu percurso académico, mas principalmente ao longo do decorrer deste último ano por parte de várias pessoas.

Gostaria de expressar a minha profunda gratidão a todos que estiveram presentes durante o meu estágio e a elaboração deste relatório. Primeiramente, agradeço à empresa BlueClinical pela oportunidade de realizar este estágio e pela colhida calorosa. Agradeço especialmente à minha orientadora, Nádía Gonçalves, pela sua orientação, e às minhas colegas de laboratório pelos seus ensinamentos e experiências ao longo do estágio, e companhia.

Aos meus colegas de trabalho da BlueClinical, agradeço pela colaboração e por me fornecerem um ambiente de trabalho agradável e enriquecedor. Suas contribuições valiosas e o espírito de equipa foram fundamentais para meu aprendizado e crescimento profissional.

Agradeço também à minha orientadora da parte da UBI, a professora Ana Cristina Ramalinho, por ter aceitado me ajudar, e aos professores que me prepararam ao longo do curso, fornecendo a base teórica e prática necessária para a realização deste estágio.

Por fim, agradeço aos meus familiares e amigos pelo apoio constante e incentivo ao longo desta jornada dando-me sempre forças e motivação.

Folha em branco

Resumo

O presente relatório resulta do estágio curricular realizado no âmbito do Mestrado em Biotecnologia na Universidade da Beira Interior. O estágio decorreu na BlueClinical - Investigação e Desenvolvimento em Saúde, Lda durante aproximadamente sete meses e teve como foco a realização de ensaios clínicos de fase I. A BlueClinical é umas das principais empresas em Portugal que realiza ensaios clínicos de diversas fases, sendo especializada em ensaios de fase I, onde incidu o meu estágio. A BlueClinical garante qualidade e clareza na realização de todos os ensaios clínicos, assim como dos estágios que acolhe. Esta elevada qualidade advém da sua preocupação e necessidade de cumprir todos os requisitos legais em vigor, e o foco no treino de todos os colaboradores antes de iniciar as suas funções.

Para a realização do estágio, e conseqüentemente, para a elaboração deste relatório foi definido como objetivo geral a compreensão e participação na realização de ensaios clínicos de fase I na unidade clínica da BlueClinical. Para cumprir este objetivo, fui responsável pela produção dos documentos necessários para a parte laboratorial, realização de turnos clínicos atribuídos durante o ensaio, preenchimento dos documentos segundo protocolo e envio das amostras para análise.

Estruturalmente, este relatório de estágio encontra-se dividido em seis partes, sendo a primeira destinada à apresentação da empresa e apresentação dos serviços prestados. Na segunda parte é realizado um breve enquadramento teórico, onde são exploradas as investigações dos novos medicamentos, que tipo de estudos existem, os diferentes tipos de ensaios clínicos, a legislação portuguesa e europeia, e um pequeno contexto numérico sobre ensaios clínicos realizados em Portugal. Na terceira parte encontram-se apresentados os objetivos específicos para a realização do estágio. A quarta parte corresponde à explicação de como na BlueClinical os ensaios clínicos de fase I ocorrem numa forma mais detalhada sem nunca colocar em causa a integridade e confidencialidade. A quinta parte é uma explicação de tudo o que era minha responsabilidade, como técnica de laboratório, realizar antes, durante e após a finalização de um ensaio clínico. Por fim, temos uma conclusão de como correu o estágio e se todos os objetivos foram cumpridos.

Palavras-chave

BlueClinical; Ensaios Clínicos; Fase I; Laboratório

Folha em branco

Abstract

This report is the result of the curricular internship carried out within the scope of the Master's in Biotechnology at the University of Beira Interior. The internship took place at BlueClinical - Investigação e Desenvolvimento em Saúde, LDA for approximately seven months and focused on carrying out phase I clinical trials. BlueClinical is one of the main companies in Portugal that carries out clinical trials of different phases, being specialized in phase I trials, which is where my internship took place. BlueClinical guarantees quality and clarity when carrying out all clinical trials, as well as internships. This high quality comes from its concern and need to comply with all legal requirements in force, and the focus on training all employees before starting their duties.

To carry out the internship, and consequently, to prepare this report, the general objective was defined as understanding and participating in the conduct of phase I clinical trials at the BlueClinical clinical unit. To achieve this objective, I was responsible for producing the necessary documents for the laboratory part, carrying out clinical shifts assigned during the trial, completing the documents according to the protocol and sending the samples for analysis.

Structurally, this internship report is divided into six parts, the first being intended to present the company and the services provided. In the second part, a brief theoretical framework is provided, where research into new medicines is explored, what types of studies exist, the different types of clinical trials, Portuguese and European legislation, and a small numerical context on clinical trials carried out in Portugal. The third part presents the specific objectives for carrying out the internship. The fourth part corresponds to the explanation of how at BlueClinical phase I clinical trials occur in a more detailed way without ever compromising integrity and confidentiality. The fifth part is an explanation of everything that it was my responsibility, as a laboratory technician, to carry out before, during and after the completion of a clinical trial. Finally, we have a conclusion on how the internship went and whether all objectives were met.

Keywords

BlueClinical; Clinical Trials; Phase I; Laboratory

Folha em branco

Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Caraterização da Empresa.....	1
1.1.1. Serviços da BlueClinical.....	2
2. Enquadramento Teórico.....	4
2.1. Descoberta e desenvolvimento.....	4
2.2. Investigação Pré-Clínica.....	4
2.3. Investigação Clínica	5
2.4. Critérios de Elegibilidade.....	5
2.5. Gestão de Riscos na Investigação Clínica.....	6
2.6. Processo de Consentimento Informado.....	6
2.7. Categoria da Investigação Clínica.....	6
2.8. Ensaio Observacionais.....	8
2.8.1. Estudo Caso-Controlo.....	8
2.8.2. Estudo de Coorte.....	8
2.9. Ensaio Clínicos.....	9
2.9.1. Fase 0.....	10
2.9.2. Fase I.....	11
2.9.2.1. Fase I a.....	11
2.9.2.2. Fase I b.....	11
2.9.3. Fase II.....	11
2.9.3.1. Fase II a.....	11
2.9.3.2. Fase II b.....	12
2.9.4. Fase III.....	12
2.9.5. Fase IV	12
2.10. Classificação dos Ensaio Clínicos	14
2.10.1. Grupos Controlo.....	15
2.10.1.1 Ensaio Não Controlado.....	15
2.10.1.2 Ensaio Controlado.....	15
2.10.2. Método de Alocação dos Participantes.....	15
2.10.2.1. Ensaio Não Randomizado.....	15
2.10.2.2. Ensaio Randomizado.....	15
2.10.3. Nível.....	15
2.10.3.1. Estudo Aberto.....	15
2.10.3.2. Estudo Cego.....	16

2.10.4. Estrutura do Tratamento.....	16
2.10.4.1. Ensaio Paralelo.....	16
2.10.4.2. Ensaio Cruzado.....	17
2.11. Biodisponibilidade.....	18
2.12. Ensaios de Bioequivalência.....	19
2.13. Regulamentação e Legislação.....	19
2.14. Estatística de Ensaios Clínicos em Portugal.....	21
3. Objetivos.....	25
4. Fase I na BlueClinical.....	26
4.1. Equipa em Ensaios Clínicos.....	26
4.2. Documentos.....	28
4.2.1. CSP.....	28
4.2.2. TMF.....	28
4.2.3. SPP.....	29
4.2.4. AMIS.....	30
4.3. Screening.....	31
4.4. Admissão.....	32
4.5. Administração da Dose.....	32
4.5.1. Ambulatório.....	33
4.5.1.1. Fim de Estudo EOS.....	34
4.5.2. Envio de amostras para PK e/ou PD para análise.....	35
4.6. Biolaboratório.....	36
4.6.1. LC-MS/MS.....	36
4.7. Plano Bioanalítico.....	37
4.7.1. Validação.....	37
4.8. Relatório Bioanalítico.....	38
5. Estágio na BlueClinical.....	40
6. Conclusão.....	43
7. Referências Bibliográficas.....	44

Folha em branco

Lista de Figuras

Figura 1: Logótipo da BlueClinical, Lda.....	1
Figura 2: Resumo de um Ensaio Clínico, adaptado [6].....	7
Figura 3: Resumo de um Estudo Observacional, adaptado [6].....	7
Figura 4: Tipos de Ensaio Clínicos, adaptado [13].....	9
Figura 5: Exemplo de um Estudo em Paralelo, adaptado [23].....	16
Figura 6; Exemplo de um Estudo Cruzado, adaptado [23].....	17
Figura 7: Considerações num Estudo Cruzado, adaptado [23].....	17

Folha em branco

Lista de Tabelas

Tabela 1: Resumo de Ensaio Clínicos, adaptado [4].....	14
--	----

Folha em branco

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Ensaio Clínicos em 2023, adaptado [27].....	21
Gráfico 2: Número de Ensaio Autorizados nos últimos anos [27].....	22
Gráfico 3: Comparação do número de Ensaio submetidos e o número de Ensaio que concluíram a primeira parte [27].....	23
Gráfico 4: Desenvolvimento das diferentes fases clínicas ao longo dos anos [27].....	23

Folha em branco

Lista de Acrónimos

AMM	Associação Médica Mundial
AMIS	<i>Analytical Methodology Information Sheet</i>
AUC	Área sob a curva
CEIC	Comissão de Ética para a Investigação Clínica
R&D	Serviços de Pesquisa e Desenvolvimento
Cmax	Concentração Máxima
CNPD	Comissão Nacional de Proteção de Dados
CRA	<i>Clinical Research Associate</i>
CRC	<i>Clinical Research Coordinator</i>
CRP	<i>Clinical Research Partnership</i>
CRO	<i>Contract Research Organization</i>
CTA	<i>Clinical Trial Application</i>
CSP	<i>Clinical Study Protocol</i>
ECRs	Ensaio Clínicos Randomizados
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
ELISA	Ensaio Imunológicos
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EOS	<i>End-of-Study</i>
EU	União Europeia
FDA	<i>The Food and Drug Administration</i>
FSH	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GCP	<i>Good clinical practice</i>
GDPR	<i>General Data Protection Regulation</i>
GLP	<i>Good Laboratory Practice</i>
CRC	<i>Clinical Research Coordinator</i>
ICF	<i>Informed Consent Form</i>
IMC	Índice de Massa Corporal
LC-MS/MS	<i>Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry</i>
LOD	<i>Limit of Detection</i>
LOQ	<i>Limit of Quantitation</i>
PD	<i>Pharmacodynamics</i>
PI	<i>Principal Investigator</i>
PK	<i>Pharmacokinetics</i>

PM	<i>Project Manager</i>
QC	<i>Quality Control</i>
SBV	Suporte Básico de Vida
SCR	<i>Screening</i>
SPP	<i>Sample Process Plan</i>
SOPs	<i>Standart Operating Procedure</i>
TMF	<i>Trial Master File</i>
UBI	Universidade da Beira Interior
βHCG	Gonadotrofina Coriónica Humana

Folha em branco

1. Introdução

O presente relatório de estágio corresponde ao estágio curricular do Mestrado em Biotecnologia na Universidade da Beira Interior, tendo em vista a obtenção do grau de mestre. O estágio ocorreu na BlueClinical – Investigação e Desenvolvimento em Saúde, Lda, entre os meses de setembro de 2023 e maio 2024. Este estágio teve como propósito a aquisição de conhecimentos na área dos ensaios clínicos, mais especificamente ensaios clínicos de fase I, compreender toda a sua estrutura e funcionamento, assim como, aplicar todas as aprendizagens em prática no laboratório, como técnica de laboratório.

Este relatório de estágio encontra-se dividido em seis partes. A primeira parte é relativa à caracterização da empresa, a segunda explica todo o processo teórico por detrás deste tipo de empresas, desde exemplos dos vários tipos de ensaios clínicos às várias especificações de ensaios clínicos de fase I. A terceira parte é constituída pelos objetivos que pretendi atingir na realização do estágio. A quarta parte é a descrição de como funcionam os ensaios clínicos de fase I na BlueClinical. A quinta parte refere-se ao estágio realizado, funções desempenhadas, desafios e responsabilidades como técnica de laboratório numa unidade de ensaios clínicos de fase I. A sexta parte é uma breve conclusão sobre o trabalho realizado.

1.1. Caracterização da Empresa

A BlueClinical - Investigação e Desenvolvimento em Saúde, Lda (Figura 1) foi fundada em maio de 2012, sendo uma empresa portuguesa dedicada à prestação de serviços de investigação clínica contribuindo para o desenvolvimento de novos medicamentos, testando-os em humanos pela primeira vez. Tendo como objetivo melhorar a saúde e a qualidade de vida dos pacientes, a BlueClinical atua em várias áreas da investigação clínica, incluindo ensaios clínicos, bioestatística, farmacovigilância e consultoria em regulamentação. A sua sede e Unidade de Farmacologia Clínica situa-se em Matosinhos, enquanto a Unidade para a condução clínica localiza-se no Hospital da Prelada. A sua localização numa unidade hospitalar facilita os acessos ao serviço e apoio a urgências. ^[1]



Figura 1: Logótipo da BlueClinical, Lda

Com uma equipa altamente qualificada e experiente, a BlueClinical colabora com instituições de saúde, universidades e empresas farmacêuticas tanto a nível nacional como internacional. A empresa é reconhecida pela sua excelência na condução de ensaios clínicos de fase I a IV, garantindo altos padrões de qualidade, ética e conformidade com as normas internacionais.

A BlueClinical tem como missão contribuir para o avanço da medicina através da investigação clínica rigorosa e inovadora, buscando sempre oferecer soluções que promovam a eficácia e a segurança dos tratamentos médicos. Além disso, a empresa valoriza a formação contínua dos seus colaboradores e o desenvolvimento de parcerias estratégicas que potencializem o impacto das suas pesquisas.

Ao longo dos anos, a BlueClinical tem demonstrado um compromisso inabalável com a ciência e a saúde, consolidando-se como um parceiro de confiança na busca por avanços terapêuticos que beneficiem a sociedade como um todo.

No ano de 2023, a BlueClinical anunciou sua adesão à Astrum, marcando um importante passo em sua trajetória de crescimento e inovação.^[1] Astrum é uma rede Europeia de organizações dedicadas à inovação em investigação clínica, unindo empresas e instituições que buscam colaborar para acelerar o desenvolvimento de novas terapias e medicamentos. A rede oferece uma plataforma para a partilha de conhecimentos, recursos e melhores práticas, promovendo um ambiente de cooperação e inovação contínua.^[2]

A participação na rede Astrum abre novas oportunidades para a BlueClinical colaborar com outras empresas e instituições líderes na área de investigação clínica. É expectável que estas colaborações resultem em projetos conjuntos, partilha de melhores práticas e desenvolvimento de novos métodos e tecnologias para ensaios clínicos.

A adesão à Astrum reforça a credibilidade da BlueClinical no mercado global de investigação clínica. Ser parte de uma rede respeitada como a Astrum é um reconhecimento da qualidade e excelência dos serviços oferecidos pela empresa, fortalecendo sua posição como um parceiro confiável na indústria.

1.1.1 Serviços da BlueClinical

A BlueClinical tem várias unidades de negócio, cada uma com um objetivo diferente, tais como Serviços de Pesquisa e Desenvolvimento (R&D), onde se realiza consultoria para desenvolvimento clínico. Neste serviço há uma consultoria para se definir a melhor estratégia para o desenvolvimento clínico de medicamentos, o planeamento desse mesmo estudo e ainda suporte regulatório. Ainda há auxílio com os aspetos regulamentares globais, tais como EMA (*European*

Mediciones Agency) e FDA (*Food and Drug Administration*), e com o desenvolvimento dos protocolos do estudo que delinearão o ensaio clínico.

O Serviço Completo de CRO (*Contract Research Organization*) engloba a gestão de ensaios clínicos, desde o recrutamento de participantes até à análise de dados, coordenação em vários centros clínicos, garantindo que todo o procedimento e integridade dos dados esteja dentro do padrão estabelecido.^[1] Também fornece suporte logístico, que inclui a documentação necessária para a realização dos ensaios clínicos, um local certificado para a realização desses ensaios clínicos, transporte das amostras biológicas e monitorização dos estudos nos centros clínicos.

Os Serviços de ensaios clínicos de fase I é onde se realizam os ensaios em participantes saudáveis. Aqui a BlueClinical segue todas as normas rigorosas e requisitos éticos relacionados com os ensaios clínicos, visando garantir a segurança dos participantes. Principalmente, em situações em que o produto em estudo é um novo medicamento, e será a primeira vez a ser administrado em humanos, é essencial avaliar a sua segurança, tolerabilidade, farmacocinética e farmacodinâmica, e adicionalmente ver se há efeitos na sua adsorção com a ingestão de alimentos, ou se é mais adequado em jejum. Durante esta fase existem requisitos éticos, alguns deles exigidos pela Comissão de Ética que é responsável de aprovar os estudos, assegurando que se comprem os direitos, segurança e bem-estar dos participantes. E ainda a proteção dos dados, a informação de cada participante deve ser registada e protegida conforme a Comissão Nacional de Proteção de Dados (CNPD) e a Comissão de Ética para a Investigação Clínica (CEIC).^[1]

A CRP (*Clinical Research Partnership*) é uma colaboração com várias instituições de saúde, como Hospitais. Esta colaboração serve com uma infraestrutura compartilhada para realizar ensaios clínicos ao mesmo tempo em vários pontos do país.^[1] Há diversas vantagens nestas parcerias, tais como na rapidez no recrutamento de participantes, um número mais elevado de participantes recrutados, e na realização de ensaios clínicos com populações diversificadas correspondendo às expectativas do ensaio.

Outros dois serviços são a farmacovigilância e a bioestatística, o primeiro é a monitorização da segurança dos medicamentos, identificando e avaliando as suas reações adversas.^[1] O segundo são análises estatísticas detalhadas que apoiam a investigação clínica, desde o *design* do estudo até à sua interpretação de dados.

A BlueClinical proporciona uma gama abrangente de serviços de alta qualidade para ensaios clínicos, garantindo conformidade regulatória, proteção dos participantes e monitorização contínua da segurança.

2. Enquadramento teórico

Os ensaios clínicos são estudos realizados em seres humanos com o objetivo de avaliar a segurança, eficácia e efeitos secundários de intervenções médicas, incluindo medicamentos, dispositivos, procedimentos e terapias. Estes estudos são fundamentais para o desenvolvimento de novas terapias que possam melhorar a saúde e a qualidade de vida dos pacientes, desempenhando um papel crucial no avanço da medicina, e permitindo a descoberta e desenvolvimento de novos tratamentos e/ou medicamentos.^[3] Além disso, fornecem evidência científica robusta que apoia a aprovação regulamentar e a utilização de novos tratamentos na prática clínica. Esses parâmetros garantem também a segurança do paciente, assegurando que os novos tratamentos sejam seguros e eficazes antes de serem disponibilizados ao público.

O desenvolvimento de novos medicamentos é um processo complexo e meticuloso, composto por diversas fases que visam garantir a eficácia, segurança e qualidade dos produtos farmacêuticos ^[4].

2.1 Descoberta e Desenvolvimento

Na fase inicial do processo de desenvolvimento de novos medicamentos os investigadores exploram novas abordagens terapêuticas, incluindo tratamentos existentes com efeitos imprevisíveis, bem como tecnologias emergentes que permitem direcionar medicamentos para alvos específicos ou manipular o material genético.^[5] Esta fase, impulsionada por *insights* inovadores sobre os mecanismos subjacentes das doenças, envolve experimentação rigorosa para entender a absorção, distribuição, metabolismo e excreção do medicamento, bem como seus potenciais benefícios, mecanismos de ação, dose ideal, via de administração e efeitos secundários. Além disso, são investigadas as interações medicamentosas, a eficácia comparativa e os efeitos variáveis em diferentes populações, como etnias, raças e géneros.

2.2 Investigação Pré-clínica

Antes de avançar para testes em seres humanos, as moléculas candidatas a medicamentos passam por uma fase de investigação pré-clínica. Nesta etapa, os investigadores realizam estudos *in vitro* e *in vivo* para avaliar a toxicidade potencial e obter dados detalhados sobre o composto em questão. Embora não tão extensos quanto os estudos clínicos, essas experiências fornecem informações cruciais que orientam a progressão para ensaios em humanos. ^[5]

2.3. Investigação Clínica

A investigação clínica refere-se a toda a investigação que é desenvolvida em humanos (saudáveis ou doentes). Tem como foco a melhoria no desenvolvimento de novos tratamentos ou dispositivos médicos.

Os ensaios clínicos representam a fase crítica do desenvolvimento, onde os medicamentos são testados em populações humanas. O protocolo de um ensaio clínico é meticulosamente elaborado para abordar questões médicas específicas, incluindo a segurança e eficácia do medicamento. Este protocolo define critérios de inclusão e exclusão, o número de participantes, a duração do estudo, a necessidade de um grupo de controlo, a dosagem e modo de administração do medicamento, bem como os procedimentos de avaliação e análise de dados.

2.4. Critérios de elegibilidade

Os critérios de elegibilidade para participar de estudos clínicos são essenciais para garantir a segurança dos participantes e a viabilidade dos resultados. Esses critérios, também conhecidos como critérios de inclusão e exclusão, especificam quem pode ou não participar de um estudo, e variam conforme o objetivo do estudo. ^[6]

Os parâmetros comuns aos ensaios para elegibilidade são: 1) a faixa etária, o estudo pode ser direcionado para uma faixa etária específica como crianças, jovens adultos ou idosos, mas por norma em fase I a idade varia entre 18 e 65 anos^[7]; 2) o género, certos estudos focam-se exclusivamente em homens ou mulheres, devido às suas diferenças biológicas ou hormonais; 3) o estado de saúde do participante na seleção é importante, com base na presença ou ausência de uma condição específica, e também o seu histórico médico, antigos tratamentos, cirurgias ou outras condições médicas uma vez que podem influenciar a elegibilidade^[8]; 4) por fim temos as exposições ambientais ou hábitos, o estudo pode requerer a participação de pessoas expostas a certos ambientes ou substâncias, ou não incluir participantes com hábitos como fumar e beber álcool frequentemente.

Estes critérios são utilizados para recrutar participantes adequados e garantir que os dados obtidos sejam relevantes e úteis para responder às perguntas da pesquisa.

2.5. Gestão de Risco na Investigação Clínica

A segurança dos participantes é uma prioridade fundamental em qualquer investigação clínica. Para garantir essa segurança, várias medidas são implementadas, como a revisão ética, onde todos os estudos são revistos por comissões de ética independentes que avaliam os protocolos quanto à segurança e ética dos envolvidos; à avaliação dos riscos e benefícios por parte dos investigadores pelas entidades reguladoras.

Há uma monitorização contínua por equipas especializadas, internas ou externas, para garantir a segurança dos participantes e a integridade dos dados.

Estas medidas são projetadas para assegurar que os estudos clínicos sejam conduzidos de maneira ética e segura, minimizando os riscos para os participantes e maximizando os benefícios para a sociedade.

2.6. Consentimento Informado

Antes de iniciar a participação em um estudo clínico, é disponibilizado aos candidatos um consentimento informado, que inclui a descrição detalhada de cada passo do estudo. São discriminados: 1) Os critérios de participação, que critérios os participantes têm de corresponder para serem selecionados, assim como a lista de critérios de exclusão ^[9]; 2) a duração do estudo, existe um tempo definido para a duração do ensaio em específico e quantas visitas às instalações são necessárias. Com a indicação no número de visitas e de internamentos está a informação de qual será a compensação financeira por cada procedimento e o valor total que o participante beneficiará se chegar ao final do ensaio clínico de fase I No consentimento informado, há também a indicação dos benefícios que o medicamento traz ou se não trará nenhum, e os riscos de adventos adversos conhecidos ou que potencialmente podem existir.

Os participantes podem retirar o seu consentimento a qualquer momento sem penalidades. ^[9] Durante o estudo, a equipa médica está disponível para esclarecer quaisquer dúvidas e garantir a segurança dos participantes.

2.7. Categorias da Investigação clínica

Ensaio Intervencionais: Os ensaios clínicos são investigações nas quais os participantes são designados para receber uma ou mais intervenções específicas, a fim de avaliar os efeitos dessas intervenções em seres humanos (Figura 2). Muitas vezes, essas intervenções são experimentais,

ou seja, ainda não foram aprovadas para uso clínico convencional. Em alguns casos, os participantes são aleatoriamente designados para diferentes grupos de intervenção, garantindo uma distribuição imparcial dos tratamentos, sendo denominados ensaios clínicos randomizados (ECR).^[6]

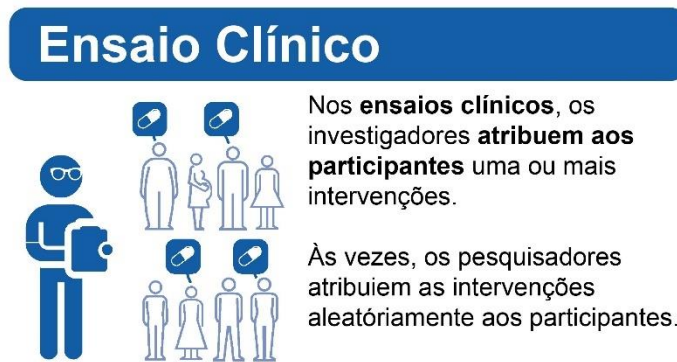


Figura 2: Resumo de um Ensaio Clínico, adaptado [6]

Estudos Observacionais: Os estudos observacionais são pesquisas nas quais os investigadores recolhem informações ou analisam dados já existentes, sem impor intervenções específicas nos participantes.^[6] Esses estudos são fundamentais para observar e entender os padrões de comportamento e suas relações com a saúde (Figura 3). Os registos de pacientes são frequentemente utilizados como fonte de dados, permitindo acesso a informações detalhadas sobre grandes grupos de indivíduos.

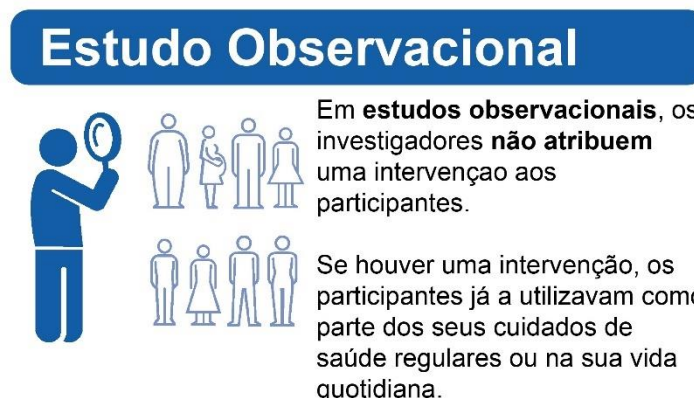


Figura 3: Resumo de um Estudo Observacional, adaptado [6]

2.8. Ensaaios observacionais

Um estudo observacional é um tipo de investigação onde se examina o impacto de uma intervenção, teste diagnóstico ou tratamento sem interferir na exposição dos participantes. Diferente dos estudos experimentais ou intervencionais, onde os investigadores controlam a exposição dos indivíduos ao tratamento e utilizam grupos de controlo e grupos experimentais, os estudos observacionais não envolvem essa intervenção.^[6]

As desvantagens divergem entre este estudo ser mais suscetível a erros, especialmente erros por confusão, onde características compartilhadas podem influenciar os resultados, e entre interferência limitada, pois a capacidade de estabelecer relações de causa e efeito é mais limitada em comparação com os ECRs devido à falta de manipulação e controlo rigoroso.^[6]

Existem três tipos principais de estudos observacionais, cada um adequado para diferentes contextos e objetivos da pesquisa. A escolha do tipo apropriado de estudo é crucial para obter resultados válidos e úteis.

2.8.1. Estudo Caso-Controlo

Neste estudo os investigadores identificam os indivíduos que possuem uma determinada condição de saúde (casos) e comparam com um grupo semelhante, em termos de número e sexo, mas que não possuem a condição de saúde (controlo).^[10] É usado para identificar fatores que podem contribuir para uma condição em específico, ajudando assim a gerar potenciais hipóteses. Menos dispendioso e mais rápido, e menos propenso a erros ^[11].

2.8.2. Estudo de Coorte

Estes estudos analisam um grupo de pessoas (coorte) que tenham sido expostas ao mesmo tratamento ao longo de um período para determinar como essa exposição afeta a incidência da patologia. É utilizado para estudar as relações de causa e efeito. ^[10] O estudo é mais demorado e dispendioso ^[11].

2.9. Ensaios Clínicos

Os ensaios clínicos são conduzidos em fases sequenciais, cada uma com objetivos e procedimentos distintos. Essa abordagem gradativa permite uma avaliação completa da segurança e eficácia do medicamento antes da sua aprovação regulatória e lançamento no mercado.^[12]

Os ensaios clínicos são divididos em quatro fases, onde a Fase I tem como objetivo a análise da segurança dos medicamentos em estudo; a Fase II a sua eficácia; a Fase III a conclusão do estudo sobre o tratamento, como é que comparado ao tratamento padrão o tratamento teste age em doentes; a Fase IV é uma vigilância do medicamento após a sua comercialização. A imagem 4 fornece um resumo simples destas quatro fases descritas, no entanto efetuarei uma descrição mais detalhada para cinco fases, onde será incluída a Fase 0, embora muitas vezes não conduzida, com avanço imediato para a Fase I.



Figura 4: Tipos de ensaios clínicos, adaptado [13]

2.9.1 Fase 0

A fase 0 é particularmente útil em cenários onde há uma alta incerteza sobre a segurança e o comportamento farmacocinético (PK - *Pharmacokinetic*) e farmacodinâmico (PD - *Pharmacodynamic*) PK/PD do novo medicamento. É uma ferramenta valiosa no desenvolvimento de medicamentos oncológicos e outras terapias inovadoras, onde a segurança é um ponto crítico. Envolve um número muito reduzido de participantes (geralmente entre 10 e 15) [14], que podem ser saudáveis ou pacientes com doenças alvo.

Consiste na administração única ou de múltiplas doses subterapêuticas, frequentemente conhecidas como microdoses, que são cerca de 1/100^a da dose esperada para produzir um efeito terapêutico [14], e por um período curto.

A ação do medicamento no ser humano é de modo geral analisado pela PK, que avalia como o medicamento é absorvido, distribuído, metabolizado e eliminado pelo corpo e pela PD que avalia os efeitos biológicos iniciais do medicamento e relação entre dose e resposta.

Esta fase é importante para avaliar a segurança e tolerabilidade ao novo princípio ativo, para detectar qualquer efeito adverso, embora o risco é reduzido uma vez que são administradas doses subterapêuticas. [15]

As vantagens desta fase é a obtenção rápida de dados de PK e PD, o que ajuda a tomar decisões sobre o candidato a medicamento e avançar para as fases posteriores. Esta fase tem um risco bastante reduzido devido às microdoses utilizadas, minimizando assim o risco dos participantes enquanto se obtém informações valiosas do comportamento do princípio ativo [15]. O custo até à introdução do medicamento no mercado reduz-se ao realizar-se esta fase, pois permite a obtenção de dados iniciais que determinam a viabilidade do medicamento antes de se avançar para ensaios maiores. Permite uma rejeição rápida de candidatos ineficazes, identificação dos medicamentos que não têm um perfil PK/PD favorável, economizando tempo e recursos.

No entanto, ao ser um ensaio com um pequeno número de participantes contém algumas limitações, já que as informações obtidas são preliminares e podem não se refletir na resposta em doses terapêuticas. [4] O pequeno número de participantes também limita a generalização dos resultados. Por fim, estes ensaios não avaliam o impacto terapêutico, uma vez que os resultados apenas avaliam a segurança e as características de PK/PD.

A fase 0 representa uma abordagem inovadora para a avaliação inicial de novos medicamentos, proporcionando uma forma rápida e segura de obter dados fundamentais que podem guiar o desenvolvimento clínico subsequente [4].

2.9.2 Fase I

Os ensaios clínicos de Fase I são a primeira etapa na avaliação de novos medicamentos em seres humanos. Estes estudos são cruciais para garantir a segurança e estabelecer a dose adequada de novos tratamentos antes que possam avançar para fases posteriores de investigação clínica. Envolve um pequeno número de participantes (entre 20 e 100) [4]. Os ensaios clínicos de fase I são subdivididos em fase I a e fase I b.

2.9.2.1. Fase I a

Os ensaios de Fase I a são um subgrupo dos ensaios de fase I, focados especificamente na avaliação inicial da segurança e da farmacocinética do medicamento [4]. O seu objetivo é avaliar a segurança inicial e a tolerabilidade do medicamento em uma população saudável, estabelecer a dose inicial e o perfil farmacocinético [16].

É uma etapa com um número de participantes entre 10 e 50, em que esses mesmos recebem uma dose única para avaliar os efeitos secundários [17].

2.9.2.2. Fase I b

Os ensaios de Fase I b são conduzidos após os ensaios de Fase I a terem estabelecido a segurança inicial do medicamento [4]. Eles continuam a focar na segurança, mas também avaliam a eficácia preliminar, especialmente numa população específica de pacientes. O número de participantes é mais elevado, entre 50 e 100, onde estes podem receber doses múltiplas.

Estes ensaios são importantes para avaliar da segurança da dose e a eficácia em pacientes com a condição alvo, permitindo explorar a farmacocinética e a farmacodinâmica em maior detalhe.

2.9.3. Fase II

Estes ensaios incluem um número maior de participantes (100-300) e examinam a eficácia e a segurança continuamente [4]. Ajudam a refinar a dose correta, e são focados em avaliar a eficácia e segurança de um medicamento, mas com objetivos e características distintas.

2.9.3.1 Fase II a

Esta fase é essencial para explorar a relação entre a dose do medicamento e a sua eficácia, uma vez que são testadas várias doses, de modo a definir qual delas proporciona um equilíbrio entre eficácia e segurança [18]. Este estudo fornece dados preliminares sobre a eficácia do medicamento

num grupo com a condição alvo, identificando sinais iniciais de eficiência, no entanto a sua segurança continua a ser avaliada.

2.9.3.2 Fase II b

A fase posterior confirma a dose com melhor resultado, validando a dosagem que maximiza a eficácia enquanto apresenta os menores efeitos secundários. Sendo um grupo de maior proporção, a sua avaliação em termos de eficácia e segurança é mais significativa em termos estatísticos já que os dados fornecidos são mais potentes estatisticamente [18].

Geralmente inclui um grupo de controlo para comparar a eficácia do novo medicamento com o tratamento padrão ou placebo. Costuma ser randomizado e controlado, com um rigor metodológico mais alto do que a fase II a. Isso inclui uma maior padronização dos procedimentos e métodos de análise para garantir a validade dos resultados.

2.9.4. Fase III

Os ensaios clínicos de fase III envolvem grandes grupos de participantes (1.000-3.000 ou mais) para confirmar a eficácia, monitorizar os efeitos secundários e comparar com tratamentos padrão [4]. Essas informações irão permitir o uso do medicamento de forma segura em larga escala.

O número elevado de participantes garante que os resultados sejam estatisticamente significativos e que possam ser generalizados para a população geral. Serão usados grupos controlo e métodos de randomização, o ensaio será o mais aleatório possível em que ninguém, desde participantes a investigadores, sabe qual o medicamento a ser usado e poderá durar anos, dependendo da doença alvo ou do medicamento que está a ser monitorizado.

É uma fase usada para comparar tratamentos já existentes com o novo em estudo, ou com placebo, avaliando a sua eficácia. Acompanhar os seus efeitos adversos a longo prazo e a segurança do medicamento. São usados vários centros, envolvendo vários hospitais para garantir uma maior diversidade de dados.

2.9.5. Fase IV

Os ensaios clínicos de Fase IV são realizados após o medicamento ou tratamento ter sido aprovado para uso por um órgão regulador, como a FDA ou EMA. O objetivo é monitorizar a segurança e a eficácia do medicamento em populações maiores e mais diversificadas, bem como identificar qualquer efeito colateral raro ou a longo prazo [4].

É monitorizada a farmacovigilância, a eficácia em subpopulações específicas e as interações com medicamentos ou outros tratamentos que não foram analisados nas fases anteriores ^[19].

As fases III e IV são importantes para garantir a segurança e a eficácia para a população mais geral, estas permitem identificar os riscos que não foram evidentes nos estudos anteriores, menores e mais controlados. Os dados obtidos na fase III são essenciais para aprovação do medicamento e na fase IV o uso contínuo do medicamento fornece informações importantes que podem levar ajuste de doses ou novas contraindicações. Essas fases são partes essenciais no processo de desenvolvimento de novos tratamentos, garantindo que os medicamentos que chegam ao mercado sejam eficazes e seguros para o uso em larga escala.

Tabela 1: Resumo de Ensaio Clínicos, adaptado [4]

Fase de Ensaio Clínicos	Tipo de estudos	Natureza do estudo
Fase 0	Exploratório	Testar concentrações muito baixas (subterapêuticas) do medicamento por curtos períodos. Estudo da farmacocinética e determinação da dose para ensaios de fase I.
Fase I; Fase I a; Fase I b	Não Terapêutico	Testar a farmacocinética e os efeitos farmacodinâmicos. Envolve >50 voluntários saudáveis.
Fase II; Fase II a; Fase II b	Exploratório	Avaliar a dosagem eficaz e os efeitos terapêuticos em cerca de 5-100 voluntários. Define o regime terapêutico e a interação entre medicamentos. Normalmente ocorre em vários centros clínicos.
Fase III	Terapêutico para confirmação	Comparar o novo medicamento com o placebo/ medicamento de referência. Envolve mais de 300 voluntários em vários centros. Fase de pré-marketing onde se avalia a eficácia e a segurança.
Fase IV	Pós-aprovação	Avaliar de forma prolongada os efeitos adversos e interação com outros medicamentos, após a introdução do medicamento no mercado.

2.10. Classificação dos Ensaio Clínicos

Durante o processo de planejamento de um ensaio clínico, o investigador com informações sobre as investigações pré-clínicas e/ou por se tratar de um produto teste com produto referência já comercializado, desenha o ensaio de modo a garantir a sua maior eficácia e aprovação.

A classificação dos ensaios clínicos conforme seu desenho e objetivo final é crucial para a condução de pesquisas rigorosas e válidas. Essas categorias ajudam a definir a metodologia apropriada, garantindo que os resultados obtidos sejam robustos e confiáveis, contribuindo para o desenvolvimento seguro e eficaz de novos tratamentos.

Estas classificações são importantes para determinar a metodologia apropriada e garantir resultados.

2.10.1. Grupos controle

2.10.1.1. Ensaio não controlado

Neste tipo de ensaios não há nenhum grupo usado como controle, a eficácia e toxicidade do medicamento em estudo será comparado dentro do grupo de estudo ao longo dos diferentes períodos de tempo [20]. Em geral, é usado em ensaios de fase I e II.

2.10.1.2. Ensaio controlado

Neste tipo de ensaio é usado um grupo controle que irá receber placebo ou o medicamento usado como referência e um grupo de tratamento que receberá o medicamento experimental [20]. É mais comum ser usado em ensaios de fase III, onde o objetivo é comprovar rigorosamente a eficácia do novo produto com o produto padrão atual.

2.10.2. Método de alocação dos participantes

2.10.2.1. Ensaio não randomizado

Os participantes serão distribuídos no grupo controle ou no grupo de tratamento no qual recebem o medicamento teste de forma não aleatória. É utilizado em circunstâncias específicas onde a randomização não é viável, no entanto este pode afetar a validade dos resultados [20].

2.10.2.2. Ensaio randomizado

Randomização é o processo de distribuição de participantes ao grupo de tratamento ou controle de forma aleatória nos grupos. Cada participante tem chances iguais de ser atribuído a qualquer grupo [21], aumentando assim a validade dos resultados. É sempre usado como padrão nos ensaios clínicos de fase II e III. A randomização é frequentemente utilizada para assegurar que os grupos sejam comparáveis.

2.10.3. Nível

2.10.3.1. Estudo aberto

Nestes ensaios todos os envolvidos no estudo desde os participantes aos investigadores sabem qual o tratamento que está a ser administrado. Este desenho de estudo pode ser escolhido porque

não é necessário omitir qual o medicamento está a ser administrado ou porque não é possível omitir [22].

2.10.3.2. Estudo cego

Este estudo é utilizado para minimizar o viés resultado do conhecimento do tratamento que está a ser administrado. Há duas subdivisões neste tipo de ensaios: 1), o estudo cego simples, onde apenas os participantes não têm conhecimento do tratamento recebido [22]; 2) o estudo duplo-cego em que nenhum dos envolvidos (participantes e investigadores) têm conhecimento do tratamento que está a ser administrado. A informação do tratamento que foi administrado a cada participante só é conhecida pelos membros da equipa que não interagem com o participante ou em casos excepcionais como o surgimento de eventos adversos sérios.

2.10.4. Estrutura do tratamento

2.10.4.1. Ensaio paralelo

Os voluntários são distribuídos em diferentes grupos e recebem em simultâneos tratamentos distintos, como exemplifica a Figura 5. Este tipo de estrutura é usado em ensaios clínicos de fases avançadas para comparar a eficácia e segurança entre os tratamentos.

Num Estudo de Paralelo,

Cada paciente recebe um tratamento

Num estudo em paralelo, cada paciente é colocado num braço de estudo.

Um braço de estudo pode consistir no estudo do tratamento, placebo, tratamento padrão, medicamento comparativo ou diferentes doses do tratamento do estudo. Os pacientes irão permanecer nesse grupo de tratamento durante o estudo.

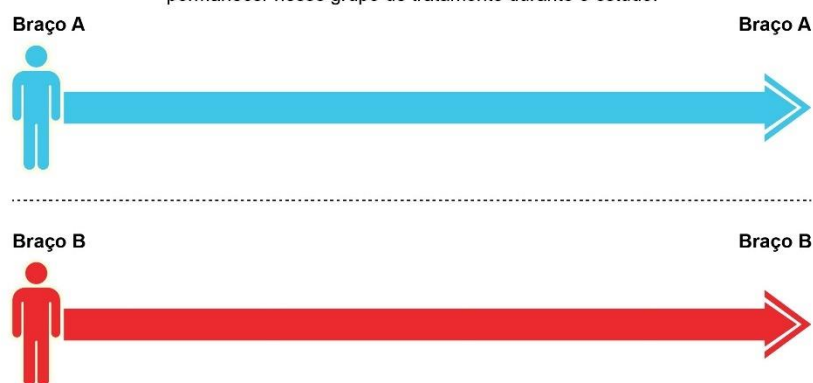


Figura 5: Exemplo de um estudo em paralelo, adaptado [23]

2.10.4.2. Ensaio cruzado

Os participantes recebem ambos os tratamentos em diferentes períodos do estudo, e usa-se o próprio participante como controlo para ele mesmo, como exemplificado na Figura 6. Esta estrutura de ensaio é útil para reduzir a variabilidade e aumentar a precisão na comparação dos tratamentos ao utilizar a mesma pessoa, como ilustrado na Figura 7 com as considerações a ter em conta num ensaio cruzado.

Num Ensaio Cruzado,

Cada paciente recebe ambos os tratamentos

Num ensaio cruzado, cada paciente começa num braço de estudo e depois troca para o outro durante o estudo.

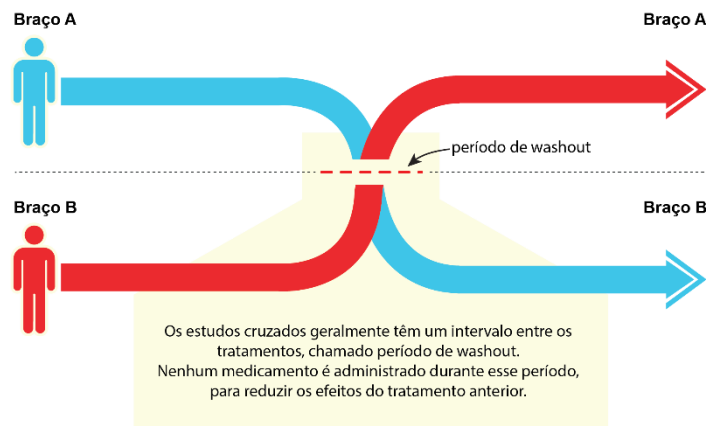


Figura 6: Exemplo de um estudo cruzado, adaptado [23]

Considerações para **Ensaio Cruzado**

QUANDO SÃO USADOS

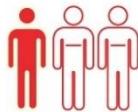


Não são adequados para condições agudas ou de curta duração



Melhor para condições crônicas ou de longo prazo com sintomas estáveis

EFEITOS DE RECRUTAMENTO



Mais pacientes podem desistir do estudo, uma vez que leva mais tempo para participar em múltiplos braços de tratamento



O recrutamento pode ocorrer mais rápido porque menos pacientes são necessários e todos os inscritos terão a oportunidade de receber o tratamento do estudo.

EFEITOS DE RESULTADOS



Os efeitos de carregamento de tratamentos anteriores podem afetar os resultados obtidos do braço de tratamento posterior



Cada paciente atua como teste e controlo, portanto as comparações são feitas dentro do mesmo paciente e não entre pacientes.

Figura 7: Considerações num estudo cruzado adaptado [23]

2.11 Biodisponibilidade

A biodisponibilidade é um termo farmacocinético que descreve a proporção de um fármaco ou substância que entra na circulação de um organismo e está disponível para atingir o seu local de ação [25]. A biodisponibilidade de um medicamento é afetada tanto pela absorção quanto pela distribuição. Por exemplo, um medicamento pode ser bem absorvido, mas se ligar extensivamente às proteínas plasmáticas, fazendo com que a fração livre disponível para atingir os tecidos-alvo seja reduzida. Além disso, a absorção incompleta ou a manipulação do medicamento antes de atingir a circulação sistêmica pode reduzir a biodisponibilidade.

A sua avaliação é importante nos ensaios clínicos para determinar a eficácia de um tratamento e determinar a dose necessária para alcançar a concentração terapêutica desejada no sangue. A informação da biodisponibilidade do fármaco apoia a prevenção e controlo sobre possíveis efeitos secundários, já que a concentração de um fármaco está diretamente relacionada com a sua toxicidade.

Os valores da biodisponibilidade podem ser influenciados por vários fatores, tais como:

- Via de administração: 1) a via oral resulta numa biodisponibilidade reduzida devido ao metabolismo do fígado; 2) a intravenosa proporciona um valor a 100% pois o fármaco é administrado diretamente na circulação [25]; 3) a injeção intramuscular/subcutânea, transdérmica e inalatória, têm graus diferentes de biodisponibilidade e diferem dos fármacos em causa e a sua afinidade com o local de administração.

- Propriedades do fármaco: A solubilidade do fármaco é diretamente proporcional à sua afinidade com a água, os fármacos solúveis em água são absorvidos mais facilmente [25], contudo por serem instáveis no ambiente gastrointestinal a sua biodisponibilidade é reduzida.

- Formulação do medicamento: A sua composição é um grande fator, já que os seus componentes influenciam a libertação e absorção do princípio ativo. A apresentação do fármaco pode ser em comprimidos, cápsulas, soluções, e a sua biodisponibilidade varia com a sua extensão de absorção [25].

- Interações: Os alimentos e outros medicamentos podem interferir com a absorção, metabolismo e eliminação do fármaco.

A determinação da biodisponibilidade nos ensaios clínicos envolve: 1) a quantificação da concentração do fármaco no plasma sanguíneo ao longo do tempo após a sua administração; 2) a área sob curva (AUC), que reflete a exposição total ao fármaco; 3) a concentração máxima (C_{max}), esta determina a maior concentração do fármaco encontrada no plasma; 4) o tempo até C_{max}, que reflete o tempo necessário até atingir a concentração máxima.

A biodisponibilidade é um espeto fundamental da farmacologia que impacta diretamente a eficácia e segurança dos tratamentos farmacológicos [25]. Compreender e otimizar a biodisponibilidade é essencial no desenvolvimento de novos medicamentos e na avaliação de medicamentos genéricos. Estudá-la permite aos investigadores e clínicos garantir que os pacientes recebam doses adequadas para atingir os efeitos terapêuticos desejados sem comprometer a sua segurança.

2.12 Ensaios de Bioequivalência

Este tipo de ensaios é usado para demonstrar que dois medicamentos, um produto teste e produto referência, têm a mesma biodisponibilidade e produzem efeitos equivalentes. São conduzidos em voluntários saudáveis, comparando as concentrações plasmáticas dos dois medicamentos ao longo do tempo [26].

A análise é feita usando parâmetros farmacocinéticos, como a AUC e a C_{max} para confirmar se estão dentro dos valores aceitáveis de equivalência [26]. A bioequivalência é essencial para aprovação de medicamentos genéricos.

2.13 Regulamentação e legislação

A realização de ensaios clínicos de medicamentos para uso humano é uma atividade rigorosamente regulada para garantir a segurança, eficácia e direitos dos participantes. No caso de Portugal, há regulamentos estabelecidos que são necessários seguir.

Decreto-Lei nº21/2024 – Regula a realização de ensaios clínicos de medicamentos para uso humano. Exige a aprovação da Comissão de Ética para a Investigação Clínica (CEIC), é necessário obter aprovação ética para todos os ensaios [27]. A autorização da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED) é necessária para iniciar um ensaio clínico que envolva a administração de um fármaco. Em todos os ensaios é obrigatória a submissão de Relatórios de Segurança, que inclui todas as informações sobre os eventos adversos que se manifestem.

Decreto-Lei nº102/2007 – Estabelece o regime jurídico da investigação clínica com medicamentos para uso humano [27]. Ressalta a responsabilidade do promotor em assegurar a conformidade com as normas de segurança e eficácia e a necessidade de monitorização rigorosa durante o ensaio.

Para medicamentos na união europeia e a sua futura comercialização na mesma, é exigida a aprovação da *European Medicines Agency* (EMA) [28], e será necessário submeter o ensaio no

Clinical Trial Application (CTA) seguindo as seguintes diretrizes, as quais também se aplicam em Portugal:

Diretiva de Ensaio Clínicos 2001/20/EC – Regula a conduta dos ensaios clínicos para medicamentos em humanos.

Regulamento (EU) No 536/2014 – Estabelece procedimentos harmonizados para submissão, avaliação e supervisão de ensaios clínicos na União Europeia (EU - *European Union*).

Ethics Committee Approval – Requer aprovação ética antes do início do ensaio.

Para nível internacional existem algumas diretrizes, tais como a declaração de Helsinque que é um documento fundamental da Associação Médica Mundial (AMM), onde são estabelecidos princípios éticos para a pesquisa médica envolvendo seres humanos. Esta declaração exige a obtenção de um consentimento informado, a proteção da privacidade dos participantes e a revisão ética independente dos protocolos do ensaio clínico. O consentimento informado é uma exigência legal: todos os ensaios clínicos são obrigados a obter o consentimento dos participantes de acordo com as diretrizes éticas [14]. O consentimento informado tem de incluir informações sobre o objetivo do estudo, procedimentos, potenciais riscos e benefícios e direito de retirar o consentimento a qualquer momento sem prejuízo para o participante. A proteção de dados e privacidade segue o Regulamento Geral de Proteção de Dados (GDPR - *General Data Protection Regulation*) na EU, que impõe regras sobre o armazenamento e uso dos dados pessoais dos participantes.

Há dois conjuntos de princípios importantes no decorrer dos ensaios clínicos, o primeiro é as Boas Práticas Clínicas (GCP - *Good Clinical Practice*) [29], que são um conjunto de normas internacionais para o desenho, condução, desempenho, monitorização, auditoria, registo, análise e reporte. Garantem que os dados resultantes sejam confiáveis. Os outros são as Boas Práticas Laboratoriais (GLP - *Good Laboratory Practice*) [29] que garantem a qualidade e a integridade dos dados gerados em estudos laboratoriais.

Como apresentado, a condução de ensaios clínicos de Fase I exige a conformidade com um conjunto robusto de regulamentações e legislações locais e internacionais. Essas normas visam proteger os direitos e a segurança dos participantes, garantir a integridade científica dos dados e assegurar que os estudos sejam conduzidos de maneira ética e responsável. A adesão a essas regulamentações é essencial para a aprovação regulatória e o sucesso dos ensaios clínicos.

2.14 Estatística de Ensaio Clínicos em Portugal

De modo a entender em termos numéricos os ensaios clínicos, abaixo são apresentados gráficos que fornecem uma visão abrangente sobre a evolução dos ensaios clínicos ao longo dos anos e a sua adaptação ao Regulamento Europeu nº 536/2014 [28]. Eles ilustram diversas facetas importantes, desde o número de ensaios clínicos autorizados anualmente até a distribuição percentual dos pedidos de autorização por fase de desenvolvimento clínico. A análise desses gráficos permite entender melhor como a regulamentação e outros fatores influenciam a investigação clínica, além de destacar tendências significativas no número e tipo de ensaios clínicos realizados. Ao interpretar esses dados, podemos observar padrões e mudanças que são essenciais para o planeamento estratégico e a melhoria contínua dos processos de desenvolvimento de novos tratamentos e medicamentos.

O gráfico 1 reúne informação relativa ao número de estudos clínicos submetidos ao INFARMED em 2023, totais e por fases de desenvolvimento clínico. Grande parte dos estudos realizados no nosso país são de fases tardias da investigação (estudos confirmatórios), correspondendo a 61% os de fase III submetidos em 2023 ao INFARMED (gráfico 1). Em 2023 os ensaios de fases I (30) e IV (3) foram os que apresentaram o menor número de submissões no nosso país.

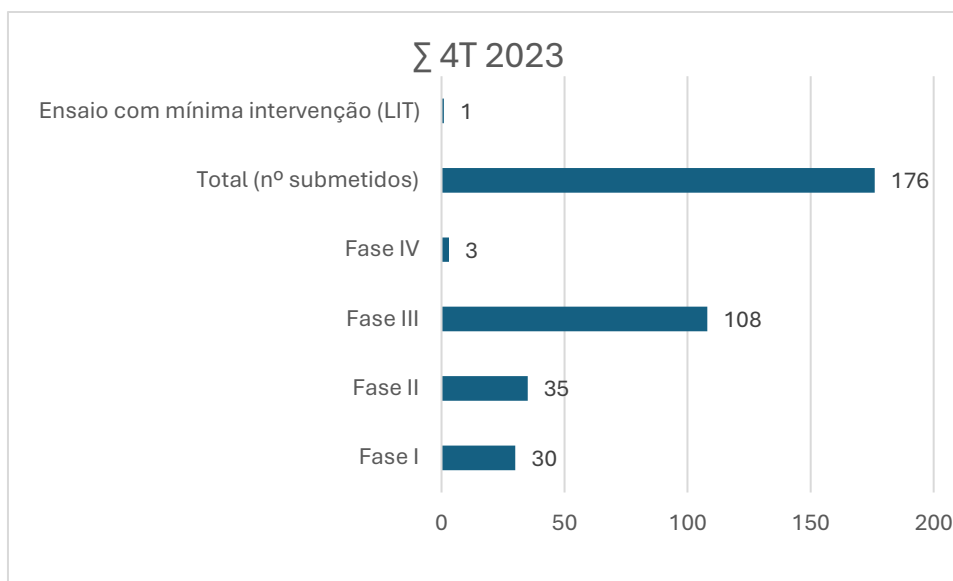
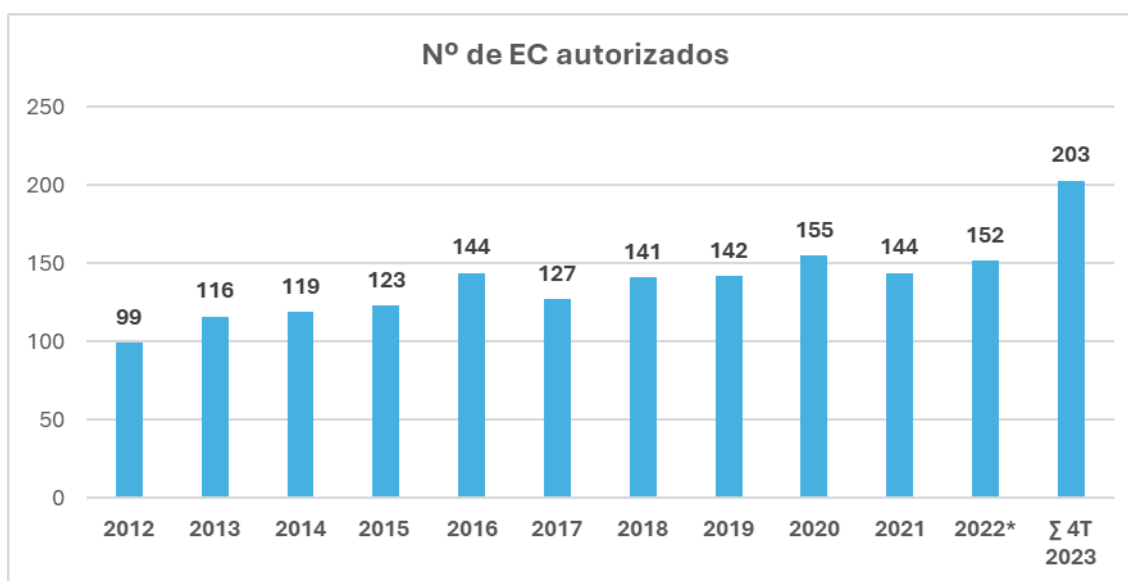


Gráfico 1: Ensaio clínicos em 2023, adaptado [27]

O gráfico 2 apresenta o número de ensaios clínicos autorizados anualmente de 2012 até o acumulado do quarto trimestre de 2023. Observa-se um crescimento gradual de 2012 a 2014, com o número de ensaios clínicos autorizados aumentando de 99 em 2012 para 119 em 2014. Entre 2015 e 2019, o número de autorizações se manteve relativamente estável, variando entre 123 e 144 por ano. Em 2020, houve um pico significativo, com 155 ensaios clínicos autorizados, possivelmente devido ao início da pandemia de COVID-19, que impulsionou a necessidade de

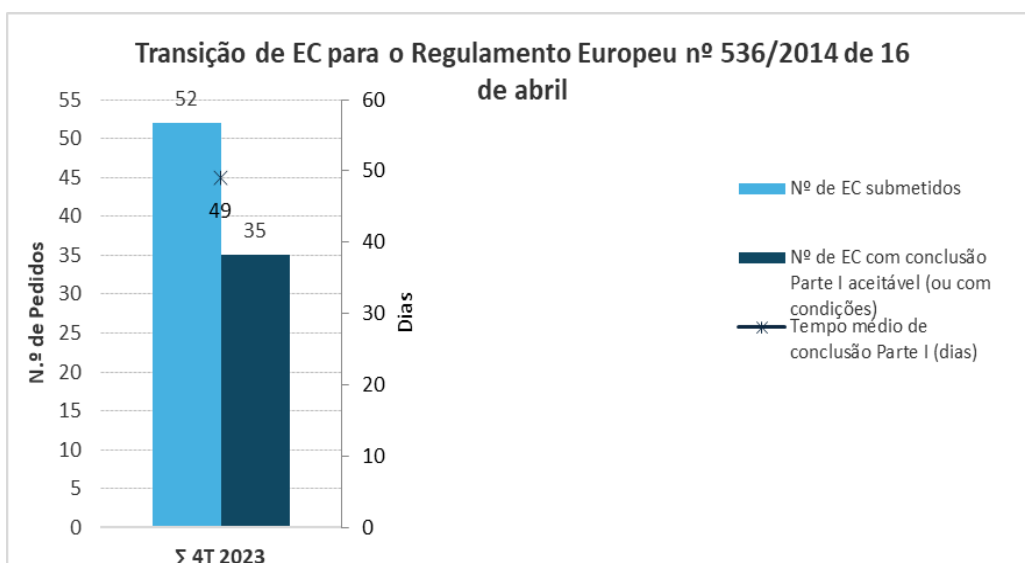
novos ensaios clínicos. Após esse pico, os números retornaram a uma faixa semelhante à dos anos anteriores, com 144 ensaios autorizados em 2021 e 152 em 2022. O ano de 2023 mostrou um aumento notável, com 203 ensaios clínicos autorizados até o quarto trimestre, representando o maior número de autorizações no período analisado. Este aumento significativo em 2023 pode indicar uma intensificação das atividades de investigação e desenvolvimento no setor farmacêutico e biotecnológico, impulsionada por avanços tecnológicos, novas necessidades na área da saúde pública ou outras influências regulamentares e económicas. Em resumo, o gráfico evidencia uma tendência de crescimento no número de ensaios clínicos autorizados ao longo dos anos, com flutuações ocasionais e um aumento expressivo em 2023.



* Inclui o número de ensaios clínicos submetidos ao abrigo do Regulamento Europeu n.º 536/2014[27]

Gráfico 2: Número de ensaios autorizados nos últimos anos [27]

O gráfico 3 apresenta dados sobre a transição dos ensaios clínicos (EC) para o Regulamento Europeu n.º 536/2014, de 16 de abril [28], no acumulado do quarto trimestre de 2023. Observa-se que, até essa data, foram submetidos 52 ensaios clínicos. Desses, 49 ensaios chegaram à conclusão da Parte I, sendo considerados aceitáveis ou aceitáveis com condições. O tempo médio para a conclusão da Parte I dos ensaios clínicos foi de 35 dias.

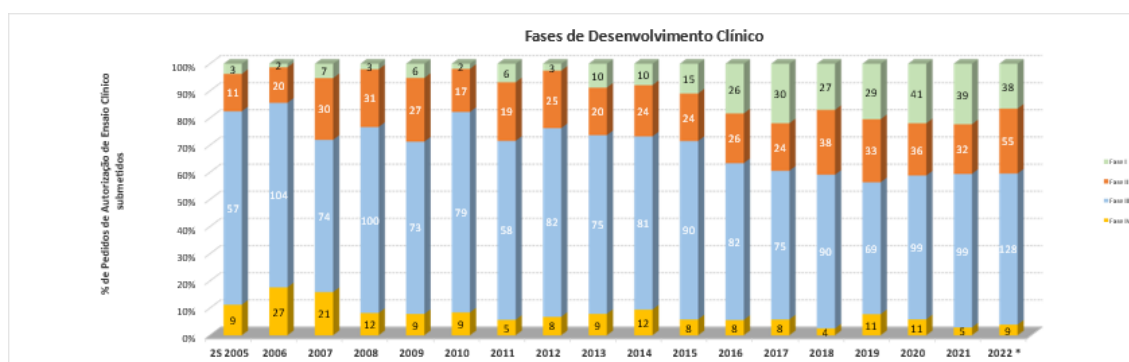


Legenda: EC: Ensaio Clínico

Gráfico 3: Comparação do nº de ensaios submetidos e o nº de ensaios que concluíram a primeira parte [27]

Esses dados indicam uma alta taxa de aceitação dos ensaios submetidos, com 49 dos 52 pedidos sendo concluídos favoravelmente. Além disso, o tempo médio de 35 dias para a conclusão da Parte I sugere um processo relativamente eficiente de avaliação conforme os novos regulamentos europeus. A implementação do Regulamento Europeu nº 536/2014 parece estar a facilitar a transição e a adaptação dos ensaios clínicos às novas normas, refletindo-se na quantidade significativa de submissões e conclusões positivas num período de tempo razoável [28].

O gráfico 4 apresenta a distribuição percentual dos pedidos de autorização de ensaios clínicos por fase de desenvolvimento clínico (Fase I, Fase II, Fase III e Fase IV) desde o segundo semestre de 2005 até 2022, com um destaque específico para os dados acumulados até 2022. Observa-se uma predominância dos ensaios clínicos de Fase III ao longo de todos os anos analisados, representados pela cor azul, que ocupam a maior parte das colunas [27].



* Inclui o número de ensaios clínicos submetidos ao abrigo do Regulamento Europeu n.º 536/2014[27]

Gráfico 4: Desenvolvimento das diferentes fases clínicas ao longo dos anos [27]

Em 2022 destaca-se a continuação dessa tendência, com uma proporção significativa dos ensaios clínicos em Fase III. No entanto, nota-se também um aumento nos ensaios das fases iniciais, Fase I e Fase II, em comparação com anos anteriores. Especificamente, em 2022, há um número maior de ensaios clínicos de Fase II (33) e Fase I (29) do que nos anos imediatamente anteriores, indicando um possível incremento nas pesquisas exploratórias e de segurança inicial de novos tratamentos.

Além disso, a Fase IV, que representa os ensaios clínicos realizados após a aprovação do medicamento, mantém uma presença menor, mas constante, ao longo dos anos, sugerindo uma contínua monitorização pós-comercialização dos medicamentos.

Em resumo, a análise do gráfico para 2022 mostra que, embora a Fase III continue dominando o cenário dos ensaios clínicos, há um aumento notável na atividade de ensaios clínicos das Fases I e II, possivelmente refletindo um vigor renovado nas etapas iniciais de desenvolvimento de novos tratamentos.

3. Objetivos

O tema central deste relatório de estágio é a realização de Ensaios Clínicos na unidade de Fase I da BlueClinical.

Este é um tema vasto, sendo essencial definir objetivos gerais e específicos a serem alcançados durante o estágio.

O objetivo geral deste estágio foi a integração e participação na rotina de um técnico de laboratório na Unidade de Fase I BlueClinical, estabelecendo-se como objetivos específicos:

- Realização das atividades diárias relacionadas com a produção de documentos, preparação de ensaios clínicos e processamento de amostras com o intuito de promover a compreensão dos processos envolvidos necessários à condução dos ensaios clínicos de Fase I.
- Compreensão dos procedimentos subjacentes à preparação e realização dos ensaios clínicos.
- Obtenção de conhecimento e autonomia na realização de alguns procedimentos e na formação a novos técnicos de laboratório.

No decorrer do estágio, houve também a oportunidade de me envolver em tarefas de outros departamentos. Este contato diversificado permitiu uma visão abrangente e integrada dos processos da BlueClinical, enriquecendo a minha experiência e conhecimento na área dos ensaios clínicos.

4. Fase I na BlueClinical

O estágio foi desenvolvido na BlueClinical nas instalações de Fase I, onde tive oportunidade de conhecer em profundidade o funcionamento de uma unidade especializada na condução destes ensaios clínicos.

Como referido na parte inicial deste relatório, os ensaios clínicos são regulados por várias legislações e, tanto a unidade de condução clínica como os colaboradores necessitam de creditação e certificações. Desta forma, antes de iniciar o trabalho prático é obrigatório a leitura de SOPs (*Standart Operating Procedure*) [30], documentos formais que descrevem detalhadamente as instruções passo a passo para a realização de determinada operação. Os SOPs são projetados para garantir que as atividades sejam realizadas de forma consistente e eficiente, de acordo com os padrões de qualidade e regulamentos aplicáveis. Também há necessidade da realização de dois cursos para obtenção de certificados. O primeiro é o GCP, as boas práticas clínicas, que é fundamental para a participação na condução de ensaios clínicos, e garante que sejam seguidos os padrões rigorosos. O segundo é o GLP, as boas práticas laboratoriais, que é necessário para a realização da parte laboratorial e no processamento de amostras, garantindo que todos os procedimentos laboratoriais são realizados de forma confiável e consistente [31].

No decorrer do estágio tive a oportunidade de realizar outras formações, sendo uma deles o Suporte Básico de Vida (SBV) para garantir que, caso necessário, estivesse apta para prestar o primeiro auxílio a um participante ou pessoa em durante um turno.

Em ensaios clínicos, a assinatura de um acordo de confidencialidade pelos funcionários envolvidos é uma prática essencial para garantir a proteção das informações sensíveis. Esse acordo estabelece obrigações legais e éticas para manter a privacidade e a segurança dos dados dos participantes, assim como dos detalhes do ensaio clínico.

4.1. Equipa em ensaios clínicos

Num ensaio clínico, várias pessoas desempenham papéis essenciais para garantir que o estudo seja conduzido de maneira ética, eficiente e conforme as regulamentações. Na BlueClinical cada um tem a sua função, permitindo que cada ensaio clínico flua facilmente.

Os principais intervenientes na condução de um ensaio clínico são:

Investigador Principal (*Principal Investigator* -PI): é a pessoa responsável por liderar o estudo, garantir a conformidade com o protocolo, supervisionar a equipa do estudo, sendo responsável pela segurança dos participantes. Geralmente é um médico ou cientista com experiência em investigação clínica, nesta unidade um médico assume esta tarefa.

Sub-Investigadores (*Sub-Investigators* – Sub-Is): Médicos que auxiliam o PI em várias tarefas do estudo, incluindo a condução de visitas dos participantes, recolha de dados e monitorização de eventos adversos.

Coordenador da Investigação Clínica (*Clinical Research Coordinator* – CRC): Coordena as atividades do estudo, incluindo a inscrição dos participantes, recolhe os dados, agenda visitas e comunica com o PI e a equipa. Este pode ser um profissional com experiência em gestão em ensaios clínicos e conhecimento da regulamentação relacionada com os ensaios clínicos.

Monitor de Investigação Clínica (*Clinical Research Associate* – CRA): Monitoriza a condução do estudo em conformidade com o protocolo, as boas práticas clínicas e regulamentações aplicáveis. Realiza visitas de monitorização no local do estudo e é um profissional treinado em GCP com habilidades para rever e verificar os dados e documentos produzidos nos ensaios clínicos.

Gestor de Projeto (*Project Manager* -PM): Supervisiona o planeamento e execução do ensaio Clínico, gere os cronogramas e orçamentos. É um profissional com experiência em gestão de projetos, especialmente na área da investigação clínica.

Data Manager: Organiza a recolha de dados, valida e analisa os dados do ensaio, garantindo que os dados sejam precisos e completos. É um especialista em gerir os dados com habilidades no sistema informático para processar os dados dos ensaios.

Enfermeiros do Estudo: Responsáveis pelas colheitas de amostras biológicas realizadas durante o estudo, pelas medições dos sinais vitais e auxiliam os médicos com a recolha de dados e monitorização dos efeitos adversos.

Farmacêuticos de Investigação Clínica: Responsáveis pelo armazenamento, preparação e distribuição dos medicamentos do ensaio, garantindo que estão em conformidade com os protocolos do ensaio e regulamentações. É um farmacêutico com experiência em ensaios clínicos.

Equipa de laboratório: Realiza a colheita e processamento de amostras biológicas conforme o protocolo do estudo. São técnicos de laboratório com experiência em procedimentos manuseamento de amostras biológicas.

Equipa de atendimento ao participante (Enfermeiros, Técnicos de saúde): Auxiliam na recolha de dados clínicos, realizam exames físicos, administram tratamentos e monitorizam a saúde dos participantes. São profissionais de saúde qualificados.

Participantes do Estudo: Voluntários que se inscrevem para participar em ensaios clínicos e que cumprem os requisitos do protocolo.

Promotor de ensaios clínicos é a entidade ou indivíduo responsável pelo financiamento e gestão de um ensaio clínico. Os promotores podem ser empresas farmacêuticas, organizações de

pesquisa contratada (CROs), instituições acadêmicas, organizações sem fins lucrativos ou mesmo investigadores individuais.

Todas estas intervenientes são cruciais para garantir que os ensaios clínicos sejam conduzidos de forma ética, segura e eficiente, resultando em dados confiáveis e de alta qualidade.

4.2. Documentos

4.2.1. CSP

O CSP (*Clinical Study Protocol*) ^[32] é um documento essencial que descreve detalhadamente o desenho, a metodologia, os objetivos e a organização de um ensaio clínico.

O CSP é essencial para o planeamento e condução do ensaio clínico, servindo como guia detalhado para os investigadores, garantindo que todos sigam os mesmos procedimentos e métodos ^[32].

A sua estrutura base é: 1) nome completo e título do ensaio clínico; 2) informação do promotor; 2) informação da instituição que realizará o ensaio; 3) objetivos do ensaio: primários e secundários; 4) justificação, explicação científica e médica para a realização do ensaio; 5) critérios de inclusão e exclusão; 6) desenho do estudo: uma descrição detalhada do tipo de estudo, sequência dos tratamentos e o cronograma; 7) procedimentos do estudo: métodos para administrar intervenções, recolher dados e monitorizar participantes; 8) análise estatística: métodos estatísticos planeados para analisar os dados do estudo; 9) considerações éticas: conformidades com diretrizes éticas e procedimentos para obter o consentimento informado dos participantes; 10) gestão de dados, planos para a recolha, monitorização dos dados; 11) segurança dos participantes: procedimentos para monitorizar e relatar eventos adversos e outras questões relacionadas com a segurança dos participantes ^[32].

O CSP é submetido às autoridades para aprovação, de forma a assegurar que o estudo está em conformidade com as regulamentações e diretrizes éticas nacionais e internacionais.

4.2.2. TMF

O TMF (*Trial Master File*) é constituído pelos documentos essenciais que são compilados e arquivados durante e após a condução de um ensaio clínico. Esses documentos demonstram o cumprimento das boas práticas clínicas e dos requisitos regulamentares aplicáveis, além de assegurar que os direitos, a segurança e o bem-estar dos participantes do ensaio são protegidos ^[33]. O TMF serve como a evidência oficial de que o ensaio foi conduzido de acordo com o protocolo

aprovado, as regulamentações e as diretrizes éticas. Inclui documentação sobre a recolha, análise e gestão dos dados, garantindo que os resultados do estudo sejam robustos e confiáveis [33]. Os documentos no TMF são essenciais para a preparação de relatórios finais e publicações científicas, além de fornecer suporte para submissões regulamentares de novos medicamentos ou tratamentos para serem introduzidos no mercado.

Toda a documentação associada às colheitas deve ser meticulosamente mantida. Isso inclui registos de cada colheita, processamento e armazenamento das amostras.

4.2.3. SPP

A colheita e processamento de amostras biológicas num ensaio clínico envolve várias etapas críticas. É utilizado um plano detalhado de processamento de amostras, o SPP (*Sample Process Plan*), que é essencial para coordenar essas atividades. O SPP abrange todas as etapas como a recolha, centrifugação, pipetagem e armazenamento das amostras biológicas.

A colheita de amostras é o ponto de partida. As amostras biológicas, como sangue, são colhidas de acordo com os protocolos específicos do ensaio. Cada amostra tem de ser identificada com a informação do participante e o horário da colheita registado para garantir a rastreabilidade e que o processamento e armazenamento ocorrem nos tempos adequados. Após a colheita, as amostras são recolhidas por um técnico de laboratório nas condições definidas nos documentos do ensaio.

No laboratório, as amostras de sangue são centrifugadas para obtenção de plasma. A centrifugação é realizada de acordo com os parâmetros estabelecidos (tempo e velocidade) para assegurar uma separação eficiente e consistente. Após a centrifugação, a pipetagem é realizada para transferir o volume de plasma definido nos documentos do ensaio para tubos de armazenamento. Normalmente são obtidas amostras de plasma para dois tubos: um tubo é utilizado para análise e o segundo tubo é de reserva.

As amostras processadas são armazenadas em condições adequadas para preservar sua estabilidade até a análise. O armazenamento ocorre a temperaturas controladas, normalmente em arcas congeladoras a -20°C ou -80°C . É crucial que o sistema de armazenamento seja constituído por equipamentos certificados e que exista um sistema de controlo de temperatura que alerte caso o intervalo de temperatura exceda o definido para a amostra.

A documentação detalhada de todas as etapas do processamento das amostras é essencial. Isso inclui registos da colheita, recolha, centrifugação, pipetagem e armazenamento das amostras. A documentação tem de ser precisa e completa para garantir a conformidade com os regulamentos e permitir a reprodutibilidade dos resultados.

4.2.4. AMIS

O AMIS (*Analytical Methodology Information Sheet*) é o documento que é usado no laboratório como orientação, definindo todas as informações importantes sobre o analito em estudo. Este documento tem a estrutura da BlueClinical, no entanto o seu conteúdo é preenchido com os dados que o laboratório que irá analisar as amostras providenciou, com validações dos métodos sobre o analito.

No documento é descrito os limites de detecção (LOD - *Limit of Detection*) onde indica o menor valor de concentração do analito que pode ser detetado, mas não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas, indicando a sensibilidade do método analítico utilizado ^[34].

Os interferentes com o analito, como medicamentos, são substâncias que podem causar interferência na detecção ou quantificação do analito de interesse. Identificar e listar possíveis interferentes, que podem incluir medicamentos, metabólitos, ou outras substâncias presentes na amostra, é crucial para evitar resultados falsos ou imprecisos ^[35].

Os cuidados a ter com a amostra envolvem instruções específicas sobre o manuseio e tratamento da amostra para garantir a sua integridade, como manuseio asséptico, uso de luvas, e evitar exposição a contaminantes. As condições de armazenamento incluem as temperaturas e outras condições ambientais, como proteção da luz, necessárias para armazenar a amostra corretamente, garantindo a estabilidade e viabilidade da amostra ao longo do tempo.

A conservação da amostra pode especificar se a amostra deve ser mantida em gelo ou protegida da luz para prevenir a degradação térmica ou fotoquímica do analito ^[35]. O volume a pipetar refere-se ao volume exato de amostra ou reagente que deve ser pipetado durante o procedimento, assegurando a precisão e reprodutibilidade dos resultados analíticos.

O AMIS especifica os volumes e tipos de tubos de colheita de sangue, como EDTA ^[35] ou heparina, que devem ser utilizados para garantir a colheita adequada da amostra, preservando a sua integridade e compatibilidade com os testes a serem realizados. Finalmente, a temperatura de armazenamento descreve a temperatura específica à qual a amostra deve ser armazenada, como -20°C ou -80°C, para manter a estabilidade do analito e evitar a degradação ou alterações na amostra.

4.3. Screening

A fase de *screening* (SCR) em ensaios clínicos é um processo essencial que ocorre durante o recrutamento de participantes para um ensaio clínico [37]. É uma consulta onde se verifica a elegibilidade dos candidatos com base nos critérios de inclusão e exclusão definidos pelo CSP, permitindo selecionar participantes adequados para obter informações válidas e confiáveis que permitirão suportar conclusões sobre a eficácia e segurança do tratamento [8].

A equipa de recrutamento utiliza várias estratégias para identificar potenciais participantes, sendo a principal o site da BlueClinical onde os participantes podem se inscrever para serem voluntários. É realizada uma triagem prévia através de uma entrevista telefónica para filtrar os candidatos, e em seguida é realizado um agendamento para uma consulta de *screening* presencial. A primeira etapa nessa consulta é a leitura do ICF (*Informed Consent Form*) por um intervalo do mínimo 30 minutos [14].

A segunda etapa é uma consulta com o médico onde o médico explica ao potencial participante o ensaio clínico e esclarece dúvidas que possam existir depois da leitura do ICF. Só depois da assinatura deste documento crucial os próximos procedimentos podem ser efetuados.

É atribuído ao participante um número de *screening* SCRXXXXX, com o qual será identificado durante todo o decorrer do ensaio clínico. Esta identificação garante a proteção de dados ao resto da equipa clínica e ao Promotor do ensaio.

Durante a consulta médica são obtidas informações como a história médica, tratamentos anteriores, identificação de condições médicas pré-existentes definidas nos critérios de exclusão.

A próxima etapa é a consulta de enfermagem onde são realizados exames físicos detalhados para avaliar o estado de saúde, medição de sinais vitais como pressão arterial, frequência cardíaca, peso e altura para calcular o IMC (índice de massa corporal), um parâmetro de inclusão/exclusão. É obtida uma amostra de urina para realização de testes de droga definidos pelo CSP e urianálise (caso seja incluído no CSP). Se algum dos testes tenha um resultado positivo o participante é excluído.

Seguidamente é obtida uma amostra de sangue para a realização de análises de segurança. Estas análises incluem parâmetros bioquímicos, de hematologia, coagulação. As análises bioquímicas avaliam parâmetros como a função renal e hepática, os níveis de glicose, colesterol, triglicéridos e eletrólitos. A hematologia envolve o estudo das células sanguíneas e os seus componentes, avaliando a produção e função das células sanguíneas. Deteta anemia e infeções com a contagem de glóbulos vermelhos, brancos e plaquetas, entre outros. A coagulação avalia a capacidade de o sangue formar coágulos e deteta distúrbios de coagulação, e monitoriza o efeito de anticoagulantes [38]. A urianálise avalia a função renal e deteta doenças metabólicas.

O técnico de laboratório é responsável por identificar corretamente as amostras, de acordo com as instruções do Laboratório parceiro da BlueClinical - a Unilabs e por processar as amostras. O processamento inclui a centrifugação das amostras bioquímicas dentro de um intervalo de tempo, e a sua refrigeração em seguida. Posteriormente as amostras serão entregues à Unilabs que se encarregará do seu processamento e emissão do seu boletim com os resultados.

Os resultados, assim que disponíveis, são entregues aos médicos da BlueClinical para serem avaliados. Se for necessário repetir algum parâmetro específico, isso será transmitido à equipa da BlueClinical e agendado uma nova colheita com o participante. Se os valores da repetição estiverem dentro dos valores referência o participantes é aceite no ensaio.

4.4. Admissão

O processo de entrada na unidade de condução clínica é denominado de admissão.

Os participantes dão entrada na unidade após a confirmação da sua identidade, realizam as análises de segurança definidas no CSP e seguidamente têm uma consulta médica.

Nas análises de segurança é incluída a colheita de uma amostra de urina para a realização de testes de droga, e de gravidez por um técnico de laboratório. Só após a confirmação de que todos os resultados são negativos é que o participante pode prosseguir com os procedimentos de admissão ao internamento ^[39]. Se o resultado for positivo, o participante é excluído e abandona as instalações. Se existir algum participante suplente este ocupa o seu lugar.

Por fim a equipa médica revê a história médica do participante para confirmar a elegibilidade e todos os procedimentos, horas das refeições e as restrições são novamente indicados a cada participante ^[39].

4.5. Administração da Dose

Em um ensaio clínico de Fase I, o dia da administração da dose é a fase crucial para avaliação inicial da segurança e tolerabilidade do novo fármaco em humanos. Este dia é cuidadosamente planeado e executado pelos diferentes departamentos da BlueClinical para garantir o cumprimento de todos os aspetos definidos no CSP e em outros documentos do ensaio clínico ^[39].

A equipa das Operações prepara as instalações para receber os participantes, desde às identificações das camas, pulseiras de identificação dos participantes, material de enfermagem a planos de trabalho com a descrição das funções que cada um está responsável.

A equipa da Farmácia prepara as medicações que cada participante receberá, identificadas com o número do voluntário.

A equipa do Laboratório prepara o laboratório que será utilizado, deixando os documentos referentes ao ensaio como o AMIS, o *Master Work Plan* e o SPP. No *Master Work Plan* é indicada a hora de colheita da amostra de cada participante, a hora de centrifugação e de armazenamento. Todas as informações relacionadas com a recolha, processamento e armazenamento são registadas no SPP aquando da sua realização.

Os Técnicos de Laboratório preparam os tubos para colheita de amostras, identificados com o número de voluntário e *timepoint* a que estes serão colhidos, para serem utilizados pela equipa de Enfermagem.

A administração da dose é realizada na presença de uma testemunha que confirma a identificação do participante e o fármaco a administrar. A hora da administração é crucial uma vez que determina o tempo que todos os procedimentos definidos no CSP vão ocorrer. A hora para administração da dose de cada voluntário é definida previamente no *Master Work Plan*.

Após a administração da dose, há uma monitorização rigorosa dos participantes onde são avaliados sinais vitais, colheita de amostras para PK e/ou PD e registo de eventos adversos [38]. Qualquer evento adverso observado é registado detalhadamente, incluindo o seu início e fim e a sua gravidade. Se for necessária intervenção médica existem protocolos de emergência de forma a garantir o cuidado ao participante [39].

O período de tempo de monitorização e de permanência na unidade de internamento varia dependendo do fármaco administrado e do tempo de atuação, estando definidos no CSP e ICF.

Antes da saída da unidade de internamento os voluntários são informados novamente das orientações ou restrições que têm de seguir assim como das visitas de ambulatório que deverão realizar.

4.5.1 Ambulatório

Após a alta, podem ser necessárias colheitas de amostras em intervalos como 24h, 48h ou outras como dias específicos, em ensaios clínicos para monitorizar parâmetros específicos ou avaliar a farmacocinética e farmacodinâmica do tratamento em estudo.

Primeiro, a equipa do ensaio clínico deve agendar as colheitas das amostras com os participantes, garantindo que eles compreendam a importância e o procedimento de cada colheita. É crucial fornecer instruções claras sobre o que esperar durante cada colheita, incluindo o local e a hora em que ocorrerão.

Para a colheita de amostras nos ambulatórios, os participantes são orientados a comparecer ao centro de pesquisa. As amostras devem ser identificadas corretamente com informações detalhadas sobre o participante, a data e a hora da colheita.

Com a chegada do voluntário às instalações, é feita a verificação da pressão arterial e das suas informações, como o seu número de voluntário. Em seguida é realizada a colheita por um enfermeiro que informará ao técnico de laboratório do turno da sua colheita, e este em conformidade com a hora de cada colheita, e seguindo o protocolo, processa as amostras e armazena junto com as amostras da dose. O voluntário terá no fim da colheita uma consulta, onde o médico realizará alguns procedimentos e fará registo de eventos adversos que possam ter existido ou se o voluntário teve necessidade de tomar outro medicamento não relacionado com o ensaio [40].

Toda a documentação associada às colheitas deve ser meticulosamente mantida. Isso inclui registos de cada colheita, processamento e armazenamento das amostras no SPP.

A comunicação contínua com os participantes é essencial durante este período. Eles devem ser informados sobre qualquer necessidade de colheita adicional. Além disso, a equipa do ensaio deve estar disponível para responder a quaisquer dúvidas ou preocupações dos participantes.

4.5.1.1. Fim de Estudo (EOS)

Os procedimentos de fim de estudo (*end-of-study analyses -EOS*) são a etapa final nos ensaios clínicos com os participantes, e são realizados para garantir a segurança dos voluntários. A colheita de amostras para análises de segurança é normalmente realizada ao mesmo tempo que a última colheita para PKs.

Alguns parâmetros avaliados durante os SCR são analisados novamente no fim do estudo, permitindo uma comparação para garantir a segurança dos participantes. Esses parâmetros, listados no CSP, foram escolhidos em conformidade com fármaco administrado e os possíveis efeitos secundários associados.

Tal como o procedimento dos SCR, estas amostras também serão analisadas pela Unilabs. Os tubos de bioquímica, hematologia, coagulação ou urianálise, são processados inicialmente pelo técnico de laboratório, identificados e entregues na Unilabs. Após a sua receção, os resultados são avaliados pela equipa médica, garantindo que os participantes não tiveram a sua saúde prejudicada ao participarem no ensaio clínico.

A comunicação contínua com os participantes é essencial durante todo o ensaio. Os voluntários devem ser informados sobre qualquer assunto relacionado com os procedimentos a realizar. Além

disso, a equipa do ensaio deve estar disponível para responder a quaisquer dúvidas ou preocupações dos participantes.

4.5.2. Envio de amostras para PK e/ou PD para análise

O transporte das amostras para o Biolaboratório em gelo seco é essencial para garantir a integridade e estabilidade de materiais biológicos ou químicos que precisam ser mantidos em baixas temperaturas. O gelo seco é dióxido de carbono (CO₂) sólido, que sublima diretamente do estado sólido para o gasoso a -78,5°C [41].

Para o transporte adequado, a preparação das amostras envolve vários passos. Primeiramente, as amostras devem ser armazenadas em tubos que suportem temperaturas extremas sem comprometer a integridade das amostras e posteriormente colocadas numa embalagem secundária, neste caso um saco de transporte de amostras biológicas.

A embalagem de transporte das amostras em gelo seco inclui o uso de uma caixa isotérmica, como uma caixa de esferovite ou uma caixa especial de transporte, que ofereça isolamento adequado. Uma camada de gelo seco deve ser colocada no fundo da caixa, seguida pela colocação das amostras na embalagem secundária sobre a camada de gelo seco. Mais gelo seco deve ser adicionado ao redor e acima das amostras para garantir que fiquem completamente envoltas. É importante deixar espaço suficiente na caixa para que o CO₂ gasoso possa escapar, evitando a pressão excessiva. Dentro da caixa, antes de colocar a embalagem com as amostras, é colocado um *datalogger*, que é um dispositivo eletrónico utilizado para registar a temperatura durante o transporte, garantindo que as amostras estiveram sempre à temperatura devida e que mantiveram a integridade para serem analisadas.

O manuseamento seguro de gelo seco requer o uso de luvas e proteção para os olhos para evitar queimaduras por frio. Nunca se deve tocar o gelo seco diretamente com as mãos nuas. Durante o transporte, é necessário seguir as regulamentações de substâncias perigosas, que variam dependendo do modo de transporte (aéreo, terrestre ou marítimo). A embalagem deve ser identificada com rótulos adequados indicando "Gelo Seco" ou "*Dry Ice*", incluindo a quantidade de gelo seco em quilogramas, além de instruções de manuseio e informação de emergência.

É importante calcular a quantidade necessária de gelo seco com base na duração do transporte e nas condições ambientais, pois uma quantidade insuficiente pode resultar na elevação da temperatura das amostras [41]. Esta garantia, tal como o seu transporte é assegurado pela empresa certificada em envios em gelo seco utilizada pela BlueClinical.

4.6 Biolaboratório

A BlueClinical recorre a biolaboratórios qualificados para quantificar os analitos do ensaio clínico. Os biolaboratórios além de terem responsabilidade de preparar documentos específicos, precisam de cumprir várias regulações e diretrizes.

O biolaboratório é responsável: 1) pela redação do plano de análise bioanalítica, onde detalha os métodos analíticos que são usados para medir os analitos, incluindo a validação dos métodos, procedimentos de controlo de qualidade e critérios de aceitação.; 2) pelos certificados de validação dos métodos, documentando a validação dos métodos analíticos conforme as diretrizes de GLP, incluindo a precisão, exatidão, seletividade, linearidade, limites de deteção, quantificação, estabilidade e robustez; 3) pelos relatórios de controlo de qualidade, com o registo das calibrações e manutenções dos equipamentos; 4) pelos documentos com a descrição dos procedimentos padrão, com uma descrição detalhada dos procedimentos laboratoriais, incluindo a preparação, execução, análise de dados e manuseio de amostras; 5) pelo registo de treino de todo o pessoal envolvido na análise dos analitos, comprovando que foram devidamente treinados para os procedimentos específicos e nas boas práticas laboratoriais; pelos relatórios de auditorias internas que verificam a conformidade com os procedimentos e regulamentação estabelecida; 6) pelo plano para a gestão de riscos, documentos que identificam, avaliam e descrevem as estratégias para reduzir riscos associados aos processos analíticos.

Os certificados exigidos a um biolaboratório são semelhantes aos que a BlueClinical precisa, o GLP e o GCP, e tem de seguir as regulamentações locais e internacionais como o EMA ou FDA [31].

4.6.1. LC-MS/MS

No Biolaboratório a análise das amostras para deteção da concentração de um analito, é realizada maioritariamente pela técnica LC-MS/MS (*Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry*). Esta técnica combina a separação de compostos pela cromatografia líquida (LC) com a identificação e quantificação precisa pela espectrometria de massa (MS/MS) [42].

A cromatografia líquida (LC) tem a função de separar os componentes de uma amostra complexa. Nesse processo, a amostra é dissolvida num solvente e passada através de uma coluna cromatográfica. Diferentes componentes da amostra interagem de maneira diferente com o material da coluna, separando-se ao longo do tempo. Na espectrometria de massas (MS), o primeiro analisador de massas (MS1) ioniza os componentes separados pela LC e mede sua razão massa/carga (m/z) [41]. Em seguida, na câmara de colisão, os iões selecionados são fragmentados para obter informações estruturais adicionais. O segundo analisador de massas (MS2) mede as massas dos fragmentos, permitindo a identificação e quantificação dos compostos.

A LC-MS/MS apresenta várias vantagens, como alta sensibilidade e especificidade, sendo capaz de detetar e quantificar compostos em concentrações muito baixas. Sua versatilidade permite que seja adequada para uma ampla gama de compostos, desde pequenas moléculas até grandes biomoléculas. Além disso, a fragmentação dos iões proporciona dados detalhados sobre a estrutura química dos compostos.

4.7. Plano Bioanalítico

Um *bioanalytical plan* (plano bioanalítico) é um documento essencial na área de bioanálise, especialmente no contexto de estudos farmacêuticos e clínicos. Ele descreve os procedimentos e métodos que serão utilizados para a análise de amostras biológicas, como sangue, plasma, urina ou tecidos, a fim de quantificar a presença de fármacos, metabólitos ou outros biomarcadores. O plano bioanalítico é crucial para garantir a precisão, a reprodutibilidade e a conformidade com as regulamentações aplicáveis [43].

O objetivo do plano bioanalítico é definir claramente os objetivos e a abrangência das análises a serem realizadas. Serão descritos detalhadamente os métodos e técnicas analíticas a serem empregados, como cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), cromatografia gasosa ou ensaios imunológicos (ELISA). Os métodos analíticos serão validados para garantir que são precisos, específicos, sensíveis e reprodutíveis, abrangendo parâmetros como linearidade, limite de deteção, limite de quantificação, precisão, exatidão e estabilidade.

A preparação das amostras incluirá procedimentos detalhados para colheita, armazenamento, transporte e preparação das amostras biológicas antes da análise. As estratégias para implementação e monitorização de controlos de qualidade serão delineadas para garantir a integridade dos dados gerados durante todo o processo analítico. Os protocolos de análise abrangerão passo a passo os procedimentos analíticos, incluindo calibração de equipamentos, preparação de padrões e soluções, e execução das análises.

A coordenação de dados englobará métodos para colheita, registo, processamento e arquivo dos dados analíticos, assegurando conformidade com diretrizes regulamentares e GLP. Por fim, serão estabelecidas diretrizes para a elaboração de relatórios analíticos detalhados e a comunicação dos resultados.

4.7.1. Validação

O biolaboratório que ira quantificar o analito que será estudado no ensaio clínico, tem de ter o método de quantificação validado. A validação dos métodos é um processo crítico para garantir a

precisão, especificidade, sensibilidade e reprodutibilidade das metodologias analíticas utilizadas [43].

Os principais parâmetros a serem avaliados durante a validação são: 1) sensibilidade, que determina os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ - *Limit of Quantitation*), que são, respectivamente, as menores concentrações do analito que podem ser detectadas e quantificadas com precisão aceitável [43]; 2) linearidade, capacidade do método de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito dentro de uma faixa especificada, e a faixa é o intervalo de concentrações sobre o qual o método é preciso, exato e linear; 3) estabilidade, avalia a estabilidade do analito em várias condições, incluindo armazenamento de longo prazo, ciclos de congelamento e descongelamento, e estabilidade na bancada (curto prazo); recuperação, mede a eficiência da extração do analito da matriz biológica.

Para a execução da validação, são utilizadas amostras controle e curvas de calibração preparadas em matrizes biológicas semelhantes às amostras de estudo. São realizadas experiências conforme o descrito no plano de validação, obtendo dados para cada parâmetro. Os dados obtidos são analisados para calcular precisão, exatidão, linearidade, LOD, LOQ, e outros parâmetros definidos [42]. Os resultados são posteriormente comparados com os critérios de aceitação estabelecidos no plano de validação, documentando qualquer desvio e justificando ou ajustando o método conforme necessário.

Validar um plano bioanalítico é um processo rigoroso e detalhado que garante que os métodos analíticos empregados são robustos e confiáveis. Seguindo esses passos, é possível assegurar a qualidade e a integridade dos dados obtidos nos estudos bioanalíticos.

4.8 Relatório Bioanalítico

Um *Bioanalytical Report* (Relatório Bioanalítico) é um documento científico detalhado que descreve os resultados e a metodologia de análises bioanalíticas realizadas nas amostras biológicas do ensaio clínico [44]. Este relatório é fundamental para assegurar a integridade e a validade dos dados gerados, além de fornecer informações críticas sobre a segurança e a eficácia de novos medicamentos ou tratamentos.

Os componentes de um relatório bioanalítico incluem diversos elementos essenciais que garantem a qualidade, precisão e utilidade dos dados obtidos. Primeiramente, um resumo executivo apresenta de forma concisa as principais conclusões do estudo bioanalítico [44]. A introdução descreve os objetivos do estudo, fornecendo o contexto e a importância das análises bioanalíticas realizadas.

Os métodos são detalhados em várias seções: a colheita de amostras, armazenamento e manuseio das amostras biológicas; a validação do método inclui os procedimentos para validar o método analítico, cobrindo parâmetros como precisão, exatidão, seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, estabilidade e robustez; o procedimento analítico descreve detalhadamente o método utilizado, incluindo equipamentos, reagentes, calibrações e controle de qualidade.

Na seção de resultados, os dados bioanalíticos do ensaio clínico são apresentados em tabelas e gráficos, seguidos pela interpretação dos dados, destacando tendências, variações ou achados significativos [44]. Também são incluídos os resultados dos controles de qualidade realizados durante as experiências para garantir a precisão e a confiabilidade dos dados. Haverá notas nos valores fora do expectável e se foi realizada uma nova corrida para verificar os dados.

A importância do relatório bioanalítico é destacada por sua função na validação reguladora, essencial para submissões a órgãos como a FDA nos EUA ou a EMA na Europa. Ele assegura a qualidade dos métodos utilizados, garantindo que os dados sejam aceitos pela comunidade científica e regulatória, além de promover a transparência e reprodutibilidade dos resultados por outros cientistas, contribuindo para o desenvolvimento de medicamentos.

5. Estágio na BlueClinical

O meu estágio envolveu diversas atividades que me permitiram entender e participar ativamente no processo dos ensaios clínicos. Desde a preparação de documentos de estudo a processamento de amostras, pude observar e contribuir para diversas etapas do processo. Além disso, aprendi sobre a importância da conformidade regulatória e o papel crucial que a comunicação clara e eficiente desempenha tanto internamente quanto com os participantes dos estudos.

A BlueClinical é uma entidade reconhecida, que para realizar ensaios clínicos de Fase I, exige que todos os envolvidos tenham um treino extensivo que cobre os procedimentos do ensaio clínico, normas de segurança, boas práticas laboratoriais e confidencialidade de dados [1]. Este treino garante que todos os colaboradores estejam preparados para executar suas tarefas de acordo com os padrões estabelecidos. Cada tarefa exige um treino acompanhado e só com aprovação é que é possível realizar sozinho a tarefa.

No início de cada ensaio há uma pequena formação específica desse ensaio com informações e um vídeo explicativo para cada função, neste caso um específico para os técnicos de laboratório. Após a sua visualização há um exame que exige aprovação total para o técnico de laboratório possa ser delegado. Só depois da delegação é que se pode participar ativamente no ensaio como a realização de turnos de SCR e dose e assinar documentos oficiais.

A preparação de um novo ensaio por parte do laboratório começa pela leitura do CSP que é a base para a criação de todos os outros documentos que o laboratório usará durante todo o ensaio.

Entre estes documentos encontram-se os formulários de requisição de análises laboratoriais usadas nos SCR, variando no seu conteúdo conforme o ensaio clínico. As requisições dividem-se em masculino e feminino, onde esta última pode deferir em feminino com potencial reprodutor (teste de gravidez, β HCG - Gonadotrofina Coriônica Humana), sem potencial reprodutor (mulheres inférteis) e pós-menopausa (teste ao FSH (*Follicle-Stimulating Hormone*) - Hormona Folículo-Estimulante). Estas requisições são acompanhadas por formulários de centrifugação, que serão usados para documentar a hora que foi realizada a centrifugação do tubo para bioquímica, comprovando que foi realizada dentro do intervalo estipulado.

Dependendo do biolaboratório, pode ser necessário produzir as etiquetas para a identificação dos tubos de sangue e para as alíquotas. A informação que é necessária em cada etiqueta encontra-se listada no CSP. Com a sua impressão, será necessário realizar um QC (*Quality Control*), controlo de qualidade, para garantir que se encontram legíveis e com todos os componentes. Com a finalização do QC, e dos documentos preenchidos garantindo que cada *timepoint* de cada voluntário está impresso e legível, procede-se à sua colagem. O material necessário é pedido antecipadamente, no momento da produção dos documentos do laboratório.

Com o QC das etiquetas e o material disponível, procede-se à sua colagem, tendo especial atenção à validade, e informação do tipo de tubo e lote dos tubos de sangue, deixando estes visíveis.

Outro documento que será da nossa responsabilidade é o SPP, que tem como base outro documento o *Master Work Plan*, este é um ficheiro *Excel* onde se podem verificar várias informações, sendo as mais importantes para a escrita do SPP, as horas correspondentes a cada colheita de amostras, hora de centrifugação e armazenamento. Há uma hora mínima e máxima para cada colheita, em cada *timepoint* para cada voluntário, com essas horas, há uma centrifugação correspondente. O SPP será feito em conformidade com essas horas, o volume para cada alíquota, o volume e composição dos tubos de sangue e a centrífuga será usada.

Com as informações do SPP sobre o planeamento das centrifugações, são preparados os tubos para a colheita de sangue (as doses de sangue) e os tubos para o armazenamento de plasma para quantificação do analito (doses de alíquotas).

Com o início dos SCR, é de a responsabilidade do técnico de laboratório preparar e fornecer o material e documentação necessária.

Os testes de drogas realizados pelos enfermeiros ou técnicos de laboratório, precisam de um relatório, sendo da responsabilidade do técnico que prepara os SCR do ensaio, garantir que os testes e os relatórios estejam disponíveis.

Perto do dia de internamento, os técnicos de laboratório preparam o laboratório onde irá ocorrer o ensaio, garantindo que toda a documentação e material necessário estejam disponíveis. Esta preparação no início de um estudo pode sofrer uma monitorização externa, onde um técnico de laboratório mostra o laboratório preparado e garantindo que o laboratório está preparado para a realização da condução clínica.

Na admissão é necessário um técnico de laboratório presente que será responsável pela realização dos testes de droga e gravidez, caso esteja definido no CSP.

Durante o internamento do participante é exigida a presença de um Técnico de Laboratório para a recolha, processamento e armazenamento de todas as amostras colhidas pela equipa de Enfermagem.

É comum durante a dose haver monitorização contratada pelo responsável do ensaio, que faz a inspeção a diversos procedimentos incluindo na parte do laboratório, observando uma centrifugação desde a recolha das amostras até ao seu armazenamento para garantir que o protocolo está a ser cumprido.

As colheitas pós alta, chamadas de ambulatorios, têm um procedimento muito idêntico à dose.

Com o ensaio finalizado, os técnicos de laboratório preparam as amostras para enviar para o biolaboratório. Utilizando gelo seco realiza-se a separação de amostras e embalagem de acordo com as especificações do Laboratório Bioanalítico e da empresa que irá realizar o transporte.

O biolaboratório é responsável pela produção de documentação tal como o *Bioanalytical Plan* e *Bioanalytical Report*, no entanto é o técnico de laboratório da Fase I que realiza o QC para confirmar as informações do ensaio em estudo. Qualquer erro ou nota em ter conta, é comunicado ao biolaboratório para sua correção antes da finalização e assinatura.

Um ensaio clínico exige documentação precisa e completa que será arquivada num TMF do ensaio. Há uma parte do TMF que pertence ao laboratório, com toda a documentação respetiva do departamento. Os técnicos de laboratório são responsáveis pelo arquivo de todos os documentos e sua atualização continua permitindo a sua monitorização em qualquer momento.

6. Conclusão

No início do estágio, fui apresentada à estrutura organizacional da empresa, conhecendo os colaboradores e o funcionamento dos processos internos. Em seguida, familiarizei-me com a documentação, normas e regulamentos específicos da indústria dos ensaios clínicos. Acompanhar os colaboradores responsáveis pelo laboratório nas suas atividades diárias foi essencial para adquirir experiência prática e conhecimento, permitindo-me realizar essas tarefas de forma autónoma. O estágio na BlueClinical ensinou-me todo o processo num ensaio clínico de Fase I, tive a oportunidade de presenciar um ambiente de investigação clínica de alta qualidade.

Este estágio foi crucial para o meu desenvolvimento profissional, permitindo-me colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso. Através das atividades realizadas, aprofundi os meus conhecimentos em procedimentos de ensaios clínicos, normas éticas e regulamentares, bem como nas boas práticas clínicas. Desenvolvi habilidades práticas, como manuseamento de amostras biológicas, além de competências interpessoais, como comunicação eficaz e trabalho em equipa.

Os objetivos foram cumpridos durante o estágio, foi possível participar em ensaios desde o seu início com a produção dos documentos até ao envio das amostras para o biolaboratório, e avaliando os documentos finais com os resultados.

Enfrentei desafios significativos, como a necessidade de adaptação rápida aos protocolos específicos de cada estudo e a compreensão de complexos procedimentos regulamentares. Superar esses desafios foi uma experiência enriquecedora, que aprimorou minha capacidade de aprendizagem contínua e minha resiliência.

7. Referências Bibliográficas

- [1] BlueClinical – Ensaios Clínicos/Clinical Trials: acessado a 20 de outubro de 2023 «<https://www.blueclinical.com/>»
- [2] Astrum - CRO: acessado a 10 de abril de 2024 «<https://astrumcro.com/>»
- [3] Kapoor, M. C. (2016). Types of studies and research design. *Indian Journal of Anaesthesia*, 60(9), 626–630. <https://doi.org/10.4103/0019-5049.190616>
- [4] Kandi, V., & Vadakedath, S. (2023). Clinical Trials and Clinical Research: A Comprehensive Review. *Cureus*, 15(2), 1–15. <https://doi.org/10.7759/cureus.35077>
- [5] fda.gov: acessado a 2 de março de 2024 «<https://www.fda.gov/patients/learn-about-drug-and-device-approvals>»
- [6] National Library of Medicine - ClinicalTrials.gov: acessado a 9 de março «<https://clinicaltrials.gov/study-basics/learn-about-studies>»
- [7] Almeida, L., Falcão, A., Vaz-Da-Silva, M., Nunes, T., Santos, A. T., Rocha, J. F., Neta, C., Macedo, T., Fontes-Ribeiro, C., & Soares-Da-Silva, P. (2008). Effect of nebicapone on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in healthy subjects. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 64(10), 961–966. <https://doi.org/10.1007/s00228-008-0534-2>
- [8] Gouveia, R., Cruz, V. T., & Almeida, L. (2022). Sociodemographic and psychological characteristics influencing patients' willingness to participate in clinical trials. *BMJ Open Quality*, 11(4), 1–8. <https://doi.org/10.1136/bmjog-2022-002044>
- [9] Kadam, R. (2017). Informed consent process: A step further towards making it meaningful! *Perspectives in Clinical Research*, 8(3), 107–112. https://doi.org/10.4103/picr.PICR_147_16
- [10] Gilmartin-Thomas, J. F. M., Liew, D., & Hopper, I. (2018). Observational studies and their utility for practice. *Australian Prescriber*, 41(3), 82–85. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2018.017>
- [11] Song, J. W., & Chung, K. C. (2010). Nihms-237355. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 126(6), 2234–2242. <https://doi.org/10.1097/PRS.ob013e3181f44abc.Observational>

- [12] Chidambaram, A. G., & Josephson, M. (2019). Clinical research study designs: The essentials. *Pediatric Investigation*, 3(4), 245–252. <https://doi.org/10.1002/ped4.12166>
- [13] abbvie: acessado a 17 de maio 2024 «<https://www.abbvie.com/science/clinical-trials.html>»
- [14] Grady, C., Ph, D., Cummings, S. R., Rowbotham, M. C., McConnell, M. V, Ashley, E. A., Phil, D., Kang, G., & Ph, D. (2017). Informed Consent Consent. *Gupta, U., Bhatia, S., Garg, A., Sharma, A., & Choudhary, V. (2011). Phase 0 clinical trials in oncology new drug development. Perspectives in Clinical Research*, 2(1), 13. <https://doi.org/10.4103/2229-3485.76285>
- [15] Burt, T., Roffel, A. F., Langer, O., Anderson, K., & DiMasi, J. (2022). Strategic, feasibility, economic, and cultural aspects of phase 0 approaches. *Clinical and Translational Science*, 15(6), 1355–1379. <https://doi.org/10.1111/cts.13269>
- [16] Frentzas, S., Gan, H. K., Cosman, R., Coward, J., Tran, B., Millward, M., Zhou, Y., Wang, W., Xia, D., Wang, Z. M., Li, B., Xia, M., & Desai, J. (2023). A phase 1a/1b first-in-human study (COMPASSION-01) evaluating cadonilimab in patients with advanced solid tumors. *Cell Reports Medicine*, 4(11), 101242. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2023.101242>
- [17] VIAL: acessado a 16 de março de 2024 «<https://vial.com/blog/articles/what-are-the-differences-between-phase-ia-and-phase-ib-clinical-trials/?>»
- [18] Ivanova, A., Xiao, C., & Yevgen Tymofyeyev. (2012). Two-stage designs for Phase 2 dose-finding trials. *Statistics in Medicine*, 31(24), 2872–2881. <https://doi.org/10.1002/sim.5365>
- [19] Suvarna, V. (2010). Phase IV of Drug Development. *Perspectives in Clinical Research*, 1(2), 57–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21829783%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3148611>
- [20] Nair, B. (2019). Clinical Trial Designs. *Indian Dermatology Online Journal*, 10(2), 193–201. https://doi.org/10.4103/idoj.IDOJ_475_18
- [21] Kang, M., Ragan, B. G., & Park, J.-H. (2008). Issues in Outcomes Research: An Overview of Randomization Techniques for Clinical Trials. *Journal of Athletic Training*, 43(2), 215–221. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2267325/>
- [22] Anota, A., Pozet, A., Lemasson, H., Cotté, F.-E., Falcoz, A., Eberst, G., Mouillet, G., Guerzider, S., Charton, É., & Westeel, V. (2021). Impact of open-label versus blinded study design on patient-reported outcomes data in randomized clinical trials of immunotherapy in advanced or metastatic

cancer patients: a systematic review. *Quality of Life Research*, 31(3), 645–657. <https://doi.org/10.1007/s11136-021-02945-8>

[23] Lilly trials: acessido a 20 de março de 2024 «<https://trials.lilly.com/en-US/blog/clinical-trial-design-parallel-crossover-studies>»

[24] Vugmeyster, Y., Harrold, J., & Xu, X. (2012). Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME) Studies of Biotherapeutics for Autoimmune and Inflammatory Conditions. *The AAPS Journal*, 14(4), 714–727. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9385-y>

[25] Stielow, M., Witczyńska, A., Kubryń, N., Łukasz Fijałkowski, Nowaczyk, J., & Nowaczyk, A. (2023). The Bioavailability of Drugs—The Current State of Knowledge. *Molecules*, 28(24), 8038–8038. <https://doi.org/10.3390/molecules28248038>

[26] Chow, S.-C. (2014). Bioavailability and Bioequivalence in Drug Development. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 6(4), 304–312. <https://doi.org/10.1002/wics.1310>

[27] INFARMED: acessido a 27 de abril de 2024 «<https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/ensaios-clinicos>»

[28] Rasi, G., & Mugelli, A. (2022). European Union Regulation on clinical trials and Regulation on medical devices: A common soil for future development. *Frontiers in Drug Safety and Regulation*, 2(December), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fdsfr.2022.1071620>

[29] Zgheib, N. K., Tomasic, S. L., & Branch, R. A. (2017, January 1). Chapter 15 - Good Clinical Practice and Good Laboratory Practice (D. Robertson & G. H. Williams, Eds.). ScienceDirect; Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802101-9.00015-6>

[30] Sajdak, R., Trembath, L. A., & Thomas, K. S. (2013). The importance of standard operating procedures in clinical trials. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 41(3), 231–233. <https://doi.org/10.2967/jnmt.113.121467>

[31] Zgheib, N. K., Tomasic, S. L., & Branch, R. A. (2017, January 1). Chapter 15 - Good Clinical Practice and Good Laboratory Practice (D. Robertson & G. H. Williams, Eds.). ScienceDirect; Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128021019000156>

[32] Seiler, W. (2014). The clinical study protocol and medical writing: A good fit? *Medical Writing*, 23(2), 93–95. <https://doi.org/10.1179/2047480614z.000000000210>

- [33] Hecht, A., Busch-Heidger, B., Gertzen, H., Pfister, H., Ruhfus, B., Sanden, P.-H., & Schmidt, G. B. (2015). Quality expectations and tolerance limits of trial master files (TMF) - Developing a risk-based approach for quality assessments of TMFs. *German Medical Science : GMS E-Journal*, 13, Doc23. <https://doi.org/10.3205/000227>
- [34] Armbruster, D. A., & Pry, T. (2018). Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 29 Suppl 1(Suppl 1), S49-52. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2556583/>
- [35] Elżbieta Gniazdowska, Goch, W., Giebułtowicz, J., & Rudzki, P. J. (2022). Replicates Number for Drug Stability Testing during Bioanalytical Method Validation—An Experimental and Retrospective Approach. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 27(2), 457–457. <https://doi.org/10.3390/molecules27020457>
- [36] Banfi, G., Salvagno, G. L., & Lippi, G. (2007). The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 45(5), 565–576. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.110>
- [37] Wittes, J., Lakatos, E., Black, D., Geraci, B., Davis, B., Moyé, L., & Probstfield, J. (1999). Selecting Screening Criteria for Clinical Trials. *Controlled Clinical Trials*, 20(2), 121–132. [https://doi.org/10.1016/S0197-2456\(98\)00047-6](https://doi.org/10.1016/S0197-2456(98)00047-6)
- [38] Washington, I. M., & Van Hoosier, G. (2012, January 1). Chapter 3 - Clinical Biochemistry and Hematology (M. A. Suckow, K. A. Stevens, & R. P. Wilson, Eds.). ScienceDirect; Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123809209000031>
- [39] Almeida, L., Vaz-da-Silva, M., Falcão, A., Soares, E., Costa, R., Loureiro, A. I., Fernandes-Lopes, C., Rocha, J. F., Nunes, T., Wright, L., & Soares-da-Silva, P. (2009). Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(SUPPL. 1), 7–15. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800177>
- [40] Abdel Shaheed, C., Maher, C. G., Furnage, A., Hoffmann, T., & McLachlan, A. J. (2022). Strengthening the reporting of harms of all interventions in clinical trials. *Medical Journal of Australia*, 217(10), 502–504. <https://doi.org/10.5694/mja2.51755>
- [41] Kozlova, V. A., Pokrovskaya, M. S., Meshkov, A. N., & Drapkina, O. M. (2020). Actual approaches to the transportation of biological samples at low temperatures. *Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika*, 65(10), 619–625. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-619-625>

[42] Rappold, B. A. (2022). Review of the Use of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry in Clinical Laboratories: Part II-Operations. *Annals of Laboratory Medicine*, 42(5), 531–557. <https://doi.org/10.3343/alm.2022.42.5.531>

[43] Tiwari, G., & Tiwari, R. (2010). Bioanalytical method validation: An updated review. *Pharmaceutical Methods*, 1(1), 25. <https://doi.org/10.4103/2229-4708.72226>

[44] Nürnberg, A. (2014). Writing bioanalytical reports. *Medical Writing*, 23(3), 207–211. <https://doi.org/10.1179/2047480614z.000000000230>