



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências da Saúde

***Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*: Avaliação  
do potencial antimicrobiano de extratos  
hidroetanólicos**  
**Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia  
Hospitalar, Farmácia Comunitária e Investigação**

**Rui Jorge Matos Relvas**

Relatório de estágio para a obtenção do Grau de Mestre em  
**Ciências Farmacêuticas**  
(Ciclo de Estudos Integrado)

Orientador: Professora Doutora Ana Paula Duarte  
Co-orientador: Professora Doutora Fernanda Delgado de Sousa

**Covilhã, setembro de 2019**



*“Happiness can be found even in the darkest of times, if one only remembers to turn on the light.”*

- Dumbledore

*in “Harry Potter and the Prisoner of Azkaban”*



# Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Professora Doutora Ana Paula Duarte pela ajuda e disponibilidade prestada durante todo o trabalho. Sem a sua preciosa ajuda não teria sido possível a realização deste projeto fora da Covilhã e do ambiente estudantil da UBI.

Gostaria também de agradecer à minha co-orientadora, a Professora Doutora Fernanda Delgado de Sousa, docente na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, por ter aceite este desafio e por toda a ajuda que prestou ao longo do mesmo. De igual forma, não poderia deixar de agradecer à Professora Doutora Cristina Pintado, responsável pelo laboratório de microbiologia da ESACB, que apoiou a realização de todos os ensaios de bioatividade, ajudou na sua interpretação e me guiou na descoberta de novos resultados.

Um agradecimento especial à Joana Domingues, do Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior, e à Eng. Manuela do Laboratório de Microbiologia da ESACB, dois elementos indispensáveis na elaboração de toda a parte de investigação, que partilharam comigo as suas experiências e saberes, sem os quais não teria conseguido!

Um Obrigado especial a todos os elementos dos Serviços Farmacêuticos da ULSCB, na pessoa da Dra. Sandra Queimado. Cada um partilhou as suas histórias e conhecimentos comigo de forma única, e nunca esquecerei que foram o primeiro contacto com a profissão que tive. Noutra local não teria sido uma experiência tão gratificante!

Por último, agradecer também a toda a equipa da Farmácia Ferrer, na pessoa da Dra. Sílvia Rodrigues, por me terem mostrado que comunitária não é um monstro, que é possível fazer a diferença na vida dos utentes, me terem feito aprender mais e ser cada vez melhor, e me terem demonstrado o quão nobre é a profissão.

Um obrigado aos meus pais, sem eles nunca tinha chegado até aqui, sem o seu apoio, motivação e carinho, e também à minha irmã, por tantas vezes me ter animado.

Agradeço também a todos aqueles que tive a honra de conhecer na Covilhã, à Carolina e Diana pelas noites de estudo, por todos os passeios e palhaçadas, por terem tornado a passagem pela universidade mais agradável e cheia de memórias. À Joana e à Bárbara, que me receberam numa nova cidade, tomaram conta de mim e sempre estiveram a meu lado, obrigado pelos jantares, cinemas e passeios, pelos apontamentos e explicações, por estarem ao meu lado. À Vera e à Ana, por todas as viagens animadas que partilhámos! A todos os colegas de curso que fizeram parte desta jornada académica.

À Daniela, que desde sempre está ao meu lado, com quem sempre pude partilhar as minhas experiências do mundo estudantil e que me acompanha desde a primária. Até numa nova cidade continuámos juntos.

Ao Brayone, por me ter mostrado o que é ser profissional de saúde, nunca me ter deixado desistir e sempre me ter amparado.

À Catarina, pelos *cartoons* e piadas, pelos raspanetes e dramas, e por me fazer sempre querer chegar mais longe!

# Resumo

O presente trabalho encontra-se dividido em 3 capítulos nos quais são demonstradas não só as atividades desenvolvidas e conhecimentos adquiridos ao longo dos dois estágios curriculares, nas áreas de farmácia hospitalar e farmácia comunitária, mas também o trabalho laboratorial desenvolvido nas áreas da fitoquímica e microbiologia.

O primeiro capítulo pretende retratar o período inicial de estágio, que decorreu entre os meses de janeiro e março de 2019 nos Serviços Farmacêuticos da Unidade Local de Saúde de Castelo Branco. Durante o período de estágio foram abordadas as várias áreas existentes, que de forma genérica se podem dividir em gestão, distribuição, farmacotecnia e ambulatório, sendo que dentro de cada uma destas foram focados não só os conhecimentos teóricos e técnico-científicos, mas também as boas práticas e o carácter humano que deve pautar a atuação do farmacêutico enquanto profissional de saúde, independentemente do local de atuação.

No segundo capítulo intenta-se, de forma semelhante, transpor o período de estágio decorrido entre março e maio de 2019, na Farmácia Ferrer, em Castelo Branco. Ao longo das 12 semanas foram abordadas diversas áreas, desde a receção das encomendas até ao atendimento ao público, passando também pelos serviços prestados aos utentes. A importância e o papel do farmacêutico enquanto profissional de saúde, a sua atuação e contacto com o utente constituíram pilares de extrema importância durante toda a aprendizagem.

Por último, o terceiro capítulo pretende demonstrar todo o trabalho laboratorial desenvolvido no Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior, bem como na Escola Superior Agrária de Castelo Branco. Sendo a resistência aos antibióticos um dos principais problemas na saúde no século XXI, torna-se imperativo descobrir novos compostos que demonstrem capacidade de inibir o crescimento dos microrganismos. As atividades desenvolvidas tiveram como principal objetivo avaliar o potencial antibacteriano da maçã Bravo-de-Esmolfe (*Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*). Inicialmente procedeu-se à preparação da amostra, de forma a avaliar possíveis diferenças entre os compostos existentes na casca e na polpa da fruta. Após a obtenção de extratos com recurso a dois solventes distintos, bem como diversas técnicas extrativas, procedeu-se à avaliação da atividade antimicrobiana contra cinco microrganismos. Após a realização de ensaios em meio sólido, foram determinadas as concentrações mínimas inibitórias dos vários extratos brutos em meio líquido *Müller-Hinton*, sendo que o resultado mais baixo obtido foi de 31,25 mg/mL para a estirpe de *Bacillus cereus*. Com a determinação das concentrações mínimas bactericidas foi possível concluir que os extratos obtidos apenas possuem ação inibitória, não sendo capazes de matar os microrganismos.

# Palavras-chave

*Malus domestica*, Bravo-de-Esmolfe, Extratos, Atividade Antimicrobiana, Farmácia Hospitalar, Farmácia Comunitária.

# Abstract

The current work is divided in 3 chapters in which are demonstrated not only the developed activities and acquired knowledges throughout the two internships, in community and hospital pharmacy, but also the laboratorial work builded up in the phytochemistry and microbiology fields.

The first chapter intends to describe the first intership period, which begun in january until march 2019, at the Pharmaceutical Services of the Unidade Local de Saúde de Castelo Branco. During the internship period, the various existing areas were approached, which can be divided into management, distribution, pharmacotechnics and ambulatory, and within each of these were focused not only theoretical and technical-scientific knowledges, but also good practices and the human character that should guide the pharmacist's performance as a healthcare professional, regardless of the place of performance.

The second chapter seeks, similarly, to transpose the internship period between march to may 2019 at the Farmácia Ferrer, in Castelo Branco. Over the 12 weeks various areas were addressed, from receiving orders to serving the public, as well as services to users. The importance and role of the pharmacist as a health professional, his performance and contact with the user were extremely important pillars throughout the learning process.

Finally, the third chapter aims to demonstrate all the laboratory work developed at the Beira Interior Plant Biotechnology Center, as well as at the Castelo Branco School of Agriculture. As antibiotic resistance is one of the main health problems in the 21<sup>st</sup> century, it is imperative to discover new molecules that demonstrate the ability to inhibit the microorganisms' growth. The activities that were developed had as main goal the evaluation of the antibacterial potential of Bravo-de-Esmolfe apple (*Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*). Initially, the sample was prepared in order to evaluate possible differences between the peel and fruit pulp existing compounds. After obtaining extracts using two distinct solvents, as well as two different extractive techniques, the antimicrobial activity against five microorganisms was evaluated. After testing in solid medium, the minimum inhibitory concentrations of the various crude extracts were determined in *Müller-Hinton broth*, and the lowest result obtained was 31.25 mg / mL for the *Bacillus cereus* strain. With the determination of the minimum bactericidal concentrations it was possible to conclude that the obtained extracts only have inhibitory action, not being able to kill the microorganisms.

# Keywords

*Malus domestica*, Bravo-de-Esmolfe, Extracts, Antimicrobial Activity, Hospital Pharmacy, Community Pharmacy.

# Índice

## **Capítulo I – Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar – Serviços Farmacêuticos da ULSCB, EPE ..... 1**

<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
1.1. Os Serviços Farmacêuticos na ULSCB .....	1
<b>2. Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos.....</b>	<b>3</b>
2.1. Aprovisionamento .....	3
2.2. Aquisição.....	4
2.2.1. Aquisição de Medicamentos sujeitos a Autorização de Utilização Excepcional (AUE) .....	5
2.3. Receção e Conferência de Produtos Adquiridos.....	6
2.4. Armazenamento .....	7
<b>3. Distribuição.....</b>	<b>8</b>
3.1. Distribuição Clássica .....	9
3.2. Reposição por Stocks Nivelados .....	9
3.3. Distribuição personalizada.....	10
3.4. Distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU) .....	10
3.5. Distribuição a doentes em Ambulatório.....	12
3.6. Distribuição de medicamentos sujeitos a controlo especial.....	13
3.6.1. Medicamentos estupefacientes e psicotrópicos .....	13
3.6.2. Medicamentos hemoderivados .....	15
3.6.3. Medicamentos citotóxicos .....	16
3.7. Distribuição de Vacinas na ULSCB.....	16
<b>4. Produção e Controlo.....</b>	<b>17</b>
4.1. Reconstituição de fármacos citotóxicos .....	17
4.2. Preparação de formas farmacêuticas estéreis .....	18
4.3. Preparação de formas farmacêuticas não estéreis.....	19
4.4. Reembalamento .....	20
<b>5. Farmacovigilância.....</b>	<b>21</b>
<b>6. Participação do Farmacêutico nos Ensaio Clínicos .....</b>	<b>21</b>
<b>7. Farmacocinética clínica – monitorização de fármacos na prática clínica.....</b>	<b>22</b>
<b>8. Comissões técnicas.....</b>	<b>23</b>
8.1. Comissão de Ética .....	23
8.2. Comissão de Farmácia e Terapêutica .....	24
8.3. Grupo Coordenador Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antimicrobianos – GCLPPCIRA .....	24
<b>9. Atividades em Farmácia Clínica .....</b>	<b>25</b>
9.1. Intervenções Farmacêuticas .....	25
9.2. Sistema de Garantia da Qualidade .....	26
<b>10. Bibliografia.....</b>	<b>27</b>

## **Capítulo II – Estágio Curricular em Farmácia Comunitária – Farmácia Ferrer, Castelo Branco ..... 31**

<b>1. Introdução .....</b>	<b>31</b>
----------------------------	-----------

<b>2.</b>	<b>Organização da Farmácia .....</b>	<b>31</b>
2.1.	Recursos humanos .....	31
2.1.1.	Diretor técnico – responsabilidades e funções .....	32
2.2.	Espaço físico exterior .....	32
2.3.	Espaço físico interior .....	33
2.4.	Localização e horário de funcionamento .....	35
2.5.	Recursos informáticos.....	35
<b>3.</b>	<b>Informação e documentação científica.....</b>	<b>36</b>
<b>4.</b>	<b>Medicamentos e outros produtos de Saúde .....</b>	<b>36</b>
<b>5.</b>	<b>Aprovisionamento e Armazenamento .....</b>	<b>38</b>
5.1.	Fornecimento de medicamentos e produtos de saúde .....	38
5.2.	Receção de encomendas e controlo de medicamentos e produtos em stock.....	39
5.2.1.	Marcação de preços .....	40
5.2.2.	Controlo e Gestão de benzodiazepinas e substâncias psicotrópicas .....	41
5.2.3.	Gestão de Devoluções.....	41
5.2.4.	Armazenamento, organização e controlo de parâmetros .....	42
<b>6.</b>	<b>Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento.....</b>	<b>43</b>
6.1.	Informação acerca do uso correto do medicamento.....	43
6.2.	Farmacovigilância.....	44
<b>7.</b>	<b>Dispensa de Medicamentos .....</b>	<b>44</b>
7.1.	Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM).....	44
7.1.1.	Dispensa de medicamentos a partir de uma receita manual.....	45
7.1.2.	Dispensa de medicamentos a partir de receita sem papel .....	46
7.1.3.	Dispensa de medicamentos a partir de receita materializada .....	47
7.1.4.	Dispensa de medicamentos que contêm substâncias estupefacientes e psicotrópicos.....	47
7.1.5.	Dispensa de medicamentos genéricos.....	48
<b>8.</b>	<b>Automedicação .....</b>	<b>49</b>
8.1.	Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica .....	49
<b>9.</b>	<b>Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde .....</b>	<b>49</b>
9.1.	Medicamentos e produtos veterinários.....	50
9.2.	Produtos naturais, fitoterapia e suplementos alimentares .....	51
9.3.	Produtos dietéticos e de alimentação especial.....	51
9.4.	Dispositivos médicos.....	52
9.5.	Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene .....	54
<b>10.</b>	<b>Cuidados de saúde prestados na farmácia.....</b>	<b>55</b>
10.1.	Determinação de parâmetros bioquímicos .....	56
10.2.	Medição do valor de pressão arterial .....	57
10.3.	Testes de deteção de infeções da orofaringe e do trato urinário.....	57
10.4.	Administração de injetáveis.....	58
10.5.	Entrega ao domicílio .....	59
10.6.	Programa de Troca de Seringas .....	59
10.7.	Preparação individualizada da medicação .....	60
<b>11.</b>	<b>Preparação de Medicamentos.....</b>	<b>61</b>
11.1.	Material de laboratório.....	62
11.2.	Copiador de receituário .....	62
11.3.	Preparação de medicamentos manipulados.....	62
11.4.	Cálculo do preço dos medicamentos manipulados e participações associadas .....	63
<b>12.</b>	<b>Contabilidade e Gestão .....</b>	<b>64</b>
12.1.	Processamento de receituário e faturação ao SN.....	64
12.2.	Faturação a outras entidades participadoras .....	65

13.	Secção de Geriatria, Ortopedia e Lesões Desportivas.....	65
14.	Atividades desenvolvidas na Farmácia Ferrer .....	66
15.	Bibliografia.....	67

**Capítulo III – *Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*: Avaliação do potencial antimicrobiano de extratos hidroetanólicos .....** 71

<b>1.</b>	<b>Introdução .....</b>	<b>71</b>
1.1.	As plantas como fontes de compostos bioativos .....	71
1.1.1.	Compostos fenólicos.....	72
1.1.1.1.	Flavonóides .....	72
1.1.1.2.	Ácidos fenólicos.....	74
1.1.1.3.	Taninos .....	74
1.1.1.4.	Compostos quinónicos .....	74
1.1.2.	Óleos essenciais e terpenos.....	75
1.2.	Extração de compostos bioativos .....	76
1.2.1.	Técnicas de extração convencionais .....	76
1.2.2.	Técnicas de extração não-convencionais.....	77
1.3.	A maçã, <i>Malus domestica</i> .....	79
1.3.1.	<i>Malus domestica</i> cv. <i>Bravo-de-Esmolfe</i> .....	80
1.4.	Atividade antimicrobiana.....	82
1.4.1.	Desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos.....	83
1.4.2.	Avaliação do potencial antimicrobiano.....	84
<b>2.</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>85</b>
<b>3.</b>	<b>Materiais e Métodos .....</b>	<b>86</b>
3.1.	Amostra e reagentes de extração.....	86
3.2.	Preparação da amostra.....	86
3.3.	Obtenção dos extratos .....	86
3.3.1.	Extração por maceração com mistura hidroetanólica .....	87
3.3.2.	Extração assistida por ultrassons com mistura hidroetanólica.....	87
3.3.3.	Extração por maceração em hexano.....	87
3.4.	Determinação da atividade antimicrobiana .....	87
3.4.1.	Microrganismos e meios utilizados.....	87
3.4.2.	Teste de difusão em disco e de difusão por gota.....	88
3.4.3.	Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI).....	89
3.4.4.	Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB) .....	91
<b>4.</b>	<b>Resultados e Discussão.....</b>	<b>91</b>
4.1.	Processo de extração e rendimento .....	91
4.2.	Determinação da atividade antimicrobiana .....	93
4.2.1.	Teste de difusão em disco e de difusão por gota.....	93
4.2.2.	Determinação da Concentração Mínima Inibitória e da Concentração Mínima Bactericida.....	96
<b>5.</b>	<b>Conclusões e Perspetivas Futuras .....</b>	<b>100</b>
<b>6.</b>	<b>Referências .....</b>	<b>102</b>

**ANEXOS.....** 109

**Anexo I – Lista de situações passíveis de automedicação .....** 110

<i>Anexo II – Certificado de Participação na Formação “1º Curso Uriage” .....</i>	<b>112</b>
<i>Anexo III – Registo da coloração resultante da adição de resazurina aos extratos na gama de concentrações testada.....</i>	<b>113</b>
<i>Anexo IV - Resultados obtidos na determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB) .....</i>	<b>114</b>

## Lista de Figuras

<i>Figura 1 - Representação esquemática simplificada dos principais componentes da maçã. Adaptado de [35].</i>	80
<i>Figura 2 - Malus domestica cv. Bravo-de-Esmolfe. Retirado de [39].</i>	81
<i>Figura 3 - Resultados obtidos com a estirpe Escherichia coli ATCC 25922. Volume de extrato utilizado por disco: 10 <math>\mu</math>L; Volume de extrato utilizado por gota: 5<math>\mu</math>L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com cloranfenicol a 1%.</i>	94
<i>Figura 4 - Resultados obtidos com a estirpe Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 . Volume de extrato utilizado por disco: 10 <math>\mu</math>L; Volume de extrato utilizado por gota: 5<math>\mu</math>L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com cloranfenicol a 1%.</i>	94
<i>Figura 5 - Resultados obtidos com a estirpe Bacillus cereus ATCC 11778. Volume de extrato utilizado por disco: 10 <math>\mu</math>L; Volume de extrato utilizado por gota: 5<math>\mu</math>L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com Cloranfenicol a 1%.</i>	95
<i>Figura 6 - Resultados obtidos com a estirpe Staphylococcus aureus ATCC 25923. Volume de extrato utilizado por disco: 10 <math>\mu</math>L; Volume de extrato utilizado por gota: 5<math>\mu</math>L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com Cloranfenicol a 1%.</i>	95
<i>Figura 7 - Resultados obtidos com a estirpe Listeria monocytogenes NCTC 11944. Volume de extrato utilizado por disco: 10 <math>\mu</math>L; Volume de extrato utilizado por gota: 5<math>\mu</math>L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com Cloranfenicol a 1%.</i>	95
<i>Figura 8 - Resultados obtidos com a estirpe Escherichia coli ATCC 25922. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa</i>	97

<i>Figura 9 - Resultados obtidos com a estirpe Escherichia coli ATCC 25922. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. ....</i>	<i>97</i>
<i>Figura 10 - Resultados obtidos com a estirpe Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa. ....</i>	<i>97</i>
<i>Figura 11 - Resultados obtidos com a estirpe Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. ....</i>	<i>97</i>
<i>Figura 12 - Resultados obtidos com a estirpe Bacillus cereus ATCC 11778. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa. ....</i>	<i>97</i>
<i>Figura 13 - Resultados obtidos com a estirpe Bacillus cereus ATCC 11778. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. ....</i>	<i>97</i>
<i>Figura 14 - Resultados obtidos com a estirpe Staphylococcus aureus ATCC 25923. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa. ....</i>	<i>98</i>
<i>Figura 15 - Resultados obtidos com a estirpe Staphylococcus aureus ATCC 25923. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. ....</i>	<i>98</i>
<i>Figura III.1 - Resultados obtidos após adição de resazurina a 0,01% aos extratos, nas diferentes concentrações em estudo no ensaio de determinação da CMI, antes da incubação. Linhas A e B - extrato obtido por maceração da casca; Linhas C e D - extrato obtido por maceração da polpa; Linhas E e F - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. ....</i>	<i>113</i>
<i>Figura III.2 - Resultados obtidos após adição de resazurina a 0,01% aos extratos, nas diferentes concentrações em estudo no ensaio de determinação da CMI, após incubação a 37°C, por 1 hora. Linhas A e B - extrato obtido por maceração da casca; Linhas C e D - extrato obtido por maceração da polpa; Linhas E e F - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. ....</i>	<i>113</i>
<i>Figura IV.1 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe Escherichia coli ATCC 25922. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo. ....</i>	<i>114</i>

*Figura IV.2 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo. .... 115*

*Figura IV.3 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe Bacillus cereus ATCC 11778. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo..... 116*

*Figura IV.4 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe Staphylococcus aureus ATCC 25923. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo..... 117*



## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Exemplo de alguns compostos bioativos extraídos por diversos solventes. Adaptado de [2] e [25].	76
Tabela 2 - Composição nutricional da maçã Bravo-de-Esmolfe, por cada 100 g de amostra edível. Adaptado de [31].	81
Tabela 3 - Composição fitoquímica da maçã Bravo-de-Esmolfe, por cada 100 g de amostra edíveis. Comparação entre os valores obtidos com e sem casca. Adaptado de [31].	82
Tabela 4 - Esquema representativo da concentração final do extrato dos diferentes poços da microplaca para determinação da CMI.	91
Tabela 5 - Rendimento das extrações realizadas.	92
Tabela 6 - Halo de inibição formado, em milímetros (mm), pelo ensaio de difusão em disco e de difusão por gota para os extratos brutos. MC - extrato obtido por maceração da casca; MP - extrato obtido por maceração da polpa; USC - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; USP - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.	94
Tabela 7 - Concentrações mínimas inibitórias (CMI), em mg/mL, dos extratos analisados. MC - extrato obtido por maceração da casca; MP - extrato obtido por maceração da polpa; USC - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; USP - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.	96
Tabela 8 - Concentrações mínimas bactericidas (CMB), em mg/mL, dos extratos analisados. MC - extrato obtido por maceração da casca; MP - extrato obtido por maceração da polpa; USC - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; USP - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.	96
Tabela 9 - Lista de Situações Passíveis de Automedicação. Retirado de [15]	110



## Lista de Acrónimos

AA	Armazém avançado
ACSS,IP	Administração Central do Sistema de Saúde, Instituto Público
ANF	Associação Nacional das Farmácias
AO	Assistente operacional
AUE	Autorização de Utilização Excecional
BE	Bravo-de-Esmolfe
CA	Conselho de Administração
CCF	Centro de Conferência de Faturas
CEDIME	Centro de Documentação e Informação do Medicamento
CEM	Controlo de Esterilidade do Meio
CFT	Comissão de Farmácia e Terapêutica
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standards Institute</i>
CMB	Concentração Mínima Bactericida
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CNFT	Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica
CN <sub>x</sub>	Controlo Negativo
CP	Controlo Positivo
CTS	Controlo de Toxicidade do Solvente
DCI	Denominação Comum Internacional
DIDDU	Distribuição Individual em Dose Diária Unitária
DOP	Denominação de Origem Protegida
FEFO	<i>First Expired, First Out</i>
FHNM	Formulário Hospitalar Nacional do Medicamento
FNM	Formulário Nacional do Medicamento
GCLPPCIRA	Grupo Coordenador Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antimicrobianos
INE	Instituto Nacional de Estatística
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado
LEF	Laboratório de Estudos Farmacêuticos
MC	Extrato obtido por maceração da casca da maçã Bravo-de-Esmolfe
MEP	Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos
MHA	do inglês <i>Müller-Hinton Agar</i>
MHB	do inglês <i>Müller-Hinton Broth</i>
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
MP	Extrato obtido por maceração da polpa da maçã Bravo-de-Esmolfe
MSRM	Medicamento Sujeito a Receita Médica
MV	Medicamento Veterinário
NA	Agar Nutritivo (do inglês <i>Nutrient Agar</i> )
OF	Ordem dos Farmacêuticos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAI	Plano Assistencial Integrado
PFA	Preço de Venda ao Armazenista
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
PNV	Programa Nacional de Vacinação
PUV	Produto de Uso Veterinário

PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
RAM	Reações Adversas a Medicamentos
RSP	Receita Sem Papel
SA	Serviço de Aprovisionamento
SC	Serviço Clínico
SF	Serviços Farmacêuticos
SGICM	Sistema de Gestão Integrada do Circuito do Medicamento
SGQ	Sistema de Gestão da Qualidade
SIATS	Sistema de Informação para Avaliação das Tecnologias da Saúde
SICAD	Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e nas Dependências
SIE	Serviço de Instalações e Equipamento
SNF	Sistema Nacional de Farmacovigilância
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SPMS	Serviços Partilhados do Ministério da Saúde
TSA	do inglês <i>Trypticase Soy Agar</i>
TSDT	Técnico Superior de Diagnóstico e Terapêutica
UAC	Unidade de Administração de Citotóxicos
UCIP	Unidade de Cuidados Intensivos Polivalentes
UCSP	Unidade de Cuidados de Saúde Personalizados
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
ULSCB	Unidade Local de Saúde de Castelo Branco
USC	Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca da maçã Bravode-Esmolfe
USP	Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa da maçã Bravode-Esmolfe
YE	do inglês <i>Yeast Extract</i>

# Capítulo I - Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar - Serviços Farmacêuticos da ULSCB, EPE

## 1. Introdução

Os Serviços Farmacêuticos são organismos com autonomia técnica que exercem as atividades da farmácia hospitalar e, tal como definido no Decreto-Lei n.º 44 204, de 2 de fevereiro de 1962, têm como competências ações como a preparação, verificação, armazenamento, manipulação e distribuição de medicamentos e produtos de saúde, o apoio técnico a outros serviços do hospital, e a cooperação na ação médica e social com o objetivo de alcançar a cura, a recuperação ou a prevenção da doença, entre outros.[1]

O presente relatório pretende retratar os conhecimentos adquiridos ao longo do estágio nos Serviços Farmacêuticos (SF) da Unidade Local de Saúde de Castelo Branco (ULSCB), nas instalações do Hospital Amato Lusitano em Castelo Branco e sob orientação da Dra. Sandra Queimado. O estágio compreendeu um total de 300 horas, tendo decorrido de 21 de janeiro a 8 de março.

### 1.1. Os Serviços Farmacêuticos na ULSCB

A ULSCB é composta por um hospital e dez unidades de cuidados de saúde personalizados (UCSP), sendo estas unidades de saúde as seguintes: Hospital Amato Lusitano, UCSP de S. Miguel, UCSP de S.Tiago, UCSP de Alcains, UCSP de Idanha-a-Nova, UCSP de Vila Velha de Ródão, UCSP de Penamacor, UCSP de Proença-a-Nova, UCSP da Sertã, UCSP de Vila de Rei, UCSP de Oleiros.

Relativamente à organização dos SF, existem 12 espaços principais: o gabinete da direção, sala de ensaios clínicos, arquivo/biblioteca, sala de preparação da medicação, armazém central e zona de receção das encomendas, armazém de desinfetantes e antissépticos, sala de preparação de citotóxicos, sala de preparação de estéreis (inativa), sala de reembalamento, sala de preparação de manipulados, sala de ambulatório e sala das Farmacêuticas. Existem ainda outros espaços, como uma copa e instalações sanitárias. Nestes espaços ocorrem diversas atividades desenvolvidas quer pelos farmacêuticos quer pelos técnicos superiores de diagnóstico e terapêutica e pelos assistentes operacionais, tais como:

- Gabinete da Direção - local onde a Dra. Sandra Queimado, diretora dos SF, desenvolve a grande maioria das suas atividades, principalmente ligadas à gestão, aos processos burocráticos e administrativos e onde reúne habitualmente com outros profissionais;

- Sala de ensaios clínicos - neste espaço são armazenados todos os medicamentos que se encontram em fase de ensaios clínicos, bem como toda a informação relativa a esses mesmos ensaios;
- Arquivo/biblioteca - espaço onde se encontram diversas fontes de informação úteis para o desenvolvimento das várias atividades dos profissionais de saúde;
- Sala de preparação da medicação - neste espaço ocorrem principalmente as atividades relacionadas com a distribuição da medicação, nas suas várias vertentes. É neste espaço que se encontra a medicação individualizada destinada à distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU) e onde é realizada a sua distribuição pelos módulos que depois são levados para os serviços, onde as farmacêuticas validam essa mesma distribuição e onde são atendidos os pedidos realizados por outros profissionais de saúde de forma pontual.
- Armazém central e zona de receção das encomendas - estes dois espaços são contíguos e constituem o local onde são armazenados todos os medicamentos e produtos de saúde.
- Armazém de desinfetantes e antissépticos - destinado ao armazenamento deste tipo de produtos de forma separada dos medicamentos.
- Sala de preparação dos citotóxicos - este espaço encontra-se dividido em três, garantindo que existem as áreas adequadas à preparação dos operadores e à manipulação dos medicamentos.
- Sala de preparação de estéreis - local destinado à produção de medicamentos manipulados estéreis, atualmente não se encontra em funcionamento, aguardando intervenção para que possa passar a ser utilizada.
- Sala de reembalamento - local onde se encontra o equipamento para reembalamento individualizado de formas orais sólidas e onde são preparados de forma individual outros medicamentos.
- Sala de preparação de manipulados - neste espaço encontra-se o material, matérias-primas e equipamentos utilizados na preparação de medicamentos manipulados não estéreis.
- Sala de ambulatório - espaço destinado à cedência de medicação em regime de ambulatório em vigor na legislação.
- Sala das Farmacêuticas - neste local as farmacêuticas realizam a validação das prescrições com vista à deteção de potenciais problemas, existindo também várias estantes com material de apoio e o cofre para armazenamento dos estupefacientes. Dada a proximidade desta sala com a sala de ambulatório, encontram-se ainda aqui armazenados alguns medicamentos dispensados em ambulatório.

No que concerne a recursos humanos, nos SF da ULSCB trabalham nove farmacêuticas, cinco técnicos de farmácia e quatro assistentes operacionais. Todos os funcionários demonstram possuir fortes conhecimentos acerca da área da saúde, existindo uma forte cooperação e

espírito de equipa, tentado sempre garantir o acesso dos doentes à medicação e aos dispositivos médicos que necessitam, com a maior celeridade e qualidade, fornecendo o apoio necessário não só entre si próprios, mas também a outros profissionais de saúde. Em estreita colaboração com os SF existe ainda o Serviço de Aprovisionamento (SA) onde exercem diariamente funções uma gestora e três administrativos.

Um aspeto que considero importante referir é o facto de cada profissional dos SF, embora capacitado para desenvolver trabalho em todas as áreas onde seja necessário, se encontrar atribuído a uma secção específica, permitindo assim que o mesmo desenvolva mais conhecimentos e competências para o desenrolar do seu funcionamento laboral, e possibilitando que o mesmo esteja mais alerta a potenciais erros que possam surgir.

O horário de funcionamento dos SF é das 8H30 às 17H30 de segunda a sexta-feira e das 9H00 às 13H00 nos sábados. Fora deste período, encontra-se permanentemente de prevenção uma farmacêutica que assegura qualquer necessidade que exista na ULSCB, sendo que este regime funciona de forma rotativa. Caso seja necessária a sua presença física nas instalações, a mesma será contactada por via telefónica sendo que posteriormente é redigida uma pequena descrição da situação em livro próprio onde são registadas as ocorrências.

## **2. Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos**

### **2.1. Aprovisionamento**

A seleção dos medicamentos existentes nos SF deve ter em atenção as moléculas presentes no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos (FHNM) bem como as necessidades dos doentes.[2]

Sempre que haja necessidade de utilização de medicamentos que não estejam presentes no FHNM, tal como descrito no número 3 do Despacho n.º 13885/2004, de 25 de junho, deve ser realizada uma adenda ao Formulário que deve ser aprovada em Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT). Estes medicamentos, que dependem de adenda ao FHNM, devem ser avaliados pela CFT em termos de impacto na qualidade de vida dos doentes e em critérios fármaco-económicos.[2,3]

No entanto, e tendo em conta as atualizações sofridas ao nível da legislação, de acordo com o Despacho n.º 2061-C/2013, de 1 de fevereiro, foi estabelecida a obrigatoriedade de utilização do Formulário Nacional do Medicamento (FNM) como instrumento de auxílio à seleção dos medicamentos a adquirir a nível hospitalar. Paralelamente à existência desta listagem de medicamentos, sempre que for necessária a utilização de um medicamento extra-formulário,

este deve ser incluído numa adenda que terá que ser aprovada pela Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica (CNFT).[4]

Ao longo da minha passagem pelos SF da ULSCB tive oportunidade de observar vários pedidos de aquisição de novos medicamentos que não existiam no hospital. Entre estes, posso destacar o pedido de aquisição do medicamento dapagliflozina, no qual participei no processo de pesquisa de informação e de estudos comparativos do mesmo, com vista à elaboração de um parecer bem fundamentado acerca da molécula. Este medicamento figura no FNM, no entanto, existiu necessidade deste parecer a apresentar na CFT local e no Conselho de Administração (CA).

## **2.2. Aquisição**

A aquisição de medicamentos e dispositivos médicos por parte dos SF é realizada, maioritariamente, de forma centralizada a partir dos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS), tal como definido no Despacho n.º 16206/2013, de 3 de dezembro.[5] A SPMS surgiu a partir da necessidade de centralizar, otimizar e racionalizar a aquisição de bens. Através deste procedimento de centralização, pretendeu-se facilitar e consolidar a aquisição de bens para as várias instituições do Serviço Nacional de Saúde (SNS), de forma a uniformizar as condições de compra oferecidas.[6] Desta forma, e através da SPMS, os medicamentos podem ser adquiridos através de concursos centralizados ou através do Catálogo Eletrónico. No caso de produtos que não estejam presentes nesta plataforma, a ULSCB poderá realizar um concurso público próprio para aquisição do mesmo ou realizar a compra por ajuste direto, diretamente com o fornecedor.

Para além de todas estas situações, podem ainda verificar-se aquisições de uma pequena quantidade de unidades, sendo estas as chamadas “compras à rua”, a fornecedores de urgência. Estes fornecedores podem ser armazenistas e distribuidores grossistas, mas também se verifica esta prática, embora apenas em casos extremos, através de farmácias de oficina. Desta forma é possível garantir a existência de toda a terapêutica necessária a todos os doentes da ULSCB de forma mais célere.

O processo de aquisição de medicamentos e produtos farmacêuticos é realizado, habitualmente, por uma farmacêutica encarregue da área da gestão. Este procedimento pode iniciar-se por várias vias, sendo as principais a elaboração dos pedidos de produtos em falta no armazém, registados de forma presencial num documento, e os pedidos de produtos cujo stock se encontra abaixo do ponto de encomenda, recolhidos por via informática.

No setor da gestão existem vários indicadores de gestão que são tidos em conta para a elaboração dos pedidos, sendo que o mais utilizado é o ponto de encomenda, definido para cada produto de forma individual, e de acordo com os critérios de cada hospital.[7]

Assim, existem pedidos que são elaborados com base nos produtos que se encontram abaixo do pedido de encomenda, presentes numa lista elaborada através do software de apoio ao Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento (SGICM) existente na ULSCB, que foi, no caso, desenvolvido pela empresa *Glantt - Global Intelligent Technologies, SA*. Paralelamente a esta situação, de forma semanal, o responsável pelo armazém central elabora uma lista dos produtos em falta. Esta lista é depois entregue à farmacêutica responsável pela realização dos pedidos de encomenda que os realiza de forma diária.

No momento da realização dos pedidos de encomenda, a farmacêutica responsável tem em atenção vários indicadores, de forma a realizar previsões de consumo o mais próximas da realidade possível, tais como: os valores de consumo mensal e anual de períodos prévios, o ponto de encomenda e o stock existente. Um fator que é ainda tido em conta é a sazonalidade, já que existem alguns medicamentos cuja rotatividade e utilização variam de acordo com as épocas do ano. Desta forma, a equipa dos SF tenta manter os stocks controlados, para que exista sempre a medicação necessária para os doentes da ULSCB.

### **2.2.1. Aquisição de Medicamentos sujeitos a Autorização de Utilização Excecional (AUE)**

Um dos procedimentos que se encontra regulamentado e autorizado para a aquisição de medicamentos para os SF é a Autorização de Utilização Excecional (AUE). Tal como descrito no Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, o INFARMED pode autorizar que sejam utilizados, em Portugal, medicamentos que careçam de autorizações, nomeadamente de introdução no mercado ou de importação paralela. Para que seja concedida uma AUE, o medicamento em causa deve cumprir uma das seguintes condições:

- Possuir justificação clínica, sendo considerado imprescindível para prevenção, diagnóstico ou tratamento de patologias;
- Ser necessário para responder à propagação de agentes patogénicos, toxinas, agentes químicos ou de radiação nuclear, capazes de causar efeitos nocivos;
- Em casos excecionais, através da aquisição para um doente específico.[8]

Na ULSCB, o processo de aquisição de medicamentos sujeitos a AUE iniciou-se com a elaboração de um mapa em que se registaram os medicamentos pretendidos e quais os preços e condições oferecidos por três empresas distribuidoras existentes na Europa. Posteriormente analisou-se o mesmo com vista à seleção da alternativa que revelava ser economicamente mais vantajosa. O procedimento continua depois, como descrito na Circular Informativa da entidade competente, com a apresentação ao INFARMED do pedido formal, compreendendo este passo a entrega do Impresso de uso obrigatório e da justificação clínica, caso se trate de um medicamento extra-formulário, bem como de outros documentos descritos. É ainda necessário salientar que, em casos em que a realização do pedido se destine à sua utilização para um doente específico, a

apresentação do pedido deve ser realizada através do portal SIATS (Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias da Saúde), enquanto que nos restantes casos, os pedidos são realizados diretamente por via e-mail.

Considero assim que, embora represente um gasto de recursos, a elaboração prévia do mapa supracitado, comporta uma mais valia para a gestão, já que permite que seja efetuada uma seleção mais consciente e ponderada dos medicamentos a adquirir, potenciando assim a utilização dos recursos disponíveis para a obtenção de outros produtos, essenciais para o tratamento, diagnóstico e prevenção de doenças nos doentes da ULSCB.

### **2.3. Receção e Conferência de Produtos Adquiridos**

O processo de aquisição de novos medicamentos, dispositivos médicos e produtos farmacêuticos termina com a receção dos mesmos nos SF. Na ULSCB esta atividade é desempenhada por um técnico superior de diagnóstico e terapêutica (TSDT) e um auxiliar, que se coordenam de forma a garantir a organização e bom funcionamento do armazém. Após a conferência por parte do técnico, que deve verificar se a guia de remessa e/ou fatura que acompanha os produtos está de acordo com os produtos recebidos, e se corresponde, efetivamente, a uma nota de encomenda existente, estes documentos são levados até ao SA onde é dada entrada dos lotes e da encomenda no stock de produtos existentes nos SF. Importa ainda referir que a encomenda deve possuir um duplicado da guia de remessa, já que o original tem como destino o serviço de aprovisionamento e o duplicado deve regressar à empresa distribuidora.

O momento de verificação da encomenda revela ser fulcral no controlo da segurança e qualidade de todos os produtos existentes. Esta verificação deve ser quantitativa, uma vez que a quantidade rececionada deve ser concordante com a encomendada e com a que figura na guia de remessa, e qualitativa, uma vez que tem que ser verificado o estado de conservação das embalagens, o prazo de validade e o lote.

Após a examinação de todos os produtos, deve verificar-se se existem condições especiais de armazenamento, tentando, o mais rápido possível, proceder à sua colocação nessas mesmas condições.

Existem ainda algumas particularidades no momento de receção de produtos, dos quais se podem destacar:

- Anexo VII - todas as encomendas de medicamentos estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas devem ser acompanhadas pelo Anexo VII, tal como definido na alínea c), do número 3, do artigo 2º da Portaria n.º 981/98, de 8 de junho e no artigo 18º do Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro; [9, 10]

- CAUL - Certificado de Autorização de Utilização do Lote - emitido pelo INFARMED, IP, este documento deve acompanhar todas as encomendas de medicamentos derivados do sangue e plasma, garantindo assim que são cumpridos todos os requisitos de qualidade;
- Boletim de análise de matérias-primas e ficha de segurança - devem acompanhar cada uma das matérias-primas destinadas à preparação de medicamentos manipulados, tal como definido no número 5, da Deliberação n.º 1497/2004, de 7 de dezembro.[11]

## 2.4. Armazenamento

O armazenamento de todos os produtos rececionados revela também ser de enorme importância, devendo ser garantidas as condições mais adequadas a cada tipo de produto, tanto a nível de temperatura e humidade, como de luminosidade e de segurança. [2]

De forma genérica, e sem atender a particularidades, podem indicar-se as condições:

- Temperatura máxima de 25°C;
- Humidade inferior a 60%;
- Abrigo da luz solar direta.[7]

Na ULSCB, existem no armazém central 8 frigoríficos e 6 estantes, nas quais os medicamentos estão organizados por ordem alfabética de Denominação Comum Internacional (DCI), e de acordo com o princípio *FEFO - first expired, first out*. Este sistema permite então um melhor controlo dos prazos de validade dos medicamentos, dispositivos médicos e produtos farmacêuticos, tendo em conta que preconiza que os produtos com um prazo de validade mais curto devem ser os primeiros a sair do armazém. Importa também referir que, por questões de logística e de melhor utilização do espaço, a última estante existente armazena antibióticos de grande volume, suplementos alimentares e medicamentos de utilização ao nível do planeamento familiar, como sejam contraceptivos orais e dispositivos intra-uterinos.

De notar ainda que todos os espaços onde existem armazenados medicamentos, dispositivos médicos e produtos farmacêuticos têm condições de humidade relativa e temperatura controladas em tempo real devido à existência do sistema *IT2 Wireless Calmetric®*. Este sistema permite não só a monitorização das condições referidas, como também emite alertas sonoros em caso de irregularidades, sendo estes alertas recebidos em computadores e dispositivos móveis dos SF e do Serviço de Instalações e Equipamento (SIE).

Numa sala lateral ao armazém central, encontra-se ainda outra área com ligação ao exterior e onde são armazenadas todos os injetáveis de grande volume, como, por exemplo, soluções de cloreto de sódio a 0,9%, soluções de glucose a 5%, sacos/frascos de água para preparações injetáveis, entre outros.

Relativamente aos medicamentos sujeitos a condições de armazenamento especiais, podem destacar-se:

- Medicamentos estupefacientes e psicotrópicos - estes medicamentos encontram-se armazenados num cofre de paredes metálicas e com sistema de fecho duplo, presente na Sala das Farmacêuticas;
- Benzodiazepinas - estes medicamentos são armazenados num armário que se encontra na sala da distribuição, permanentemente fechados à chave, e ao qual apenas tem acesso os farmacêuticos;
- Hemoderivados - à semelhança das benzodiazepinas, também os medicamentos derivados do sangue e plasma são mantidos num armário fechado e trancado, e ao qual apenas têm acesso os farmacêuticos;
- Medicamentos citotóxicos - encontram-se armazenados em dois locais distintos, sendo que a principal diferença são as condições de refrigeração. Os medicamentos que devem ser armazenados no frio, são mantidos num frigorífico existente na sala da distribuição, já os medicamentos que não necessitam destas condições de temperatura, são mantidos num armário fechado à chave, no espaço contíguo à sala de preparação de citotóxicos;
- Inflamáveis e desinfetantes - este tipo de produtos encontra-se armazenado numa sala própria para o efeito. Nesta sala existe um detetor de fumos e um chuveiro, uma porta corta-fogo e total privação da luz solar;
- Matérias-primas - por questões logísticas e de acessibilidade, as matérias-primas são armazenadas em armários presentes na sala de preparação de medicamentos manipulados.
- Medicamentos utilizados em ensaios clínicos - encontram-se num armário presente na sala dos ensaios clínicos, e à qual apenas têm acesso as farmacêuticas responsáveis por este tipo de atividade;
- Medicamentos de dispensa em ambulatório - por questões de proximidade e de forma a garantir o correto armazenamento destas moléculas, mas também celeridade na sua dispensa, estes medicamentos encontram-se armazenados em três espaços distintos: um armário presente na sala de ambulatório, um frigorífico presente numa área de circulação contígua à mesma sala e dois armários presentes na Sala das Farmacêuticas. Importa referir que as epoetinas, e por questões de gestão do espaço existente, são armazenadas num dos frigoríficos do armazém central.

### **3. Distribuição**

A distribuição de medicamentos é uma das funções do farmacêutico em Farmácia Hospitalar, sendo a forma através da qual o medicamento certo chega até ao doente na quantidade e qualidade mais adequadas.[7]

Alguns dos principais objetivos da distribuição de medicamentos são a garantia do cumprimento da prescrição, a racionalização da distribuição, a diminuição dos erros relacionados com a medicação, garantindo ainda a administração correta do medicamento. Verifica-se ainda que a distribuição permite que haja menos tempo de enfermaria dedicado a tarefas administrativas e de manipulação de medicamentos, possibilitando uma maior atenção e cuidado ao doente.[2]

### **3.1. Distribuição Clássica**

O processo de distribuição clássica consiste na existência de um stock, previamente definido entre os responsáveis de cada serviço clínico (SC) e os SF, sendo acordados para medicamentos, injetáveis de grande volume, desinfetantes, detergentes e material de penso.

Este tipo de distribuição aplica-se a todos os serviços em que não existam sistemas automatizados (*Pyxis®*) ou, nestes serviços, para produtos que não se encontram nos sistemas referidos.

Na ULSCB existem dias em que devem ser pedidos, preferencialmente, determinados tipos de produtos, nomeadamente, nas segundas e quintas-feiras devem ser realizados pedidos de medicamentos gerais, nas terças-feiras injetáveis de grande volume e nas quartas-feiras os desinfetantes, detergentes e material de penso. Esta distribuição permite que haja uma mais fácil organização do trabalho nos SF. De acordo com esta calendarização, cada enfermeiro chefe do SC procede ao envio de pedidos para repor o stock, sendo estes depois validados pelos farmacêuticos e enviados para o serviço correspondente.

Este tipo de distribuição é aplicado principalmente aos medicamentos de utilização mais frequente e comum na maioria dos serviços.

### **3.2. Reposição por Stocks Nivelados**

A distribuição de medicamentos através de reposição de stocks nivelados consiste num tipo de distribuição em que os medicamentos são repostos nos serviços clínicos, conforme ocorre a sua saída do sistema, existindo um stock previamente definido pelos SF e os médicos e enfermeiros de cada serviço. Esta reposição é realizada com uma periodicidade também definida.[2]

Na ULSCB este tipo de distribuição funciona principalmente através do sistema automatizado *Pyxis®*. Este sistema assemelha-se a armários e encontra-se em vários serviços: urgência geral, bloco operatório, Unidade de Cuidados Intensivos Polivalentes (UCIP) e Hospital de Dia de Hemodiálise. Entre estes serviços, os medicamentos que existem armazenados são diferentes já que a lista dos mesmos é definida de acordo com as principais necessidades de cada um dos SC.

Estes armários encontram-se ligados a um computador central, que se encontra na farmácia, e que permite obter, a qualquer momento, os stocks de cada medicamento existente em cada unidade existente no hospital.

O procedimento de reposição no sistema *Pyxis*® inicia-se nos SF onde é recolhida uma lista, por cada serviço em que exista o equipamento, onde são indicados todos os medicamentos que figuram nos mesmos, stock máximo desse medicamento e stock atual. A partir desta lista são registadas as unidades de cada medicamento que irão ser introduzidas, e é preparada a medicação para ser levada até aos serviços. Já nos serviços, o técnico introduz os medicamentos no armário e corrige no computador associado a este o stock existente e qual a data de validade a expirar primeiro que está presente. Após a introdução, é gerada uma nova lista com os movimentos que foram efetuados.

Neste sistema o farmacêutico intervém, principalmente, em duas etapas: a validação da medicação antes desta ser levada para os serviços e a validação do relatório final onde figuram os movimentos.

Existe ainda um outro sistema de reposição de stocks nivelados na ULSCB, referente ao serviço clínico de ortopedia, que constitui um Armazém Avançado (AA). Neste SC não existe nenhum sistema eletrónico *Pyxis*®, mas a qualquer momento o farmacêutico pode saber através do SGICM quais os medicamentos e quais as suas quantidades.

### **3.3. Distribuição personalizada**

A distribuição personalizada caracteriza-se pelo facto de a medicação ser dispensada com a identificação do utente a quem se destina. Embora este tipo de distribuição se verifique com uma baixa frequência, pode destacar-se o exemplo da distribuição de anéis vaginais, método contraceptivo, para as UCSP que pertencem à ULSCB. Para que este produto possa ser dispensado, o médico deve enviar um documento com a identificação da doente a quem se destina e com a justificação para utilização, em detrimento da utilização de contraceção hormonal por via oral. Posteriormente é realizada a cedência, sendo a embalagem identificada com os dados da doente.

### **3.4. Distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU)**

A distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU) constitui um dos sistemas de distribuição de medicamentos mais seguro e eficiente, garantindo que existe um acompanhamento da farmacoterapia do doente por parte do farmacêutico e permitindo diminuir os erros associados.

As prescrições destinadas ao tratamento de doentes em internamento na ULSCB são realizadas online, seguindo depois para os serviços farmacêuticos onde, de forma separada, são validadas.

Existe então a divisão dos SC do hospital pelas farmacêuticas aquando da validação das prescrições, fator que permite que sejam desenvolvidas relações de maior proximidade não só com os médicos, mas também com os doentes, aumentando o conhecimento acerca dos problemas de saúde e garantindo um maior estado de alerta para situações que possam comprometer a eficácia, segurança e qualidade do processo utilização de medicamentos e dispositivos médicos.

No momento de validação são tidos em conta vários fatores, iniciando pelos dados do doente e diagnóstico do mesmo, fator que permite estar alerta à existência de eventuais comorbilidades, e histórico de alergias. Quanto aos medicamentos, são avaliados isoladamente quanto à substância ativa, indicação terapêutica e justificação clínica, adequação à patologia que motivou o internamento, contra-indicações e precauções, duração da terapêutica, possíveis duplicações, e cumprimento dos critérios de utilização, aprovados pela CFT da instituição. São ainda verificadas as doses, frequência de administrações, adequação da forma farmacêutica prescrita à via de administração e possíveis interações entre os fármacos.

Após a validação das prescrições por parte das farmacêuticas, os TSDT preparam a medicação, serviço a serviço, passando depois a uma nova atuação por parte dos farmacêuticos, desta vez para conferência de toda a medicação preparada e validação do trabalho dos TSDT. Nesta fase são verificadas as quantidades de medicamentos colocadas dentro das diversas gavetas, os princípios ativos e as dosagens de cada um, de forma a que esteja de acordo com a prescrição médica.

No momento da preparação da medicação é utilizado o sistema *Kardex*®, equipamento semi-automático que garante uma maior celeridade na preparação e que indica qual a gaveta onde se encontra o medicamento em causa, corretamente identificado quanto a princípio ativo, forma farmacêutica e dose, possibilitando assim a organização das gavetas nos módulos com maior segurança

Uma vez que os serviços farmacêuticos não laboram de forma contínua, existindo interrupção durante o fim-de-semana, na sexta-feira a medicação é preparada de forma a cobrir todas as necessidades, desde as 16 horas de sexta-feira até às 16 horas de segunda-feira. Durante os restantes dias, a terapêutica farmacológica é preparada de forma diária, sendo sempre destinada às administrações existentes entre as 16 horas do dia em que é preparada e as 16 horas do dia seguinte.

Outras particularidades deste sistema são o envio de apenas uma forma farmacêutica no primeiro dia de tratamento quando as mesmas sejam multidoso (exemplo: inaladores, soluções/suspensões orais, contraceptivos orais, entre outros), e a existência de um horário específico quer para a validação quer para a preparação da medicação. Desta forma existe uma maior organização no serviço. Existe ainda um horário para a realização de alterações nas

prescrições, isto é, cada serviço tem conhecimento de qual a hora até à qual é garantido que, em caso de alteração da prescrição de um doente, a mesma alteração será realizada na medicação que se encontra nos módulos. Este procedimento é chamado de “Mapa de alteradas”, e é recolhido para cada serviço após a validação por parte do farmacêutico, sendo depois realizadas essas alterações e garantido que é recebida, no serviço, a terapêutica farmacológica mais recente e atualizada.

Após a verificação do “Mapa de alteradas”, realiza-se uma conferência de algumas gavetas, fator que pretende contribuir para a maior segurança e diminuição dos erros. Devem ser verificadas, para todos os serviços, pelo menos 10% das camas, sendo exceção os módulos dos serviços de Obstetrícia/Ginecologia e Pediatria, nos quais são verificadas todas as gavetas.

Todas as prescrições novas e alterações à terapêutica medicamentosa que sejam realizadas depois do envio dos carrinhos, pelos assistentes operacionais (AO), para os serviços, devem ser realizadas através de uma requisição com base na prescrição, associando desta forma a medicação requisitada a um doente específico. Também estas requisições passam por um processo semelhante, que se inicia com a validação/verificação pelo farmacêutico, preparação pelo TSDT e nova validação pelo farmacêutico.

### **3.5. Distribuição a doentes em Ambulatório**

A existência de um serviço de Ambulatório nos SF hospitalares demonstra ser um fator de extrema importância, já que é esta a valência que permite que doentes portadores de doenças crónicas e cujo tratamento não possa ser dispensado em farmácias comunitárias, tenham a sua terapêutica assegurada. Este serviço possibilita ainda a vigilância e o controlo das patologias e das terapêuticas prescritas.[7]

No momento da cedência, os SF devem fornecer todos os medicamentos embalados de forma correta e bem identificados, e garantir que o doente recebe toda a informação necessária com vista à correta utilização dos mesmos, fomentando também a adesão à terapêutica.[7]

Existem então várias portarias, despachos e Decretos-Lei que definem quais as patologias e quais os tratamentos que devem ser cedidos em cada situação, podendo destacar-se situações como a artrite reumatóide, espondilite anquilosante, artrite psoriática, artrite idiopática juvenil poliarticular e a psoríase em placas; os doentes com insuficiência renal crónica ou transplantados renais, dos quais se distinguem ainda os doentes com necessidade de tratamento com epoetinas; os doentes cujo tratamento se destina à profilaxia da rejeição aguda de transplante renal alogénico; doentes com patologias do foro oncológico; doentes com hepatite C; patologias do foro gastroenterológico, como doença de Crohn; doentes submetidos a cirurgias em bloco ambulatório, entre outros.[12-21]

Relativamente a todas as situações acima descritas, a quantidade de medicação a ceder é variável. Considerando o panorama geral, deve efetuar-se a dispensa de medicação que permita ao doente realizar o tratamento por um período de 30 dias, sendo também este o período abrangido para tratamentos que revelem ter elevado impacto económico para a ULSCB. No entanto, em casos de oncologia urológica ou diálise peritoneal, deve ser dispensada quantidade suficiente até que o doente tenha uma nova consulta na instituição, variando estes períodos, habitualmente, entre um e seis meses. Uma outra particularidade engloba os doentes submetidos a procedimentos cirúrgicos em bloco ambulatorio, já que, e tal como definido no Decreto-Lei n.º 13/2009, de 12 de janeiro, com a alteração introduzida pelo Decreto-Lei n.º 75/2013, de 4 de junho, “a quantidade de medicamentos dispensados não pode ser superior à necessária para sete dias de tratamento após a intervenção cirúrgica.” [20, 21]

Paralelamente à dispensa de medicação para a qual existe suporte legal, existe ainda dispensa de medicamentos que não figuram em qualquer instrumento legislativo. Esta circunstância verifica-se em casos em que os medicamentos são de uso exclusivo hospitalar ou em casos de carência sócio-económica devidamente fundamentados. Para que esta cedência possa ser realizada, cada caso particular é avaliado pelo Conselho de Administração da ULSCB, pela CFT e submetida a um parecer por parte dos SF. Posteriormente, e nos casos que sejam deferidos, o clínico que pretende prescrever o medicamento em causa é notificado, podendo a partir daí o doente solicitar a sua medicação. A título de exemplo das situações que são abrangidas por este caso, podem referir-se os doentes portadores de Hepatite B, osteoporose grave ou esclerose múltipla.

Na ULSCB, a valência de Farmácia de Ambulatório tem um horário de funcionamento específico, sendo este de segunda-feira a quinta-feira das 9 horas às 16 horas, e sexta-feira das 9 horas às 14 horas. Durante o meu estágio pude assistir e realizar, sob supervisão por parte de uma farmacêutica, vários momentos de dispensa que abrangeram a quase totalidade de situações legisladas, bem como situações para as quais não existia suporte legal.

Importa, por último, referir que, dada a delicadeza das situações contempladas neste tipo de valência, recomenda-se que exista nos SF um espaço que garanta a privacidade do doente durante o momento de atendimento.[7]

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

#### **3.6.1. Medicamentos estupefacientes e psicotrópicos**

A utilização de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (MEP) encontra-se legislada por diversos diplomas, existindo especial destaque para o Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro, o Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro e a Portaria n.º 981/98, de 8 de junho. Uma vez que este tipo de substâncias implica, obrigatoriamente, uma atenção redobrada por

parte dos profissionais de saúde, não só pela atuação deste tipo de moléculas a nível do sistema nervoso central, mas também devido à existência de tráfico das mesmas, é imperativo que toda a sua utilização se encontre regulamentada e que sejam cumpridos todos os documentos legislativos.[22-24]

Desta forma, sempre que existe uma prescrição por parte de um clínico de um dos medicamentos classificados como MEP, o médico deve enviar, obrigatoriamente, o documento designado como Anexo X, devidamente preenchido com o nome do medicamento, por DCI, forma farmacêutica, dosagem e código do serviço. Uma vez que este tipo de medicamentos é dispensado para um doente específico, no Anexo X figuram ainda os campos para preenchimento com a informação do doente a quem irá ser administrado o MEP, quantidade prescrita, informação acerca do enfermeiro que administra e qual a data de administração.

Por último, e dado o rigor que a distribuição de estupefacientes e psicotrópicos implica, a requisição deve ser assinada pelo médico diretor do serviço de onde provém a requisição, que deverá também colocar o seu número mecanográfico.

Já nos SF, o farmacêutico responsável deve validar a prescrição, implicando este passo que se verifique se o medicamento se encontra prescrito *online* no caso de serviços clínicos em que exista DDDU.

Após a validação da prescrição, a farmacêutica procede ao envio do medicamento pedido, sendo este entregue em mão no serviço requisitante por um dos auxiliares, que deve também assinar a requisição. No momento da entrega, o enfermeiro que recebe a medicação deve também assinar o pedido, completando assim as quatro assinaturas que permitem, a qualquer momento, saber quais os profissionais envolvidos no processo de distribuição de um determinado medicamento. Aquando da administração, o enfermeiro responsável pela mesma deverá registar no Anexo X que realizou essa administração, colocando a data da mesma.

Sempre que é enviado um medicamento para um dos serviços clínicos, fica guardada nos SF uma fotocópia da requisição, onde são assinaladas todas as quantidades de medicamentos enviadas. Este fator permite depois um confronto entre os medicamentos enviados e os medicamentos administrados a cada doente, uma vez que, quando se esgotam as linhas de registo no Anexo X, o original é devolvido aos SF e o duplicado fica arquivado no serviço clínico requisitante.

Relativamente à distribuição de MEP, existe na ULSCB a possibilidade de os serviços clínicos possuírem em stock este tipo de medicamentos. Para tal, são enviados diariamente os pedidos, também sob formato do Anexo X, para realização da reposição dos stocks. Aquando do pedido de reposição, a requisição deve vir apenas com as quantidades solicitadas, sendo colocada a informação do doente apenas no momento da administração.

Nos serviços clínicos em que existe um equipamento Pyxis® e onde figuram MEP, nomeadamente o bloco cirúrgico, a reposição do stock é feita presencialmente pela farmacêutica responsável. Uma vez que estes equipamentos permitem obter relatórios onde figura a identificação dos doentes e dos medicamentos retirados para cada um, é possível fazer o confronto entre estes dados e os dados que se encontram registados no Anexo X.

Importa ainda referir que, de forma trimestral, os dados de consumos de MEP são reportados ao INFARMED.

### **3.6.2. Medicamentos hemoderivados**

Um medicamento hemoderivado, também designado por medicamento derivado do sangue ou do plasma humanos, é definido pelo Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto, como um *“medicamento preparado à base de componentes do sangue, nomeadamente a albumina, os concentrados de fatores de coagulação e as imunoglobulinas de origem humana”*. [8]

Em Portugal, a requisição, distribuição e administração de medicamentos hemoderivados encontra-se legislada, existindo obrigatoriedade de utilização de um documento próprio constituído por duas folhas, a Via Farmácia e a Via Serviço.

No momento da requisição, o médico prescriptor deve preencher adequadamente a Via Farmácia, com os dados de identificação do doente, qual o serviço para onde se destina, a requisição e a justificação clínica para a mesma. Posteriormente, e já nos SF, o farmacêutico procede à validação da mesma, preenchendo um quadro com o hemoderivado prescrito, número de unidades, lote, fornecedor e número do certificado de libertação do lote por parte do INFARMED. Após este preenchimento, o medicamento é cedido ao serviço que requisitou, fazendo-se acompanhar da Via Serviço, onde são registadas todas as administrações efetuadas pelos profissionais de enfermagem, com data, nome, quantidade e fornecedor do hemoderivado em questão, e assinatura do profissional que procedeu à sua administração. Por fim, e para completar o circuito de distribuição, o farmacêutico analisa a Via Serviço, confrontando os dados registados pelo Enfermeiro com os dados presentes na Via Farmácia.

Importa referir que, no momento de dispensa dos medicamentos, todas as unidades são etiquetadas com os dados do doente a que se destinam, já que por cada documento preenchido apenas é cedida medicação para um único doente.

Durante o estágio, tive oportunidade de participar no procedimento de dispensa a vários serviços, não só na recolha dos dados dos vários medicamentos, destinados ao preenchimento da Via Farmácia, como também na colocação dos rótulos de identificação do doente em cada embalagem de medicamento e na conferência dos dados da Via Serviço.

### **3.6.3. Medicamentos citotóxicos**

O processo de distribuição de medicamentos citotóxicos conta com a participação de vários profissionais de saúde. Após a validação da prescrição pela farmacêutica responsável, ocorre o momento de preparação do mesmo, sendo que neste passo atua um TSDT e um farmacêutico que valida todas as operações realizadas.

No momento da validação é impressa uma ficha de preparação do medicamento e 3 rótulos da preparação. Estes rótulos, por sua vez, têm destinos diferentes: um deles será colocado na preparação, outro no saco opaco onde a preparação será transportada, e o terceiro é colado na ficha de preparação. Todos estes passos são alvo de verificações e validações por parte de um farmacêutico, que confronta todos os rótulos entre si para garantir que não existem trocas de medicamentos ou erros no processo de distribuição até à chegada ao doente.

Dentro dos SF, o último profissional a contactar com o medicamento é então o AO, que é encarregue de transportar os sacos onde se encontram as preparações, dentro de uma caixa de plástico fechada, até à unidade de administração de citotóxicos (UAC).

### **3.7. Distribuição de Vacinas na ULSCB**

Desde 2009, e com a criação da Unidade Local de Saúde de Castelo Branco, que os SF do Hospital Amato Lusitano passaram a ter também sob a sua alçada a gestão de vacinas utilizadas, não só pelo hospital, mas também pelas UCSP.

As vacinas que se encontram a cargo dos SF na ULSCB pertencem a dois grupos distintos: as que figuram no Programa Nacional de Vacinação (PNV) e as que se destinam a administração após a “Consulta do Viajante”. Destes dois grupos, e a título de exemplo, tem-se a vacina contra o sarampo, parotidite epidémica e rubéola, vacina contra *Neisseria meningitidis* C ou a vacina contra o tétano, difteria e tosse convulsa, presentes no primeiro grupo, e as vacinas contra a encefalite japonesa, febre tifóide ou febre amarela, pertencentes ao segundo grupo. Importa ainda referir que enquanto que as vacinas presentes no PNV são cedidas pela ULSCB de forma gratuita, as vacinas que são prescritas em Consulta do Viajante são sujeitas ao pagamento de uma taxa pelo utente.

Todo o procedimento tem início com um pedido por parte do Enfermeiro responsável em cada UCSP, que através de contacto telefónico, informa quais as vacinas que se encontram em falta. Nesse momento, são confrontados os valores definidos previamente como stock mínimo e o stock existente, já que cada UCSP constitui um AA. É então criado um pedido no SGCIM nos SF, que é preparado e validado por farmacêuticos antes de ser enviado, sendo este sistema um exemplo de distribuição por stocks nivelados.

No momento da saída das vacinas, são verificadas de forma individual todas as unidades, atendendo ao seu lote, que fica registado, data de validade e condições de conservação,

garantindo que, a qualquer momento, seja possível saber quais os lotes existentes em cada AA, e permitindo uma melhor gestão dos stocks já que, por exemplo, em casos de proximidade do prazo de validade, é possível mobilizar determinadas vacinas para locais onde exista uma maior utilização, evitando o desperdício.

No estágio, e aquando da minha presença no setor da produção, pude acompanhar o trabalho da farmacêutica responsável por este setor em todos os passos, bem como na preparação das unidades para enviar, processo de registo de lotes e gestão dos stocks existentes em cada unidade.

## 4. Produção e Controlo

### 4.1. Reconstituição de fármacos citotóxicos

Entende-se por fármacos citotóxicos, aqueles que são utilizados no tratamento de neoplasias malignas quando a cirurgia ou a radioterapia não são opções adequadas ou não demonstram ser eficazes, ou ainda aqueles que são utilizados como adjuvantes da cirurgia e da radioterapia em tratamentos iniciais.[25]

Nos SF da ULSCB existem instalações próprias para a produção deste tipo de medicamentos. Estas instalações são constituídas por uma zona de apoio logístico e onde ocorrem os momentos mais burocráticos da dispensa deste tipo de medicamentos, e uma segunda zona destinada à preparação propriamente dita.

No que concerne à zona destinada à preparação e produção, a mesma é dividida em 3 áreas em que as condições de pressão, temperatura e esterilidade são completamente distintas. Numa primeira área encontra-se apenas uma bancada com algum material necessário à produção dos citostáticos (exemplo: seringas, *spikes*, bombas difusoras, campos estéreis e adaptadores). Este espaço não constitui um armazém de material, no entanto a presença destes componentes nesta área facilita a sua passagem, através do *transfer*, para dentro da câmara, permitindo uma maior celeridade no momento de produção. Numa segunda área, contígua à primeira e denominada por pré-câmara, encontra-se o material destinado à proteção do operador. Aqui, o TSDT e o farmacêutico que irão proceder à manipulação dos medicamentos devem efetuar a lavagem assética das mãos, deixar todo o tipo de acessórios que possam ter consigo, e equipar-se com protetores para sapatos, batas impermeáveis esterilizadas e descartáveis, luvas, máscara e touca.

Por fim, numa terceira área, a sala de preparação, encontra-se a câmara de fluxo laminar, de classe II, onde são preparados os medicamentos. Nesta zona existe uma pressão negativa, e pretende-se que seja o mais estéril possível, evitando contaminações dos medicamentos manipulados e garantindo a proteção do operador e do doente a quem posteriormente será administrado o medicamento.

Antes de se proceder à reconstituição dos medicamentos citotóxicos, a farmacêutica responsável pela área começa por validar todas as prescrições. Esta validação comporta uma análise da adequação do protocolo prescrito à patologia existente e a dose a administrar de acordo com os dados do doente. Esta dose é calculada, na maior parte dos fármacos, de acordo com a área de superfície corporal do doente, no entanto, existem também protocolos cuja dose é calculada de acordo com o peso do doente. Entre os parâmetros analisados, constam então o peso, a altura, a área de superfície corporal e os valores de creatinina.

Uma vez dentro da câmara, o técnico procede à limpeza da câmara de fluxo laminar com álcool isopropílico a 70% e compressas esterilizadas. Depois deste passo, e no caso da ULSCB, inicia-se então a produção dos medicamentos, começando por medicamentos biológicos, e só depois passando para os citotóxicos. Uma vez que existe pressão negativa dentro da sala de preparação, todos os materiais são borrifados com álcool isopropílico a 70% e passados para dentro da câmara através de um *transfer*.

Dentro da sala, nomeadamente na câmara de fluxo laminar, os materiais são manipulados de forma assética, e depois de preparados são rotulados com etiqueta própria onde figura o nome do doente, número da preparação, substâncias ativas existentes na preparação e solvente utilizado na reconstituição, bem como volumes de cada um destes componentes. Depois de rotulada, a preparação é novamente transportada pelo *transfer* para fora da sala, sendo colocada num saco próprio para o transporte, e no qual existe um rótulo igual ao do medicamento. O último passo é então o transporte de vários sacos numa caixa até ao serviço onde é administrada a medicação, a UAC.

Durante o estágio, tive oportunidade de participar no procedimento, nomeadamente na preparação dos tabuleiros que são depois enviados pelo *transfer* para dentro da câmara e ainda pude observar a validação de várias prescrições. Estes momentos permitiram ter contacto com vários protocolos, contribuindo para a sedimentação dos conhecimentos clínicos, bem como com novos materiais, contribuindo para uma melhor perceção do funcionamento dos sistemas de administração.

## **4.2. Preparação de formas farmacêuticas estéreis**

A manipulação de preparações extemporâneas estéreis deve ser realizada em áreas limpas, sendo que a entrada dos profissionais e dos materiais deve ser feita por uma antecâmara. Verifica-se ainda que devem existir filtros de ar e uma câmara de fluxo de ar laminar horizontal. Ao contrário do que acontece com a câmara de preparação de medicamentos citotóxicos, dentro da sala de preparação de estéreis e nutrição parentérica deve existir uma pressão positiva.[2]

No que concerne a nutrição parentérica, dada a impossibilidade de preparação nas instalações dos SF, são utilizadas bolsas compartimentadas, nas quais existem porções com quantidades

específicas de lípidos, proteínas e hidratos de carbono, que são facilmente misturadas na enfermaria, pelo Enfermeiro. É também este profissional de saúde que procede à aditivção de vitaminas sempre que necessário. Dada a impossibilidade de preparação por parte dos farmacêuticos, sempre que solicitado é prestado auxílio na preparação das bolsas.

No decorrer do estágio não pude assistir à preparação deste tipo de preparações uma vez que não existe uma sala com as condições adequadas, estando os SF, de momento, a aguardar a realização de obras.

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

A preparação de formas farmacêuticas não estéreis assume atualmente uma posição central na atividade do farmacêutico hospitalar. É através destas preparações que é possível garantir que o medicamento certo chega até ao doente que o necessita na forma mais adequada à sua administração e com a dose correta de substância(s) ativa(s).

O Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril definiu as regras de prescrição e preparação de medicamentos manipulados, no entanto, o documento orientador e que define as Boas Práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados é a Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. Assim, e tal como definido por ambos os documentos supracitados, deve entender-se como Medicamento Manipulado, “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob responsabilidade do farmacêutico”. [26, 27]

Na ULSCB, a preparação de medicamentos manipulados é realizada numa sala preparada e equipada para o efeito, e onde se localizam também armazenadas as matérias-primas utilizadas na preparação dos medicamentos. Antes de se iniciar a produção propriamente dita do medicamento, a prescrição médica é validada, sendo verificadas as substâncias e doses presentes, bem como a possibilidade de existência de interações ou incompatibilidades na preparação. O segundo passo deste processo passa depois pela criação da Ficha de Preparação com base na prescrição. Este documento é obtido por via informática, e nele figuram vários dados acerca da preparação, dos quais se podem destacar: a identificação de todas as substâncias utilizadas, a quantidade de cada uma destas substâncias, os passos a seguir na manipulação e produção da preparação, e as características e propriedades a observar e verificar para garantir a segurança do medicamento. Em conjunto com a Ficha de Preparação, são ainda impressos dois rótulos com a identificação da preparação, do serviço onde foi realizada a prescrição, do doente a quem se destina, e com alguns dados acerca da conservação e das precauções de utilização do medicamento manipulado. Estes rótulos possuem, no final, destinos diferentes, já que um é colocado na Ficha de Preparação e o segundo é colocado na embalagem do medicamento.

Após ter sido reunida toda a documentação necessária, o medicamento é então produzido por um farmacêutico, que se deve assegurar do cumprimento de todas as Boas Práticas de

preparação de medicamentos manipulados e garantindo a segurança e a qualidade da preparação. No final da preparação, devem ser verificadas as propriedades do medicamento, com vista à libertação do lote para a distribuição.

Durante o meu estágio na ULSCB, tive oportunidade de preparar, sob supervisão farmacêutica: suspensão de bicarbonato, lidocaína e nistatina, solução de ácido cítrico a 25% e solução oral de propranolol a 1mg/mL. Pude ainda observar a preparação de uma pomada através do equipamento *Unguator*®.

#### **4.4. Reembalamento**

No âmbito dos serviços farmacêuticos de uma unidade hospitalar, o reembalamento de formas farmacêuticas demonstra ser uma atividade de extrema importância, já que é o procedimento que permite a cedência dos medicamentos de forma individualizada.

Na ULSCB este processo é realizado por um AO e por um farmacêutico que valida todas as operações. De forma a garantir a segurança dos doentes, evitar que existam erros de trocas de medicamentos, e assegurar que não ocorrem contaminações, são seguidas, para todas as formas farmacêuticas, *check-lists*. Estes documentos possibilitam ainda a validação, já que para cada ação descrita, existe um local próprio para que o profissional responsável por esse passo rubrique e valide a ação. Apesar de cada lista possuir especificidades próprias à forma farmacêutica a que se destina, todas garantem que existem passos de limpeza do material e equipamento de forma prévia e posterior à utilização, verificação de lotes e validades, quer do embalagem original quer da forma reembalada, e conferência do nome do medicamento original com aquele que foi colocado num novo acondicionamento. Todos os momentos acima descritos contribuem, no global, para a prestação de cuidados de saúde de qualidade e de forma mais cómoda para profissionais de saúde e para utentes.

Durante o estágio, assisti e participei no reembalamento de formas sólidas orais (comprimidos e cápsulas) e de injetáveis de pequeno volume (ampolas), sendo estas as principais formas reembaladas.

Relativamente a formas orais, importa ressaltar que são distintos os procedimentos seguidos para formas que são adaptadas à unidose, isto é, cujos blisters podem ser cortados, garantindo que numa das faces se encontram todas as informações necessárias à identificação do medicamento, ou para formas que não são adaptadas. Considera-se que para que um medicamento seja identificado com seguridade, na sua embalagem individual deve constar o nome do mesmo (por DCI), a dosagem, data de validade e lote. Uma particularidade que depende da adaptação, ou não, à unidose é a data de validade do medicamento re-acondicionado, sendo que, nos casos em que é necessário desblisterar os comprimidos ou cápsulas, ou remover da sua embalagem original, a validade a atribuir é de apenas 1 ano após

o reembalamento. Nos medicamentos em que apenas é necessário cortar o blister, a data de validade atribuída é a que figura na embalagem original.

No que concerne a formas injetáveis, é necessário ter em conta se as mesmas são disponibilizadas na forma líquida e pronta a administrar ou se é necessário proceder à sua reconstituição previamente e ainda se a molécula ou excipientes são fotossensíveis. Sempre que exista um componente que pode ser sujeito a degradação por ação da luz, o recipiente é protegido com papel de alumínio e é colocado um rótulo com as informações acerca do mesmo. Quando é necessária a reconstituição ou solubilização de um pó, uma ampola de água para preparações injetáveis acompanha o recipiente onde se encontra o medicamento. Em nenhum destes casos existe alteração do prazo de validade já que o medicamento é fornecido na embalagem original.

## **5. Farmacovigilância**

Entende-se por Farmacovigilância a ciência que se dedica à deteção, avaliação, compreensão e prevenção das reações adversas a medicamentos (RAM) e outros problemas relacionados com os medicamentos.[28]

Em Portugal a entidade que se dedica a esta ciência é o INFARMED, IP, dentro da qual existe o Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF), criado no ano de 1992 através do Despacho Normativo n.º 107/92, de 27 de junho.[2] Após todas as alterações legislativas sofridas, este sistema é atualmente regulamentado pelo Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto.[8]

Atualmente, é possível a todos os indivíduos realizarem a notificação de uma possível reação adversa. Esta notificação é realizada através do Portal RAM, disponibilizado no endereço eletrónico do INFARMED.

Durante o meu estágio pude assistir à elaboração e analisar a comunicação de várias reação adversa, tendo assim apreendido a importância deste tipo de notificações, qual a informação mais relevante para o esclarecimento da situação.

## **6. Participação do Farmacêutico nos Ensaios Clínicos**

Os ensaios clínicos podem entender-se como sendo uma “investigação conduzida nos seres humanos”, podendo esta ter vários fins, tal como definido pela Lei n.º 21/2014, de 16 de abril. Assim sendo, alguns dos objetivos são a descoberta de efeitos clínicos, farmacológicos ou farmacodinâmicos, a identificação de efeitos indesejáveis, a análise dos perfis farmacocinéticos e a avaliação dos perfis de segurança e/ou eficácia, acerca de um ou vários medicamentos experimentais.[29]

Em Portugal, o diploma que regulamenta os ensaios clínicos é a Lei n.º 21/2014, de 16 de abril, com as devidas alterações introduzidas pela Lei n.º 73/2015, de 27 de julho.[29, 30]

Nos SF da ULSCB verifica-se, tal como referido anteriormente, a existência de uma sala onde são armazenados os medicamentos para distribuição no âmbito de ensaios clínicos, local onde também se encontram reunida toda a informação acerca dos ensaios que se encontram a decorrer no momento e onde são realizados todos os registos. Durante o período de estágio, encontravam-se a decorrer dois ensaios clínicos abertos, pelo que pude observar não só o momento da dispensa, mas também a realização de todos os registos realizados relativamente aos medicamentos dispensados.

Existe nos SF um procedimento interno no qual se encontra estipulado que, para cada ensaio clínico em execução, devem existir dois farmacêuticos responsáveis, sendo que uma das farmacêuticas é a responsável pelo departamento e está presente em todos os ensaios, e a segunda profissional é a responsável pela área clínica correspondente.

Antes do início do ensaio, deve verificar-se a existência de parecer e autorização por parte de duas entidades, a Comissão de Ética Competente, e o INFARMED. Adicionalmente, deve ainda existir uma autorização por parte da Comissão Nacional de Proteção de Dados que garanta que todos os dados são confidenciais.

Posteriormente, e já no decorrer do ensaio, o farmacêutico constitui um pilar essencial. No momento de chegada dos medicamentos experimentais à instituição, deve verificar as condições dos mesmos, o lote, prazo de validade, certificado de libertação de lote e certificados de análise e de conformidade, sendo estas informações registadas num documento próprio.

Numa fase posterior, procede-se então à cedência dos medicamentos, apenas realizada mediante apresentação de uma prescrição médica. Na primeira dispensa o farmacêutico informa acerca do esquema posológico, modo correto de armazenamento e qual o procedimento para realizar a devolução. Previamente à entrega dos medicamentos, realiza-se o registo dos dados acerca do medicamento: lote, data de validade, princípios ativos e quantidade de formas farmacêuticas.

## **7. Farmacocinética clínica - monitorização de fármacos na prática clínica**

A farmacocinética clínica constitui um setor da farmácia hospitalar através do qual se pretende otimizar a administração de fármacos atendendo aos níveis séricos do mesmo, permitindo assim um controlo individual da terapêutica instituída. Com a determinação da concentração plasmática do fármaco, possibilita-se aos clínicos o ajuste da dose a prescrita, evitando

consequentemente que ocorra *sub-* ou *sobre-*dosagem. Esta atividade demonstra ser particularmente relevante para medicamentos de estreito índice terapêutico ou em que exista um comportamento cinético com oscilações imprevisíveis no decorrer do tratamento.[2]

Na ULSCB não existe, atualmente o *software* necessário à determinação das concentrações séricas, motivo pelo qual existe colaboração por parte dos SF do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra. Desta forma, são monitorizadas as concentrações plasmáticas, sempre que solicitado pelo médico e após informação ao mesmo da inexistência de meios para a determinação em causa, dos fármacos vancomicina e gentamicina.

## 8. Comissões técnicas

As comissões técnicas assumem uma posição de extrema importância numa unidade de saúde hospitalar. São estes os órgãos responsáveis pela garantia da qualidade dos serviços prestados, constituindo uma estrutura de apoio técnico e de índole consultiva.

Existem quatro comissões cuja existência é obrigatória num hospital, sendo elas:

- Comissão de Ética
- Comissão de Farmácia e Terapêutica
- Grupo Coordenador Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antimicrobianos (GCLPPCIRA)
- Comissão de Qualidade e Segurança do Doente

### 8.1. Comissão de Ética

A comissão de Ética encontra-se regulamentada pelo Decreto-Lei n.º 97/95, de 10 de maio. De acordo com o mesmo diploma, esta comissão deve ter uma composição multidisciplinar, podendo desempenhar funções “médicos, enfermeiros, farmacêuticos, juristas, teólogos, psicólogos, sociólogos ou profissionais de outras áreas das ciências sociais e humanas”. [31]

Encontram-se ainda regulamentadas as competências deste órgão, entre as quais se podem destacar:

- Zelar pela salvaguarda da dignidade e da integridade humanas;
- Emitir pareceres acerca de dilemas éticos existentes na instituição;
- Manifestar-se sobre os ensaios clínicos e protocolos de investigação que envolvam seres humanos ou os seus produtos biológicos;
- Promover a divulgação dos princípios da bioética que devem pautar a atuação dos profissionais de saúde da instituição. [31]

Importa ainda referir que a atuação da Comissão de Ética pode ser realizada de forma autónoma ou solicitada por outros profissionais de saúde.[31]

## **8.2. Comissão de Farmácia e Terapêutica**

A comissão de Farmácia e Terapêutica é também um órgão multidisciplinar, sendo constituído por profissionais da classe médica e da classe farmacêutica., em regime de paridade. Este órgão encontra-se, à data, regulamentado pelo Despacho n.º 2325/2017, de 17 de março.[32]

Fazem parte das competências desta comissão:

- Atuar como ponte entre serviços clínicos e os serviços farmacêuticos;
- Manifestar-se acerca das terapêuticas prescritas e sua adequação às diversas situações clínicas;
- Selecionar, de entre as alternativas terapêuticas previstas no FNM, quais os medicamentos a disponibilizar pela instituição, garantindo o cumprimento dos critérios emanados pela CNFT e dos protocolos próprios da instituição;
- Monitorizar os dados de utilização dos medicamentos;
- Analisar os custos de utilização dos vários medicamentos com cada serviço clínico, realizando ainda auditorias periódicas;
- Monitorizar a prescrição interna de medicamentos e meios complementares de diagnóstico e terapêutica, em articulação com o Monitor da Prescrição Médica
- Colaborar com o Sistema Nacional de Farmacovigilância.[32]

Esta comissão deve reunir semanalmente, sendo que o seu presidente pode convocar uma reunião extraordinária sempre que se revele necessário.[32]

## **8.3. Grupo Coordenador Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antimicrobianos - GCLPPCIRA**

A criação do GCLPPCIRA foi determinada pelo Despacho n.º 2902/2013, de 22 de fevereiro. Tal como descrito no Despacho n.º 15423/2013, de 26 de novembro, Portugal encontra-se entre os países da União Europeia com maior taxa de infeções associadas aos cuidados de saúde, existindo ainda problemas ao nível da prescrição de antimicrobianos, fatores que contribuem para a existência de maiores níveis de resistências a antibacterianos. Desta forma, este grupo de trabalho tem como objetivos gerais a diminuição do número de infeções associadas aos cuidados de saúde, a promoção da correta utilização de agentes antimicrobianos e a redução da taxa de microrganismos com capacidade de resistir a estes mesmos agentes.[33, 34]

O GCLPPCIRA deve então ser um órgão com diversas competências, descritas de forma mais completa e aprofundada no Despacho n.º 15423/2013, das quais se podem destacar:

- Supervisionar as práticas locais de prevenção e controlo de infeção e do uso de agentes antimicrobianos;
- Garantir o cumprimento de programas de vigilância epidemiológica;
- Garantir a existência de práticas para o isolamento e contenção de agentes que apresentem múltiplas resistências aos antimicrobianos;
- Promover e corrigir as práticas de controlo e prevenção de infeções e utilização de antibióticos;
- Rever e validar as prescrições de antimicrobianos, destacando-se nestes os carbapenemes e as fluoroquinolonas, durante as primeiras 96 horas de terapêutica.[34]

## 9. Atividades em Farmácia Clínica

### 9.1. Intervenções Farmacêuticas

O Colégio Americano de Farmácia Clínica (*American College of Clinical Pharmacy, ACCP*) define este conceito como sendo a área da saúde que presta cuidados aos pacientes, de forma a promover a saúde, o bem-estar e a prevenção de doenças, e que se preocupa com a otimização da terapêutica medicamentosa. Como disciplina, esta área contribui ainda para a geração de novo conhecimento, de forma a fomentar os avanços na saúde e na qualidade de vida.[35]

Pode definir-se como intervenção farmacêutica qualquer ação em que o farmacêutico participe de forma ativa na tomada de decisões acerca da terapêutica dos pacientes e também na avaliação dos resultados obtidos.[35] Assim, uma vez que o quotidiano do farmacêutico hospitalar é pautado pelo desenrolar constante de ações em prol do doente, do seu bem-estar e da sua recuperação, existem várias intervenções farmacêuticas e de diversos tipos.

Na ULSCB, a intervenção das farmacêuticas era motivada por diversas causas, das quais se podem destacar:

- Substituição da via de administração da terapêutica;
- Contacto com a equipa médica/de enfermagem;
- Alteração da forma farmacêutica;
- Correção da dose a administrar, tendo em conta parâmetros do doente e as condições do medicamento em si;
- Reavaliação da terapêutica antibiótica;
- Impacto económico da terapêutica e sugestão de alternativas mais custo-efetivas.

Durante o estágio nos SF da ULSCB, tive oportunidade de participar na criação de uma base de dados para registo das intervenções realizadas pelas farmacêuticas hospitalares. Através da elaboração deste registo, pude ter uma melhor perceção do tipo de intervenções mais frequentes, quais os tipos de cuidados a ter no desenrolar do dia-a-dia, e quais os fármacos que

mais frequentemente motivam a intervenção por parte do farmacêutico, possibilitando assim a atuação de forma mais consciente e cautelosa nas restantes áreas da farmácia hospitalar.

## **9.2. Sistema de Garantia da Qualidade**

Atendendo à responsabilidade e natureza dos serviços prestados e dos produtos fornecidos pela farmácia hospitalar, é essencial que a atividade desta sejam regidos por um Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ). Um SGQ de uma instituição de saúde deve ter como fundamento a ideologia de melhoria contínua e de foco no utente e na melhoria da sua saúde.[37]

Os hospitais e outras instituições prestadoras de cuidados de saúde pertencentes ao SNS devem reger-se por uma conceção integral de saúde, desenvolvendo os seus cuidados de forma rigorosa, com o objetivo de promover a saúde e prevenir a doença, incorporando ainda os cuidados curativos, reabilitadores e paliativos, tendo como suporte a melhor evidência científica.[38]

No período em que decorreu o meu estágio, os SF da ULSCB encontravam-se em processo de acreditação, motivo pelo qual participei na elaboração de diversos documentos necessários para esse mesmo processo. Um dos documentos requeridos pelo Manual de Acreditação de Unidades de Saúde, que por sua vez pretende espelhar o Programa Nacional de Acreditação em Saúde, é o Plano Assistencial Integrado (PAI). A patologia a que o PAI do SF se adapta é a neoplasia avançada da próstata.

## 10. Bibliografia

1. Diário da República, Decreto-Lei n.º 44 204. 1962; Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/517785>
2. Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar. Manual da Farmácia Hospitalar. Ministério da Saúde; 2005
3. Diário da República, Despacho n.º 13885/2004, de 25 de junho. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/1501226>
4. Diário da República, Despacho n.º 2061-C/2013, de 1 de fevereiro. 2013; Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/1068535/052-C\\_Desp\\_2061-C\\_2013\\_4ALT.pdf](http://www.infarmed.pt/documents/15786/1068535/052-C_Desp_2061-C_2013_4ALT.pdf)
5. Diário da República, Despacho n.º 16206/2013, de 13 de dezembro. 2013. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/2284871>
6. Aperta J, Borges A, Cadilha D, Dimas F, Dinis C, Feio J, Fonseca O, Garcia M, Marques F, Ribeiro J, Rodrigues C, Santos C, Teixeira C, Dimitrovová K. Compras Centralizadas na Saúde. Revista Portuguesa de Farmacoterapia [https://doi.org/10.25756/rpf.v7i4.97]. 2016 [citado 14 de abril de 2019]; 7(4):214-220. Disponível em: <http://revista.farmacoterapia.pt/index.php/rpf/article/view/97>
7. Conselho do Colégio da Especialidade em Farmácia Hospitalar. Boas Práticas de Farmácia Hospitalar. 1ª ed. Porto: Ordem dos Farmacêuticos; 1999.
8. Diário da República. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/540387>
9. Diário da República. Portaria n.º 981/98, de 8 de junho. 1998. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/1070504/Portaria+n.%C2%BA+981-98%2C+de+8+de+Junho/98730b43-704e-49f1-a2ed-338962a58357>
10. Diário da República. Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro. 1994. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/619306>
11. Diário da República. Deliberação n.º 1497/2004, de 7 de dezembro. 2004. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/3185390>
12. Diário da República. Portaria n.º 48/2016, de 22 de março. 2016. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/73934158>

13. Diário da República. Portaria n.º 255/2018, de 7 de setembro. 2018. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/116353280>
14. Diário da República. Despacho n.º 10/96, de 16 de maio. 1996. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/1072289/despacho\\_10-96.pdf](http://www.infarmed.pt/documents/15786/1072289/despacho_10-96.pdf)
15. Diário da República. Despacho n.º 9825/98, de 13 de maio. 1998. Disponível em: [https://gid.min-saude.pt/publicacoes/medicamentos/Despacho\\_9825\\_98\\_Medicamentos\\_Eritropoetina.pdf](https://gid.min-saude.pt/publicacoes/medicamentos/Despacho_9825_98_Medicamentos_Eritropoetina.pdf)
16. Diário da República. Despacho n.º 5821/2011, de 25 de março. 2011. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/2234711>
17. Diário da República. Despacho 6818/2004, de 10 de março. 2004. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/1072289/110-U-Desp\\_6818\\_2004\\_7\\_Alt.pdf](http://www.infarmed.pt/documents/15786/1072289/110-U-Desp_6818_2004_7_Alt.pdf)
18. Diário da República. Portaria n.º 255/2018, de 7 de setembro. 2018. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/116353280>
19. Diário da República. Portaria n.º 35/2018, de 12 de janeiro. 2018. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/114510461>
20. Diário da República. Decreto-Lei n.º 13/2009, de 12 de janeiro. 2009. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/397329>
21. Diário da República. Decreto-Lei n.º 75/2013, de 4 de junho. 2013. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/513620>
22. Diário da República. Decreto-Lei n.º 93/15, de 22 de janeiro. 1993. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/585178>
23. Diário da República. Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro. 1994. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/619306>
24. Diário da República. Portaria n.º 981/98, de 8 de junho. 1998. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/1070504/Portaria+n.%C2%BA+981-98%C2+de+8+de+Junho/98730b43-704e-49f1-a2ed-338962a58357>
25. Osswald W, Caramona M, Gonçalves J, Pinheiro RL, Rodrigues A, Silva MJ, Costa F, Polónio J, Sepodes B, Teixeira AA. Prontuário Terapêutico [Web page]; 2016 [citado 14 de abril de 2019]; Disponível em: <https://app10.infarmed.pt/prontuario/index.php>

26. Diário da República. Decreto-Lei n.º 95/04, de 22 de abril. 2004. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/223251>
27. Diário da República. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. 2004. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/261875>
28. Herdeiro MT, Ferreira M, Ribeiro-Vaz I, Junqueira-Polónia J, Costa-Pereira A. O Sistema Português de Farmacovigilância. Acta Médica Portuguesa. 2012 [citado 14 de abril de 2019]; 25(4):241-249. Disponível em: <https://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/download/67/55>
29. Diário da República. Lei n.º 21/2014, de 16 de abril. 2014. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/25344024>
30. Diário da República. Lei n.º 73/2015, de 2 de junho. 2015. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/69879383>
31. Diário da República. Decreto-Lei n.º 97/95, de 10 de maio. 1995. Disponível em: <https://www.ceic.pt/documents/20727/38721/Decreto-Lei+n.%C2%BA+97-95%2C+de+10+de+Maio/286f30dd-6c43-4217-946e-c1cd8f61ee61>
32. Diário da República. Despacho n.º 2325/2017, de 17 de março. 2017. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/106619399>
33. Diário da República. Despacho n.º 2902/2013, de 22 de fevereiro. 2013 [citado 14 de abril de 2019]; Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/1937340>
34. Diário da República. Despacho n.º 15423/2013, de 26 de novembro. 2013. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/2965166>
35. American College of Clinical Pharmacy. The Definition of Clinical Pharmacy. Pharmacotherapy. 2018 [citado 14 de abril de 2019]; 28(6):816-817. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18503408>
36. Clopés A. Intervención Farmacéutica. Farmacia Hospitalaria. CD-ROM, 3ª ed. Fundación Española de Farmacia Hospitalaria (FEFH), p113-144.
37. Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar. Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar, Capítulo I: Processos de Suporte. 2018 [citado 14 de abril de 2019]
38. Direção Geral da Saúde - Departamento da Qualidade na Saúde. Manual de Acreditação de Unidades de Saúde. 2ª ed. 2014 [citado 14 de abril de 2019]



# Capítulo II - Estágio Curricular em Farmácia Comunitária - Farmácia Ferrer, Castelo Branco

## 1. Introdução

Após 5 anos de formação de carácter maioritariamente teórico, ainda que aliado a inúmeras aulas práticas e momentos de avaliação em ambientes que simulam a prática e o quotidiano do farmacêutico nas suas mais variadas vertentes, é importante para todos os estudantes do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas a realização de um estágio curricular que permita assim fazer a transição do período académico para o mercado de trabalho.

A farmácia comunitária é hoje a área onde mais farmacêuticos trabalham. A intervenção farmacêutica tem evoluído ao longo do tempo, fator que permitiu ao farmacêutico de oficina alcançar uma posição privilegiada a partir da qual pode prestar o seu contributo para a saúde pública, para a correta utilização dos medicamentos, para a melhoria dos resultados obtidos com as terapêuticas farmacológicas, ajudando assim cada vez mais as pessoas a resolver os seus problemas no percurso de saúde ou de doença. Atualmente é possível ao farmacêutico comunitário atuar na gestão da terapêutica, na administração de medicamentos, na determinação de parâmetros, na deteção precoce de doenças e na promoção de estilos de vida saudáveis.

De forma paralela, o farmacêutico mantém a sua atividade central, o medicamento, sendo o profissional de saúde, por excelência, com mais conhecimentos nos medicamentos e na farmacoterapia.[1]

O relatório em seguida apresentado diz respeito ao estágio realizado em ambiente de farmácia comunitária no período decorrido entre o dia 13 de março e o dia 31 de maio de 2019 e sob orientação da Dra. Sílvia Rodrigues, Diretora Técnica da Farmácia Ferrer, situada em Castelo Branco.

## 2. Organização da Farmácia

### 2.1. Recursos humanos

Os recursos humanos constituem um pilar de extrema importância numa farmácia de oficina. A existência de uma equipa unida, com sólidos conhecimentos científicos e humanísticos, que se destaca pela versatilidade, simpatia e excelente capacidade de comunicação com o utente faz com que a Farmácia Ferrer seja acarinhada pelos seus utentes.

O quadro de pessoal da Farmácia Ferrer é constituído, à data, por 5 farmacêuticas, 1 técnico de farmácia, 1 técnico auxiliar de farmácia, 1 técnica oficial de contas, 1 funcionária indiferenciada e 1 empregada de limpeza. Conta ainda com o apoio de um dos seus proprietários que presta apoio a nível da gestão.

### **2.1.1. Diretor técnico - responsabilidades e funções**

A direção técnica da Farmácia Ferrer encontra-se a cargo de uma das farmacêuticas, a Dra. Sílvia Rodrigues.

Foi notória ao longo de todo o período de estágio a sua presença, não só no apoio e ensinamentos prestados, mas também no desempenhar de todas as funções inerentes ao seu cargo.

As funções do diretor técnico de uma farmácia de oficina encontram-se estipuladas no artigo 21º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, diploma que foi posteriormente alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto. Entre estes deveres podem destacar-se o dever de garantir que todos os utentes são esclarecidos acerca do modo de utilização dos medicamentos, a promoção do uso racional do medicamento e o dever de assegurar que Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) apenas são dispensados na presença do referido documento. Verifica-se ainda que o diretor técnico deve assumir a responsabilidade pelos atos farmacêuticos que ocorrem na farmácia e que é necessária a garantia de que os medicamentos e produtos dispensados se encontram em bom estado de conservação e que existem em número suficiente no aprovisionamento.[2, 3]

Paralelamente, é fundamental que sejam cumpridas todas as regras deontológicas inerentes à profissão farmacêutica, que se verifiquem todas as condições de higiene e segurança do espaço, e que os profissionais pautem pela existência dessas mesmas condições.[2]

## **2.2. Espaço físico exterior**

O espaço físico exterior de uma farmácia é fulcral para que os utentes a consigam identificar de forma fácil e rápida. Verifica-se assim a necessidade de existirem alguns elementos identificativos e de carácter obrigatório. Como previsto no número 2, do artigo 28º, do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, posteriormente alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto, devem figurar no exterior da farmácia o símbolo “cruz verde” e o vocábulo “farmácia”. [2]

No exterior da Farmácia Ferrer, figuram estes dois elementos, sendo o símbolo “cruz verde” perpendicular à fachada do edifício, e o vocábulo farmácia na parte superior da entrada principal e de uma das montras num letreiro que indica “FERRER Farmácia”.

Continuando ainda com o cumprimento da legislação em vigor que afeta o espaço referido nesta secção, a entrada para o interior da farmácia pode ser conseguida por qualquer utente, uma vez que a porta se situa ao nível do chão exterior. Desta forma é garantida a acessibilidade de todos os utentes, portadores, ou não, de deficiência, e de equipamentos como cadeiras de rodas e carrinhos de transporte de bebés.[2]

Por último, mas não menos importante, destaca-se também a existência de informação aos utentes acerca da direção técnica da farmácia, o seu horário de funcionamento e informação acerca das farmácias de serviço do município.

### **2.3. Espaço físico interior**

O espaço físico interior é também um dos elementos que deve respeitar a legislação existente. Desta forma, é essencial que existam espaços pré-determinados que permitam garantir aos utentes não só a segurança, conservação e preparação dos medicamentos e produtos de saúde, mas também a o conforto, o fácil acesso e a privacidade dos próprios utentes e dos recursos humanos.

Desta forma, uma farmácia de oficina deve dispor de, obrigatoriamente, uma sala de atendimento ao público, um armazém, um laboratório e instalações sanitárias.[2] Na Farmácia Ferrer existem ainda outras áreas, nomeadamente dois gabinetes que permitem proporcionar um atendimento com maior privacidade e sigilo aos utentes e onde são prestados alguns dos serviços disponibilizados, e uma área destinada à realização de medições de alguns parâmetros bioquímicos.

Na sala de atendimento principal existem 5 balcões de atendimento e várias estantes e expositores com os mais variados produtos. Grande parte dos produtos expostos constituem a secção de dermocosmética, ocupando toda a extensão de uma das paredes laterais. Por sua vez, na parede paralela a esta encontram-se expostos produtos de puericultura, suplementos alimentares e produtos destinados à higiene e saúde oral. Existem ainda expositores com métodos físicos de contraceção e produtos destinados à higiene íntima feminina. Na zona central encontram-se dois expositores onde se encontram produtos sujeitos a maior rotatividade da sua localização, quer devido a motivos de sazonalidade (caso dos produtos do “Espaço animal” aquando do período de estágio), quer devido à existência de promoções. Na área imediatamente atrás dos balcões de atendimento encontra-se a passagem para a área reservada aos funcionários. Lateralmente encontram-se as instalações sanitárias para utilização dos utentes e que são adaptadas de forma a que, em caso de o utente ser portador de deficiência, possam ser utilizadas por todos.

Dada a arquitetura da Farmácia Ferrer, existe ainda num espaço contíguo à área de atendimento um segundo espaço no qual são disponibilizados aos utentes produtos de

ortopedia, destinados à utilização em situações de lesões desportivas e para população geriátrica.

Na área reservada à equipa profissional encontram-se em primeiro lugar dois armários principais, sendo esta a forma de dividir as formas orais sólidas, organizados por nome de marca ou medicamento genérico. Por outro lado, encontram-se separados medicamentos cuja apresentação é realizada em saquetas e ampolas, bem como cremes e pomadas. Em todos os segmentos referidos dos dois armários a arrumação é realizada por ordem alfabética.

Existem também na proximidade destes dois armários algumas prateleiras, sendo que duas delas são destinadas a produtos reservados ou destinados a algumas instituições da cidade, três são destinadas a produtos de laboratórios específicos com os quais é possível à farmácia obter uma maior rentabilidade, bem como os produtos destinados ao programa de troca de pontos no âmbito do Cartão Saúde.

Numa área imediatamente posterior localizam-se 5 estantes deslizantes nas quais se encontram arrumados xaropes e gotas orais, dispositivos de inalação e sprays nasais, colírios e pomadas oftálmicas, medicamentos injetáveis, medicamentos de aplicação retal, produtos destinados à medicação de glicémia capilar (lancetas, agulhas e tiras-teste) e produtos de aplicação vaginal. Por último, nesta área encontram-se ainda produtos designados de “uso externo”, tais como loções, alguns cremes e pomadas, champôs, emplastos e vernizes medicamentosos. A última estante é destinada a leites em pó e alguns suplementos alimentares.

No que concerne à arrumação de medicamentos e produtos de saúde, existe ainda um frigorífico, duas estantes metálicas onde se encontram armazenados produtos cujo stock é maior, nomeadamente produtos de dermocosmética, produtos de higiene e cuidados orais, dispositivos indicados em situações de incontinência (fraldas e pensos) e algumas soluções de higiene nasal (vulgarmente conhecidas por “água-do-mar”). Para finalizar, existe uma pequena estante que contém também alguns suplementos alimentares, desta vez em forma de comprimidos ou cápsulas.

Importa referir que em todas estas áreas a arrumação é feita por ordem alfabética permitindo uma mais fácil organização dos produtos e facilitando o momento de dispensa.

Por último, na parte mais longínqua relativamente à área de atendimento localizam-se as instalações sanitárias, um pequeno armazém onde se encontram stocks maiores de alguns medicamentos, os cacifos onde toda a equipa pode guardar os seus pertences, e a entrada pela qual são realizadas as entregas dos fornecedores habituais.

Relativamente ao laboratório, o mesmo encontra-se equipado com todo o material recomendado, sendo também neste espaço que se encontram armazenadas as matérias primas

para a preparação de todos os medicamentos manipulados e produtos para dispensa para o exterior sem que exista qualquer tipo de manipulação.

## **2.4. Localização e horário de funcionamento**

A farmácia Ferrer localiza-se numa zona central, em Castelo Branco, sita na Praça D. José, ficando na sua proximidade algumas das zonas mais emblemáticas e históricas da cidade. Tendo em conta esta localização, os utentes habituais pertencem a uma faixa etária mais avançada, sendo na maioria das vezes polimedicados. Assim, é permitido aos profissionais que ali desenvolvem a sua atividade participar diretamente na melhoria da saúde da população através da prestação de todos os esclarecimentos necessários e serviços desenvolvidos.

Habitualmente este espaço onde a saúde e o bem-estar do utente são a prioridade encontra-se aberto entre as 9 horas e as 19 horas, de segunda a sexta-feira, e entre as 9 horas e as 13 horas ao sábado, estando encerrado sábados da parte da tarde e domingos. Contudo, e em virtude do serviço de atendimento permanente, de 11 em 11 dias a farmácia encontra-se em funcionamento por um período de 24 horas.

## **2.5. Recursos informáticos**

Existem na Farmácia Ferrer um total de 10 computadores, sendo que em 9 é possível aceder ao software informático Sifarma 2000®. Este programa, desenvolvido pela empresa *Glantt® - Global Intelligence Technologies*, é o mais frequentemente utilizado pelas farmácias e possui diversas funções. Estando dividido em seis módulos principais: atendimento, gestão de encomendas, receção de encomendas, gestão de lotes por faturar, gestão de utentes e gestão de produtos. Através destes separadores o farmacêutico pode realizar encomendas de acordo com parâmetros pré-definidos na ficha de cada produto, controlar os stocks existentes, realizar operações de controlo e gestão de substâncias sujeitas a controlo adicional, nomeadamente benzodiazepinas e psicotrópicos, e, numa face mais visível, realizar as várias operações relacionadas com o atendimento. Um aspeto que considero de grande importância prende-se com o facto de permitir, a qualquer momento, aceder a informação científica acerca de todos os medicamentos, fator que demonstra ser crucial no campo do aconselhamento farmacêutico.

Uma outra vantagem do software acima indicado prende-se com o facto de o mesmo ser intuitivo, de fácil utilização e permitir a existência de várias sessões e vários utilizadores, ficando registado o operador que realizou determinada ação.

Durante o estágio tive oportunidade de trabalhar com este programa de forma diária e durante um considerável período de tempo, experiência essa que permitiu verificar a versatilidade do mesmo, bem como consolidar conhecimentos acerca das diversas tarefas a desempenhar pelo farmacêutico comunitário.

### **3. Informação e documentação científica**

Sendo a área dos medicamentos e produtos de saúde um mundo em constante mudança e evolução, é essencial que o farmacêutico se mantenha corretamente informado e esteja a par da informação científica mais recente.

O Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto define no seu artigo 37º, os documentos de existência obrigatória nas instalações da farmácia, sendo estes a Farmacopeia Portuguesa (em formato físico ou digital), e outros documentos indicados pelo INFARMED.[2]

Por último, existem ainda na Farmácia Ferrer o Formulário Galénico Português, como documento principal de apoio à manipulação de medicamentos, várias circulares emitidas pelo INFARMED relativas a medicamentos retirados do mercado ou submetidos a alterações e circulares informativas acerca da utilização e aprovações de medicamentos.

Figura ainda entre os documentos existentes, o Compêndio de Parâmetros Bioquímicos, publicação da Associação Nacional das Farmácias (ANF) na qual se encontram descritas diversas informações acerca dos testes de medicação dos variados parâmetros bioquímicos realizados na farmácia.

Enquanto farmácia associada à Associação Nacional de Farmácias, a Farmácia Ferrer conta também, de forma permanente, com a colaboração do CEDIME - Centro de Documentação e Informação do Medicamento, entidade que presta esclarecimentos a qualquer dúvida relacionada com produtos de saúde, medicamentos e suplementos alimentares e do LEF - Laboratório de Estudos Farmacêuticos, entidade que auxilia e esclarece possíveis questões que possam surgir relacionadas com medicamentos manipulados, desde modo de manipulação mais adequado a prazos de validade e condições de estabilidade. Por diversas vezes, ao longo do estágio pude contactar o referido Centro, obtendo posteriormente resposta às perguntas e dúvidas colocadas e contribuindo para o aumento do conhecimento de todos os profissionais da farmácia, uma vez que aquando do solucionar das questões, a resposta era partilhada para todos.

### **4. Medicamentos e outros produtos de Saúde**

Os medicamentos e produtos de saúde assumem-se como o principal objeto de trabalho do farmacêutico de oficina. Desta forma, é essencial que o farmacêutico conheça não só os vários tipos de medicamentos, mas também toda a legislação associada aos mesmos.

O Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, define com clareza alguns conceitos, nomeadamente:

- Medicamento: “toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas.”
- Medicamento genérico: “medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade apropriados.” [4]

Ainda de acordo com o artigo 113º do Decreto-Lei anteriormente mencionado, os medicamentos podem ser divididos em Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) e Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM). Por sua vez, os MSRM podem ser divididos em 3 subcategorias, sendo estas: medicamentos de receita médica renovável, medicamentos de receita médica especial e medicamentos de receita médica restrita.[4]

Os medicamentos de receita médica renovável são os medicamentos que se destinem ao tratamento de doenças específicas ou a tratamentos de longa duração e que, por esse motivo, possam ser adquiridos pelo utente por mais que uma vez e sem que seja necessária uma nova prescrição médica. Estas prescrições possuem assim uma validade de 1 mês ou de 6 meses.[5]

Os medicamentos de receita médica especial são os medicamentos que cumpram uma das seguintes condições:

- i. Contenham uma substância classificada como estupefaciente ou psicotrópico;
- ii. Possam originar riscos de abuso medicamentoso, levar ao desenvolvimento de dependência ou ser utilizados para fins ilegais, quando utilizados de forma anormal.[4]

Por último, são considerados como MSRM restrita todos os medicamentos cuja utilização esteja destinada a situações e meios particulares por se cumprirem algumas circunstâncias, nomeadamente:

- i. Se destinarem a uso exclusivo hospitalar;
- ii. Se destinarem a patologias cujo diagnóstico apenas pode ser efetuado em meio hospitalar ou estabelecimentos onde existam meios de diagnóstico adequados;
- iii. Se destinarem a pacientes em tratamento ambulatorio mas a sua utilização possa levar à ocorrência de reações adversas muito graves.[4]

Relativamente à distinção entre MSRM e MNSRM, a mesma baseia-se no cumprimento, ou não, de um dos seguintes critérios:

- i. Possibilidade de constituir um risco para a saúde do doente, mesmo que utilizados para o fim apropriado;
- ii. Possibilidade de constituir um risco para a saúde quando utilizado em quantidade ou com periodicidade considerável em fins diferentes daquele a que se destinam;
- iii. Existência de substâncias ou preparações de substâncias acerca das quais é necessário aprofundar a sua atividade ou reações adversas;
- iv. Sujeitas a administração parentérica.[4]

Importa ressaltar que, em caso de cumprimento de um dos parâmetros enunciados, o medicamento é considerado como MSRM.

Verifica-se ainda, dentro dos MNSRM, a existência de medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia. Estas substâncias podem ser assim classificadas pelo INFARMED, atendendo a dados como o perfil de segurança e as indicações terapêuticas, existindo, de forma individualizada para todos os medicamentos assim classificados, protocolos de dispensa a seguir pelo farmacêutico no momento da sua dispensa.

No sítio online do INFARMED encontra-se ainda disponível uma lista onde constam todas as substâncias às quais foi atribuída esta classificação, bem como todos os protocolos de dispensa a elas associados.[6]

## **5. Aprovisionamento e Armazenamento**

Tal como referido anteriormente, existem no software informático presente na Farmácia Ferrer três separadores principais destinados exclusivamente à gestão e receção de encomendas e à gestão de produtos.

O processo de aquisição, receção e conferência de encomendas, seguido do armazenamento dos medicamentos e produtos disponibilizados nas farmácias constitui uma fase de extrema importância no circuito do medicamento, antes de este chegar até ao utente. Só garantindo que todos estes procedimentos decorrem sem erros e com a maior agilidade possível, o farmacêutico de oficina consegue garantir que o utente poderá ter acesso ao medicamento de que necessita, nas condições adequadas e num curto espaço de tempo.

### **5.1. Fornecimento de medicamentos e produtos de saúde**

Para que todos os utentes possam ver satisfeitas as suas necessidades, a Farmácia Ferrer conta com dois distribuidores: PLURAL - Cooperativa Farmacêutica e Alliance Healthcare. Assim são elaborados, de forma diária, três pedidos, nos quais figuram todos os medicamentos e produtos dispensados aos utentes e cujo stock se encontra abaixo do valor indicado para o stock máximo de cada produto.

Paralelamente, e sempre que necessário, os profissionais podem realizar pedidos “instantâneos” para qualquer um destes fornecedores. Esta ação é principalmente motivada por medicamentos que não existam na farmácia, mas que sejam prescritos ao utente ou solicitados por este, podendo também ser realizada para situações em que é necessária uma quantidade maior do que a existente em stock.

Existem vários fatores que podem influenciar a escolha dos fornecedores de uma farmácia, sendo que os mais invocados são a garantia de qualidade e segurança dos medicamentos e produtos fornecidos, o tempo de resposta das encomendas e as condições económicas oferecidas para os diversos produtos. De notar que, relativamente ao último fator, as condições económicas, a Farmácia Ferrer integra um grupo de farmácias a nível nacional com o qual é possível alcançar melhores condições de aquisição e de forma mais rápida.

Verifica-se ainda que, para além dos dois armazenistas previamente enunciados, são também realizadas encomendas diretamente a alguns laboratórios. Este tipo de compras é realizado principalmente para produtos da secção de dermocosmética, nomeadamente com marcas como *Eau Thermale Ávene*, *Uriage* e *La Roche Posay*, mas também se verificam para medicamentos com uma elevada rotatividade de stock como *Ben-u-ron®*, *Brufen®*, *Bepanthe®*, entre outros. De notar que este tipo de encomendas é realizado de forma planificada, com periodicidade de entregas previamente definida, e, por este motivo, têm prazos de entrega maiores.

Importa ainda salientar que a aquisição de produtos tem em conta diversos fatores, nomeadamente o número médio de vendas mensal dos últimos meses, a quantidade existente em stock, o valor previamente definido na ficha de produto para stock mínimo e máximo, o número de unidades que possam permitir obter alguma condição e a sazonalidade associada ao tipo de produto. Por último, um outro fator de carácter legislativo que afeta o stock e a aquisição de medicamentos é a obrigatoriedade de existência, nas instalações das farmácias, de pelo menos 3 medicamentos de entre os 5 mais baratos do respetivo grupo homogéneo, tal como previsto no número 2, do artigo 120-A, do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, aditado pela Lei n.º 11/2012, de 8 de março e alterado pelo Decreto-Lei n.º 20/2013, de 14 de fevereiro.[4, 7,8]

## **5.2. Receção de encomendas e controlo de medicamentos e produtos em stock**

Após a elaboração de um pedido de encomenda e envio do mesmo para o respetivo fornecedor, o passo seguinte é a chegada à farmácia e posterior receção da mesma. Através desta operação, é possível atualizar o stock existente para cada produto, bem como a atualização de preços e de prazos de validade, se necessário.

Aquando da sua chegada à farmácia, todos os contentores estão encontrados identificados com um código de barras correspondente à respetiva encomenda, estando selados por uma fita plástica e, em caso de conterem medicamentos que necessitem condições especiais de temperatura (nomeadamente refrigeração), identificados como tal. Esta identificação permite assim que haja uma maior celeridade na sua receção a nível informático para que os medicamentos sejam colocados no frigorífico e se mantenham na temperatura recomendada.

Dentro dos contentores, para além dos produtos pedidos encontra-se também a fatura da encomenda. A verificação de todos os dados deste documento permite auferir quais os produtos enviados pelo armazenista e respetiva quantidade, o preço a que cada produto foi debitado à farmácia (PVF) e possíveis condições/descontos concedidos e, caso se aplique, o preço de venda ao público (PVP).

A nível informático, no software Sifarma 2000® e através do separador “Recepção de Encomendas”, o operador deve selecionar o número de encomenda correspondente e indicar, primeiramente, o número da fatura associada e o valor líquido da mesma. Posteriormente devem ser lidos todos os códigos de barras de todos os produtos com recurso a um leitor adequado ao efeito. Neste momento, deve ser verificado para todas as embalagens de todos os produtos o prazo de validade indicado, sendo depois atualizado caso seja necessário. O operador pode ainda atualizar o PVF e PVP de acordo com o indicado na fatura e na embalagem do medicamento respetivamente. Uma vez terminado este procedimento, e no momento de finalizar a receção da encomenda, realiza-se um confronto entre o número total de unidades e as constantes na fatura, bem como valor final associado.

Caso existam produtos que, apesar de encomendados, não tenham sido enviados pelo distribuidor, o profissional pode então realizar a transferência de encomenda dos mesmos para outro armazém.

### **5.2.1. Marcação de preços**

Tal como referido anteriormente, o operador tem a possibilidade de alterar quer o PVF, quer o PVP no momento em que receciona a encomenda no software Sifarma 2000®. A Lei n.º 25/2011, de 16 de junho procedeu à alteração do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, mais concretamente na alínea p), do artigo 105ª, ficando assim preconizada a existência do PVP sob a forma impressa, de etiqueta ou carimbo.[4]

Desta forma, todos os medicamentos sujeitos a comparticipação, independentemente da sua classificação quanto à necessidade de receita médica para a dispensa, só podem ser comercializados de acordo com o PVP indicado. Por outro lado, no caso de medicamentos que não estejam sujeitos a comparticipação por parte do SNS, a farmácia poderá decidir qual o preço a que os mesmos serão comercializados, tendo sempre em conta que o preço depende de vários fatores:

- Preço de venda ao armazenista (PVA);
- Margem de comercialização do distribuidor grossista;
- Margem de comercialização do retalhista;
- Taxa sobre comercialização de medicamentos;
- Imposto sobre valor acrescentado (IVA).

### **5.2.2. Controlo e Gestão de benzodiazepinas e substâncias psicotrópicas**

Todos os medicamentos contendo substâncias pertencentes aos grupos das benzodiazepinas e substâncias psicotrópicas estão sujeitas a um controlo adicional por parte do INFARMED, IP. Este controlo surge de fatores como os seus efeitos no organismo humano, o risco de desenvolvimento de dependências e o perigo de ocorrência de tráfico e atividades criminosas associadas a este tipo de substâncias.

Desta forma, sempre que um medicamento pertencente a um destes grupos dá entrada no stock de uma farmácia, é gerado um código de entrada. Paralelamente verifica-se também a existência de um código de saída sempre que é efetuada a dispensa de um medicamento contendo uma substância psicotrópica ou estupefaciente.

Posteriormente, de forma mensal para substâncias psicotrópicas e de forma anual para benzodiazepinas, cada farmácia deve enviar para o INFARMED os registos associados.

### **5.2.3. Gestão de Devoluções**

Existem algumas situações que podem motivar a realização de uma devolução de um medicamento ou produto de saúde ao distribuidor que o forneceu. Entre estas situações, as que ocorreram com maior frequência ao longo do estágio foram:

- Prazo de validade reduzido ou já expirado;
- Embalagem danificada;
- Desistência da compra por parte do utente a que se destinava o produto;
- Falha operacional no momento da realização da encomenda.

Um outro fator, contudo, menos frequente, que pode motivar uma devolução de um produto é a existência de uma circular informativa emitida pelo INFARMED, para que ocorra uma recolha voluntária de medicamentos específicos.

Para que seja possível proceder à devolução de um produto, o programa Sifarma 2000® permite criar a guia de devolução, processo este que comunica diretamente à Autoridade Tributária a entrada em circulação do respetivo produto. Para a elaboração desta guia é necessário indicar o fornecedor, a fatura em que o produto foi debitado, o produto respetivo e o motivo que levou

à devolução. Posteriormente este documento deve ser impresso em triplicado, sendo as 3 vias carimbadas e assinadas pelo operador. O original e o duplicado devem ser enviados para o fornecedor, enquanto que o triplicado permanecerá arquivado na farmácia até que o processo de devolução seja concluído.

Para que ocorra esta conclusão, o fornecedor deverá emitir uma nota de crédito, quer sob a forma de produto, quer sob a forma de devolução de valor monetário, que é enviada à farmácia para compensação. Se a devolução não for aceite, o produto deverá então ser novamente enviado para a farmácia, sendo depois dada quebra no stock e ficando o prejuízo ao encargue da mesma.

#### **5.2.4. Armazenamento, organização e controlo de parâmetros**

O último passo após a receção da encomenda na farmácia constitui também uma fase que merece máxima atenção por parte dos profissionais. É essencial que todos os medicamentos se encontrem armazenados no local correto e conhecido por todos os profissionais, e também que se encontrem nas condições ideais de conservação. Estas duas premissas prendem-se com a rapidez durante o atendimento, fator que permite que o farmacêutico possa dispensar mais tempo e atenção a cada utente, mas também com a garantia de qualidade e segurança dos medicamentos. Desta forma, todas as moléculas que necessitem refrigeração e demonstrem ser termolábeis encontram-se num frigorífico, sendo que os restantes produtos estão armazenados em estantes e armários como previamente descrito.

Importa ainda referir que todos os espaços onde se localizam medicamentos ou outro tipo de produtos de saúde são alvo de monitorização, em tempo real, das condições de temperatura e humidade, sendo obtidos mensalmente relatórios com o registo destes parâmetros. Só desta forma é possível garantir que os produtos de saúde e medicamentos se encontram nas condições ótimas para o seu armazenamento, e evitando a sua degradação.

Atendendo ainda a que um dos parâmetros alvo de análise por parte do profissional de saúde é o prazo de validade dos medicamentos, no momento de arrumação no local indicado, os medicamentos são colocados atendendo ao princípio *FIFO - First in, First out*. Desta forma, os medicamentos que já se encontravam anteriormente em stock devem ser colocados de forma a serem dispensados em primeiro lugar, garantindo que os últimos medicamentos que deram entrada na farmácia são também os últimos a ser dispensados.

Relativamente a este parâmetro, verifica-se ainda a emissão, de forma mensal, de uma listagem em que figuram os produtos com prazo de validade a expirar no trimestre seguinte, sendo estes depois recolhidos e segregados dos restantes. De forma a minimizar as perdas financeiras associadas a estes produtos, a Farmácia Ferrer tem instituída a política de existência de um desconto no preço de produtos de saúde de venda livre, sendo obrigatória a informação ao utente de que o produto se encontra próximo do prazo indicado.

## 6. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento

No âmbito da farmácia comunitária é essencial que o farmacêutico consiga estabelecer uma boa comunicação com o utente. Só desta forma é possível perceber não só a situação em que o doente se encontra e que motivou a sua ida à farmácia, mas também garantir que a informação chega até ao mesmo e que é percebida de forma correta e adequada.

O Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos (OF) consagra então diversos deveres fundamentais do farmacêutico enquanto profissional de saúde em ambiente de farmácia comunitária, dos quais se podem destacar:

- Assegurar que na dispensa do medicamento o doente recebe informação correta acerca da sua utilização;
- Assegurar a máxima qualidade dos serviços prestados.[9]

Um outro aspeto essencial na comunicação com o doente e que também é reconhecido no Código Deontológico da OF, é o dever de sigilo, garantindo assim a máxima privacidade do utente:

“ 1 - Para garantia do sigilo profissional os farmacêuticos, no exercício da sua atividade, devem comportar-se de forma a evitar que terceiros se apercebam das informações respeitantes à situação clínica do doente.

2 - O sigilo profissional obriga os farmacêuticos a absterem-se de mencionar ou comentar factos que possam violar a privacidade do doente, designadamente os que se relacionam com o respetivo estado de saúde.” [9]

### 6.1. Informação acerca do uso correto do medicamento

Um dos momentos existentes durante o atendimento do utente consiste na prestação de informação acerca do correto uso do medicamento, garantindo assim que não existirão dúvidas fora da presença do profissional de saúde.

Na Farmácia Ferrer existe então um equipamento que permite a impressão de etiquetas de posologia autocolantes onde consta a informação que garante o correto uso do medicamento, fator que permite ao profissional de saúde reforçar a informação verbal com a informação escrita nas mesmas. Apesar de o sistema informático assumir, por predefinição, a informação disponível na ficha do produto respetivo ou constante na receita médica, é possível ao farmacêutico corrigir esse mesmo texto de forma a que o mesmo fique mais claro, simplificado e perceptível para o utente. Da mesma forma, é possível adicionar alguma informação acerca de precauções de utilização. De forma a adequar este sistema de informação a todos os utentes,

é ainda possível a utilização de pictogramas, de forma a que utentes com analfabetismo possam ter a informação ajustada às suas limitações.

Contudo, e uma vez que o utente pode ter algumas questões relativas às condições de conservação mais adequadas ou referentes a possíveis efeitos adversos ou interações medicamentosas, é importante indagar acerca das mesmas de forma a esclarecer ao máximo o utente.

## **6.2. Farmacovigilância**

Entende-se por farmacovigilância a ciência que se dedica à deteção, avaliação, compreensão e prevenção de reações adversas a medicamentos (RAM) e outros problemas relacionados com os medicamentos.[10]

Em Portugal, existe desde 1992 o Sistema Nacional de Farmacovigilância, sendo este o organismo responsável pela receção de todas as notificações de reações adversas e respetiva análise das submissões.[10, 11]

Atualmente é então possível que qualquer indivíduo, seja profissional de saúde ou utente, notificar a suspeita de uma reação adversa. Esta ação pode ser realizada de diversas formas, nomeadamente através do Portal RAM ou por e-mail, correio ou contacto telefónico para uma das Unidades Regionais de Farmacovigilância.

## **7. Dispensa de Medicamentos**

É através da dispensa e do aconselhamento que o farmacêutico de oficina tem oportunidade de demonstrar o seu valor e a sua importância para a saúde, do utente e da comunidade. A dispensa de medicamentos vai então depender do tipo de medicamentos e do tipo de documento que o utente possui, isto é, dos binómios MNSRM ou MSRM e receita médica materializada ou imaterializada.

### **7.1. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM)**

A dispensa de medicamentos considerados como sujeitos a receita médica apenas pode ser realizada com a presença de uma prescrição médica. A prescrição de medicamentos deve ser realizada de acordo com o nome da substância ativa, isto é, por Denominação Comum Internacional (DCI).[5] Apesar deste pressuposto, pode verificar-se a existência de receitas médicas nas quais a indicação do medicamento seja feita por nome comercial (marca ou nome do titular de Autorização de Introdução no Mercado), sendo esta situação justificada pela ocorrência de um dos seguintes casos:

- Não existência de medicamento genérico compartilhado ou existência apenas do medicamento de marca;
- Justificação técnica do prescritor.[5]

No caso de aplicação do último ponto anteriormente indicado, as justificações válidas encontram-se descritas no n.º 3 do artigo 120º do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, com a redação que a Lei n.º 11/2012, de 8 de março confere, e são:

- O medicamento prescrito possui índice terapêutico estreito, de acordo com a lista definida pelo INFARMED;
- Existe suspeita de que o medicamento motivou uma reação adversa, que deve ter sido notificada previamente ao INFARMED;
- O medicamento destina-se a assegurar continuidade de um tratamento cuja duração estimada é superior a 28 dias.[4, 7]

Encontra-se ainda estipulado pela Portaria n.º 224/2015, de 27 de julho, que a prescrição de medicamentos, mesmo que contendo estupefacientes e psicotrópicos ou que sejam medicamentos manipulados, deve ser realizada de forma eletrónica.[12]

Desta forma, verifica-se a existência de 3 tipos de receitas:

- Receita manual;
- Receita eletrónica desmaterializada/ Receita sem papel (RSP);
- Receita eletrónica materializada.[5,12]

### **7.1.1. Dispensa de medicamentos a partir de uma receita manual**

Existem algumas justificações que permitem que um médico possa fazer a prescrição por via manual. Estas exceções encontram-se descritas no número 1, do artigo 8º, da Portaria 224/2015, de 27 de julho:

- Falência do sistema informático;
- Inadaptação fundamentada do prescritor;
- Prescrição ao domicílio;
- Outras situações até um máximo de 40 receitas por mês.[12]

Na dispensa de um medicamento através do documento acima mencionado, existem vários fatores que merecem o olhar atento do farmacêutico, por forma a validar se a receita se encontra corretamente preenchida e podem ser dispensados os medicamentos. Inicialmente o profissional deve verificar se todos os campos da receita se encontram completos, sendo indicado o nome e o número do SNS ou da entidade que participa, a justificação para a prescrição sob via manual em preterência da via eletrónica, a vinheta com identificação do

médico prescritor, data e assinatura do mesmo. Deve também figurar na receita a identificação do local onde foi realizada a prescrição, quer por meio de vinheta autocolante (preferencialmente) quer por meio de carimbo.

Uma outra característica deste tipo de receitas prende-se com a validade, uma vez que, ao contrário de algumas situações de prescrições eletrónicas, as receitas manuais apenas possuem 30 dias de validade, sendo estes contabilizados a partir do dia que figura na data. Deve ainda atender ao número de medicamentos prescritos: um máximo de quatro embalagens, sendo que não podem existir mais do que dois medicamentos iguais entre si.[5]

O farmacêutico deve também confirmar que não existem na prescrição rasuras, caligrafias diferentes ou canetas de tintas diferentes ou lápis, motivos que podem determinar a não participação dos medicamentos.

No ato da dispensa, o farmacêutico seleciona o separador “Com participação”, lendo depois os códigos de barras dos medicamentos indicados. Em seguida deve selecionar-se o plano de participação aplicável e por fim terminar o atendimento. Após a confirmação dos medicamentos, deve imprimir-se no verso da receita:

- Código de barras dos medicamentos dispensados, acompanhados do respetivo nome e quantidade dispensada;
- Preço de cada medicamento;
- Valor a pagar pela totalidade dos medicamentos dispensados;
- Valor a pagar pelo utente por cada medicamento (após aplicação da participação);
- Plano de participação aplicado;
- Data de dispensa.

O passo final é a assinatura do verso da receita: primeiro pelo utente que solicita a dispensa, confirmando assim que lhe foram cedidos os medicamentos, e posteriormente pelo profissional de saúde que realizou a dispensa, que deve também carimbar e datar.

### **7.1.2. Dispensa de medicamentos a partir de receita sem papel**

A dispensa de medicamentos a partir de uma receita eletrónica pode ser efetuada com a presença física da guia de tratamento ou a partir de uma mensagem enviada para o contacto telefónico do utente. Em qualquer um destes meios encontram-se indicados os três códigos que permitem aceder à prescrição através do sistema informático existente na farmácia. Os três códigos indicados são:

- Número da prescrição;
- Código de acesso;
- Código de direito de opção.

Uma particularidade que distingue as receitas desmaterializadas das receitas em papel é o facto de permitirem ao utente que o mesmo adquira apenas um medicamento, independentemente do número de linhas e de unidades de cada medicamento prescritas. Desta forma, as receitas desmaterializadas possibilitam ao utente a aquisição dos seus medicamentos em diferentes momentos e em diferentes locais, permitiu diminuir o risco de erros na dispensa, facilitando o papel do farmacêutico. Verifica-se também que numa mesma receita podem figurar vários tipos de medicamentos ou dispositivos médicos, isto é, não existe necessidade de separar, por exemplo, produtos destinados à medição da glicémia capilar (tiras-teste, agulhas ou lancetas), de medicamentos ou outro tipo de dispositivos.

### **7.1.3. Dispensa de medicamentos a partir de receita materializada**

As receitas médicas materializadas constituem o terceiro e último grupo de receitas autorizadas para dispensa de MSRM.[5] Este tipo de receita, embora possa parecer semelhante às receitas eletrónicas pelo facto de ser impressa e escrita por via informatizada, distingue-se das mesmas pelo facto de não possuir código de acesso nem de direito de opção. Uma outra característica é o facto de, no cabeçalho, ser obrigatória a indicação do tipo de receita, conforme a lista seguinte:

- RN - prescrição de medicamentos;
- RE - prescrição de psicotrópicos e estupefacientes sujeitos a controlo;
- MM - prescrição de medicamentos manipulados;
- MA - prescrição de medicamentos alergénios destinados a doente específico;
- EU - prescrição de medicamentos para aquisição em outro Estado-membro;
- MDT - prescrição de produtos dietéticos;
- MDB - prescrição de produtos para autocontrolo da diabetes *mellitus*;
- CE - prescrição de câmaras expansoras;
- OST - prescrição de produtos para ostomia/incontinência/retenção urinária;
- PA - prescrição de produtos de apoio;
- OUT - prescrição de outros produtos - ex: cosméticos, suplementos alimentares.[5]

Verifica-se também que este tipo de receita pode ser renovável, no entanto, para que este fator se verifique, é necessário que um dos medicamentos seja destinado a tratamento de longa duração. Desta forma, podem então existir até 3 vias, cada uma delas com um número de receita individual e diferente.[5]

### **7.1.4. Dispensa de medicamentos que contêm substâncias estupefacientes e psicotrópicos**

Tal como referido anteriormente, os medicamentos que contêm substâncias psicotrópicas ou estupefacientes encontram-se envolvidos em várias especificidades, quer na sua aquisição por parte da farmácia, quer no momento de dispensa ao utente.

Todos os medicamentos que contenham qualquer substância presente nas tabelas I e II do Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro e no n.º 1 do artigo 86º do Decreto-Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro, são alvo de um registo mais criterioso no momento da sua dispensa.[13, 14] Tendo em conta que todos estes medicamentos são considerados como MSRM, é necessário que o utente possua uma receita médica que, em caso de materializada ou manual, apenas pode conter esse mesmo medicamento, cumprindo as restantes regras já descritas, ou, no caso de desmaterializada, pode conter outro tipo de medicamentos e produtos de saúde. De notar também que, no caso de se tratar de uma prescrição materializada ou manual, o utente terá que assinar no verso da receita.

Posteriormente, é necessário ainda que o utente, independentemente de ser o doente ou uma outra pessoa, apresente um documento de identificação válido (Cartão de Cidadão, Carta de Condução ou Bilhete de Identidade), para que possam ser registados os dados pessoais necessários:

- Nome;
- Data de nascimento;
- Número do documento de identificação.
- Para que todos os registos fiquem completos, são ainda necessários:
  - Número de identificação da prescrição;
  - Nome da farmácia e número de conferência de faturas;
  - Número de registo do medicamento e quantidade fornecida;
  - Data da dispensa.[5]

#### **7.1.5. Dispensa de medicamentos genéricos**

A prescrição de medicamentos deve ser realizada, preferencialmente e sempre que não se aplique nenhuma das exceções previamente enunciadas, pela DCI.

Sempre que se verifique esta situação, o farmacêutico deve questionar o utente quanto à opção de adquirir o medicamento de marca ou algum dos medicamentos genéricos que possam existir. Caso o utente opte por um medicamento genérico, deve ser informado acerca de qual o mais barato que exista na farmácia, de entre os 3 medicamentos do grupo homogéneo correspondente que têm que obrigatoriamente existir no stock da farmácia. No entanto, e no caso de não existir grupo homogéneo para o referido medicamento, o utente deve ser informado acerca dos medicamentos que a farmácia possua e qual o de menor preço.

Em qualquer uma das situações a farmácia têm que obrigatoriamente respeitar a vontade do utente.[5]

## **8. Automedicação**

A automedicação pode ser definida como a utilização de medicamentos não sujeitos a receita médica de forma responsável, sempre que se destine ao alívio e tratamento de queixas de saúde passageiras e sem gravidade, com a assistência e aconselhamento opcional por parte de um profissional de saúde.[15]

Esta prática é cada vez mais frequente no presente uma vez que as pessoas possuem cada vez mais acesso à informação e os locais de venda de MNSRM existem cada vez em maior número.

Em anexo encontra-se a lista das situações passíveis de automedicação. **(Anexo I)**

### **8.1. Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica**

Tal como referido anteriormente, os MNSRM são assim classificados por não cumprirem nenhuma das condições que justifiquem a necessidade de presença de receita médica.

Este tipo de medicamentos é frequentemente solicitado pelos utentes na farmácia de oficina, no entanto, é de extrema importância que o farmacêutico perceba e questione acerca da utilização dos mesmos, possibilitando assim avaliar a situação quanto à carência de terapêutica farmacológica ou não farmacológica ou se há necessidade de avaliação médica.

Uma vez que o estágio realizado decorreu no período compreendido entre os meses de março e maio, verificou-se uma elevada solicitação de medicamentos para controlo dos sintomas associados à rinite alérgica, bem como reações a nível cutâneo e onicomicoses.

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

Sendo a farmácia de oficina um espaço de excelência na prestação de cuidados de saúde, verifica-se a existência de outro tipo de produtos para além dos medicamentos. Assim, e de acordo com o Decreto-Lei n.º307/2007, de 31 de agosto, com as alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 171/2012 de 1 de agosto no artigo 33º, as farmácias podem dispensar:

- Medicamentos;
- Substâncias medicamentosas;
- Medicamentos e produtos veterinários;
- Medicamentos e produtos homeopáticos;
- Produtos naturais;
- Dispositivos médicos;

- Suplementos alimentares e produtos de alimentação especial;
- Produtos fitofarmacêuticos;
- Produtos cosméticos e de higiene corporal;
- Artigos de puericultura;
- Produtos de conforto.[2,3]

## 9.1. Medicamentos e produtos veterinários

O Decreto-Lei n.º 148/2008, de 29 de julho define medicamento veterinário (MV) como *“toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”*. Paralelamente, o Decreto-Lei n.º 237/2009, de 15 de setembro, define produto de uso veterinário (PUV), como *“substância ou mistura de substâncias, sem indicações terapêuticas ou profiláticas, destinada:*

- *Aos animais, para promoção do bem-estar e estado higio-sanitário, coadjuvando ações de tratamento, de profilaxia ou de manejo zootécnico, designadamente o da reprodução;*
- *Ao diagnóstico médico-veterinário;*
- *Ao ambiente que rodeia os animais, designadamente às suas instalações.”* [16,17]

À semelhança do que acontece com os medicamentos de uso humano, e de acordo com o artigo 72º do Decreto-Lei n.º 148/2008, os MV podem ser classificados quanto à sua dispensa em:

- Medicamentos não sujeitos a receita médico-veterinária;
- Medicamentos sujeitos a receita médico-veterinária;
- Medicamentos de uso exclusivo por médicos veterinários.[16]

A Farmácia Ferrer dispõe de forma permanente um pequeno espaço designado por “Espaço Animal”, no qual existem produtos de uso veterinário e medicamentos. Dada a altura do ano e a sazonalidade associada a alguns produtos, durante o estágio os produtos com que mais contactei foram os desparasitantes externos, nomeadamente na forma de pipeta e coleira. Relativamente aos medicamentos sujeitos a receita médico-veterinária, os mesmos encontram-se armazenados e fora do alcance do público.

Existe ainda na Farmácia Ferrer a possibilidade de contactar com uma equipa de Médicos-Veterinários de forma permanente. Assim, em caso de existir solicitação do aconselhamento do farmacêutico em relação a um problema com o animal de estimação por parte de um utente, os profissionais podem entrar em contacto e expor a situação, permitindo obter

esclarecimentos adicionais e garantindo que o utente esclarece as suas questões de forma mais correta. Em virtude da existência deste serviço pude entrar em contacto com a equipa supracitada por diversas vezes, sendo que numa das situações o aconselhamento levou à implementação de uma terapêutica anti-inflamatória mais adequada e num segundo caso a informação disponibilizada motivou a consulta do Médico-Veterinário.

## **9.2. Produtos naturais, fitoterapia e suplementos alimentares**

Os suplementos alimentares são considerados géneros alimentícios, sendo destinados a complementar a alimentação normal e não são regulamentados pelo INFARMED, IP, sendo a entidade a quem cabe essa tarefa a DGAV - Direção-Geral de Alimentação e Veterinária.[18,19]

O Decreto-Lei n.º 136/2003, de 28 de junho, com as alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 118/2015, de 23 de junho, define suplementos alimentares como “*géneros alimentícios que se destinam a complementar ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas de forma doseada tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades de medidas de quantidade reduzida*”. [18,19]

Existe no mercado um elevado número de substâncias classificadas como suplemento alimentar, no entanto, é importante que o farmacêutico saiba quando aconselhar este tipo de substâncias e esteja alerta para a possível ocorrência de interações entre os si e entre os suplementos e medicamentos que os utentes possam tomar.

Na Farmácia Ferrer existem vários produtos pertencentes a esta classe, sendo que podem ser formados dois grupos principais: as substâncias à base de plantas e os complexos multivitamínicos e com minerais. Relativamente aos primeiros, participei na dispensa e aconselhamento de alguns, nomeadamente após solicitação por parte dos utentes de algum tipo de produto que pudesse auxiliar na redução do colesterol ou ajudar na indução do sono. No que concerne ao segundo grupo, pude aconselhar e dispensar este tipo de produtos após queixas por parte dos utentes de falta de concentração, fadiga física e mental e problemas a nível capilar (enfraquecimento ou queda excessiva).

## **9.3. Produtos dietéticos e de alimentação especial**

Em Portugal, o Decreto-Lei n.º 216/2008, de 11 de novembro, transpõe a Diretiva n.º 1999/21/CE, da Comissão Europeia, definindo alimentos dietéticos destinados a fins medicinais como “*géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial, sujeitos a processamento ou formulação especial, com vista a satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes e para*

*consumo sob supervisão médica, destinando-se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade limitada, diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar géneros alimentícios correntes ou alguns dos nutrientes neles contidos ou seus metabólicos, ou cujo estado de saúde determina necessidades nutricionais particulares que não géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial ou por uma combinação de ambos”.* [20]

Este tipo de produtos é então aconselhado sempre que uma alimentação dita normal não possa ser realizada, não só por questões de saúde do utente, ou por motivos que impossibilitem a correta ingestão de alimentos, mas também sempre que haja necessidade de realização de exames médicos que obriguem a uma redução na quantidade de alimentos ingeridos e até mesmo um período de jejum prolongado. Como exemplo de algumas das situações em que podem ser sugeridos produtos dietéticos:

- Alimentação prévia à realização de uma colonoscopia;
- Utentes com problemas de disfagia;
- Utentes que apresentam perda de peso e de massa muscular, garantindo um correto aporte de proteínas e calorias;
- Utentes que possuem feridas crónicas.

#### **9.4. Dispositivos médicos**

Entende-se como dispositivo médico “*qualquer instrumento, aparelho, equipamento, software, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o software destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico ou terapêuticos e que seja necessário para o bom funcionamento do dispositivo médico, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios, destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para fins de:*

- Diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença;*
- Diagnóstico, controlo, tratamento, atenuação ou compensação de uma lesão ou de uma deficiência;*
- Estudo, substituição ou alteração de anatomia ou de um processo fisiológico;*
- Controlo da concepção.”* [21]

O número 1 do artigo 4º, do Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho define também que os dispositivos podem ser divididos em 4 classes distintas: I, IIa, IIb e III, de acordo com os riscos que podem advir da utilização dos mesmos para o corpo humano.[21]

Os dispositivos médicos de classe I são assim classificados por serem de baixo risco. A este grupo pertencem a maior parte dos dispositivos não invasivos. Dentro desta categoria incluem-se:

- Dispositivos para recolha de fluidos corporais - exemplo: sacos de ostomia, fraldas e pensos para incontinência;
- Dispositivos para imobilização de alguma parte do corpo ou para compressão - exemplo: meias de compressão, dispositivos elásticos;
- Dispositivos para suporte e apoio do paciente - exemplo: canadianas, muletas, andarilhos e cadeiras de rodas;
- Dispositivos para armazenamento ou transporte de fluidos de forma temporária - exemplo: seringas sem agulha;
- Dispositivos invasivos de orifícios naturais do organismo, de forma temporária - exemplo: irrigadores e luvas de exame;
- Dispositivos de utilização na cavidade oral ou nasal e no canal auditivo - exemplo: material de penso e soluções de lavagem ou irrigação;
- Dispositivos que contactam com pele lesada mas possuem apenas ação de barreira mecânica, compressão ou absorção de exsudados - exemplo: algodão, e ligaduras.[21, 22]

Os dispositivos dos grupos II e III são, na sua maioria, de carácter invasivo. Os dispositivos da classe II são considerados de risco médio, sendo divididos em dois grupos, *a* e *b*. De entre os dispositivos de classe IIa podem enunciar-se:

- Dispositivos destinados ao controlo do ambiente de uma ferida - exemplo: compressas de gaze, material de penso com filmes poliméricos, adesivos oclusivos de uso tópico;
- Dispositivos invasivos de orifícios do corpo, de utilização de curta duração - exemplo: cateteres urinários;
- Dispositivos ativos que permitem medir alguns parâmetros - exemplo: termómetros e medidores de tensão;
- Dispositivos invasivos de carácter cirúrgico e de utilização de curta duração - exemplo: agulhas, lancetas e luvas cirúrgicas;
- Dispositivos de desinfeção de outros dispositivos médicos.[21, 22]

Por outro lado, e dentro da classe dos dispositivos médicos IIb, isto é, de risco médio-elevado, podem exemplificar-se:

- Dispositivos destinados a utilizar em feridas com fissuras extensas e em que é necessária cicatrização por segunda intenção - exemplo: material de penso para feridas com úlceras extensas e crónicas, para queimaduras graves com comprometimento da derme e para escaras;
- Dispositivos de administração de medicamentos - exemplo: canetas de insulina;
- Dispositivos de contraceção e prevenção de transmissão de infeções sexualmente transmissíveis - exemplo: preservativo masculino, diafragma;

- Dispositivos para desinfecção, limpeza, lavagem ou hidratação de lentes de contacto - exemplo: soluções de conforto.[21, 22]

Por último, os dispositivos de classe III são considerados os de risco elevado para o corpo humano. A esta classe de dispositivos médicos pertencem:

- Dispositivos que incorporem uma substância medicamentosa, de utilização única e nos quais a ação da substância complementa a do dispositivo - exemplo: preservativos com espermicida, pensos com medicamentos;
- Dispositivos de contraceção implantáveis/invasivos e de utilização de longa duração - exemplo: dispositivo intra-uterino sem substâncias associadas.[21,22]

Sem que se enquadrem na classificação anterior, existem ainda alguns dispositivos médicos, frequentemente solicitados pelos utentes na farmácia comunitária, destinados a diagnóstico *in vitro*. Deste grupo fazem parte não só os testes de gravidez e tiras-teste de determinação de glicémia e respetivo equipamento eletrónico, como também todos os recipientes de colheita de amostras, nomeadamente os frascos destinados à recolha de urina ou de expetoração.[21, 22]

## 9.5. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Pode entender-se como produto cosmético “qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente a epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais”. [23, 24] Este tipo de produtos engloba então todo o tipo de preparações de aplicação tópica (cremes, pomadas, loções, linimentos, etc), produtos de higiene diária, nomeadamente *shampoos*, géis e cremes lavantes, produtos destinados à higiene da cavidade oral, como pastas dentífricas e colutórios e, por último, produtos de beleza e maquilhagem.

Existem neste grupo de produtos extensamente abrangente alguns fatores que afetam a procura por parte dos utentes. Se por um lado com o tempo mais frio a procura incide em artigos para hidratação, nomeadamente a nível labial e do cuidado das mãos, por outro, com a chegada do tempo mais quente e intensificação das radiações solares a procura incide principalmente nos cuidados solares. Contudo, existem também produtos que não sofrem uma variação tão marcada, como, por exemplo, os géis para higiene diária destinados a peles mais sensíveis e atópicas, os produtos de fixação de próteses dentárias e as pastas dentífricas. Dado o período em que decorreu o estágio, foi possível participar na dispensa de produtos para qualquer uma das situações acima mencionadas.

A Farmácia Ferrer trabalha principalmente com 7 marcas de produtos de cosmética: Uriage®, La Roche Posay®, Babe Laboratoires®, ISDIN®, Vichy®, Eau Thermale Avène® e Caudalie®. No decorrer do estágio, e com o intuito de aumentar o conhecimento acerca deste tipo de produtos, facilitando assim o aconselhamento dos mesmos, tive oportunidade de frequentar uma ação de formação proporcionada pela marca Uriage®. (Anexo II)

## 10. Cuidados de saúde prestados na farmácia

Numa sociedade em que cada vez mais as farmácias são o primeiro contacto com utente com os profissionais de saúde, o farmacêutico tem cada vez mais a oportunidade de demonstrar o seu valor e contribuir para a melhoria da saúde e do bem-estar da população. O artigo 36º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, com as alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto consagra que “*as farmácias podem prestar serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes*”. [2, 3] Por sua vez, a Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro, com as alterações introduzidas pela Portaria n.º 97/2018, de 9 de abril, estipulam quais os serviços que podem ser prestados pelas farmácias, sendo estes:

- i. Apoio domiciliário;
- ii. Administração de primeiros socorros;
- iii. Administração de medicamentos;
- iv. Utilização de meios auxiliares de diagnóstico e terapêutica;
- v. Administração de vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação;
- vi. Programas de cuidados farmacêuticos;
- vii. Consultas de nutrição;
- viii. Programas de adesão à terapêutica, de reconciliação terapêutica e de preparação individualizada de medicamentos, assim como programas de educação sobre a utilização de dispositivos médicos;
- ix. Realização de testes rápidos para o rastreio de infeções por Vírus da Imunodeficiência Humana, Vírus da Hepatite C, e Vírus da Hepatite HB, incluindo o aconselhamento pré- e pós-teste e a orientação para as instituições hospitalares dos casos reativos, de acordo com as redes de referência hospitalar aprovadas e os procedimentos estabelecidos pelas entidades do Ministério da Saúde com competência na matéria;
- x. Serviços simples de enfermagem, nomeadamente tratamento de feridas e cuidados a doentes ostomizados;
- xi. Cuidados de nível I na prevenção e tratamento do pé-diabético, de acordo com orientações estabelecidas pela DGS. [25, 26]

Desta forma, cada farmácia tem autonomia para decidir quais os serviços que presta à comunidade, sendo que, na Farmácia Ferrer, os serviços prestados são:

- Determinação de parâmetros bioquímicos - glicémia capilar, colesterol total, triglicéridos;
- Medição do valor da pressão arterial;
- Testes de detecção de infeções - da orofaringe e do trato urinário;
- Administração de injetáveis;
- Preparação Individualizada da Medicação;
- Programa de Troca de Seringas;
- Entrega da medicação ao domicílio
- Podologia;
- Audiologia;
- Nutrição clínica e Nutrição desportiva;
- Fisioterapia.

Durante o decorrer do estágio pude ainda participar em sessões de esclarecimento acerca da implementação, no futuro, de um novo serviço de baropodometria.

### **10.1. Determinação de parâmetros bioquímicos**

A determinação dos parâmetros bioquímicos é realizada através de dispositivos médicos e tiras-teste nas quais ocorrem reações eletroquímicas que permitem a deteção do valor desejado.

Existem algumas precauções a ter na realização destes testes, nomeadamente:

- i. Escolha de um dedo com boa irrigação;
- ii. Realizar a correta desinfecção do dedo previamente à realização da punção;
- iii. Não realizar a punção sem que tenha ocorrido evaporação completa do álcool;
- iv. Preencher a totalidade da zona de teste com a amostra.

Importa também ter em atenção as condições de temperatura e humidade em que os testes são realizados, uma vez que o parâmetro desejado é detetado a partir de uma reação eletroquímica, na maior parte das vezes de oxidação, esta pode ser afetada pela humidade.

Antes de realizar os testes de determinação da glicémia e de triglicéridos o utente deve ser inquirido acerca do jejum, devendo, no caso do último teste, ser de no mínimo 8 a 12 horas.

Após a realização de qualquer um dos testes é importante que o farmacêutico saiba como identificar os valores de *cut-off*, de forma a guiar o aconselhamento posterior.

Durante o período de estágio tive oportunidade de acompanhar vários utentes e realizar os testes de determinação dos três parâmetros enunciados. Tive também oportunidade de auxiliar na calibração mensal realizada aos dispositivos.

## 10.2. Medição do valor de pressão arterial

A medição da pressão arterial constituiu um dos testes mais frequentemente solicitados pelos utentes durante o período de estágio. Antes da determinação é importante obter algumas informações, nomeadamente:

- i. Se o utente caminhou durante algum período de tempo ou realizou algum esforço físico;
- ii. Se fumou ou bebeu café nos últimos 30 minutos.

A resposta positiva a qualquer um dos pontos anteriores leva a uma atenção redobrada, devendo o utente descansar por algum tempo antes da realização da medição de forma a obter valores o mais corretos possível. Na Farmácia Ferrer a pressão arterial é medida com recurso a um esfigmomanómetro manual e um estetoscópio. Após o repouso adequado do utente, o mesmo deve colocar o braço onde se irá realizar a medição sobre a mesa, de forma a ficar à altura do coração. Para que no fim seja possível registar os valores, o farmacêutico deverá atender aos valores indicados quando ouve o primeiro batimento cardíaco (correspondendo à pressão arterial sistólica) e quando deixa de se ouvir batimento cardíaco (correspondendo este valor à pressão arterial diastólica).

Por último, e de acordo com os valores obtidos, o farmacêutico deve fornecer todas as informações necessárias, podendo então fornecer algum aconselhamento acerca de medidas não farmacológicas, reforçando, sempre que necessário, a importância do cumprimento dos regimes terapêuticos e de adoção de um estilo de vida saudável.

## 10.3. Testes de deteção de infeções da orofaringe e do trato urinário

Enquanto farmácia inovadora e que prima pelos serviços de qualidade prestados à comunidade, a Farmácia Ferrer disponibiliza aos seus utentes a possibilidade de realizar dois testes de deteção de infeções.

O teste de deteção de infeção da orofaringe NADAL® strep A test, constitui um método imunocromatográfico que permite detetar de forma qualitativa e rápida a presença do antigénio do *Streptococcus* do grupo A numa amostra de esfregaço da orofaringe, recolhida com recurso a uma zaragatoa.[27]

O teste de deteção de infeção urinária, por sua vez, COMBUR5 Test® HC, permite a determinação de forma qualitativa de cinco parâmetros: glucose, leucócitos, nitritos, proteínas e sangue, numa amostra de urina.[28]

A realização de qualquer um dos testes ocorre em ambiente de gabinete de forma a garantir a máxima privacidade do utente. No caso de existência de um resultado positivo, é então

fornecido ao utente um cartão com identificação e com o resultado do teste, sendo então sugerido o acompanhamento médico.

#### **10.4. Administração de injetáveis**

A administração de injetáveis em farmácia comunitária compreende não só a administração de preparações injetáveis subcutâneas, mas também de vacinas que não pertençam ao Plano Nacional de Vacinação. Esta atividade encontra-se regulamentada por duas deliberações: Deliberação n.º 139/CD/2010, de 21 de outubro e Deliberação n.º 145/CD/2010, de 4 de novembro.[29, 30]

Estes dois documentos obrigam a que:

- i. A administração de injetáveis só possa ser realizada por farmacêuticos devidamente habilitados com a formação adequada e reconhecida pela Ordem dos Farmacêuticos, ou por enfermeiros contratados exclusivamente para esse mesmo efeito;
- ii. A farmácia disponha de condições adequadas, nomeadamente um gabinete onde exista todo o material necessário:
  - Marquesa ou cadeira reclinável;
  - Armário para arrumação do material a utilizar no procedimento;
  - Superfície de trabalho para preparação do injetável;
  - Contentores para resíduos, nomeadamente para recolha de material cortoperfurante e para recolha do material contaminado;
  - Contentor para resíduos com tampa e pedal;
  - Desinfetante de mãos, desinfetante de superfície, álcool a 70°, compressas, luvas e pensos rápidos.[29, 30]

De forma a garantir o suporte básico de vida, a farmácia deve também possuir os equipamentos e meios necessários para tratamento urgente de uma reação anafilática que possa surgir após a administração do injetável, nomeadamente:

- i. Adrenalina 1:1000 (1 mg/mL);
- ii. Oxigénio com debitómetro a 15 L/min;
- iii. Ressuscitadores auto-insufláveis com reservatório de vários tamanhos e com as respetivas máscaras faciais;
- iv. Mini-nebulizador com máscara e tubo;
- v. Soro fisiológico (para administração intravenosa);
- vi. Salbutamol (solução para inalação);
- vii. Hidrocortisona e prednisolona (para administração injetável);
- viii. Esfigmomanómetro;
- ix. Estetoscópio.[29, 30]

Devem ainda existir na farmácia registos de todas as administrações de injetáveis realizadas, devendo os dados recolhidos conter:

- Nome e data de nascimento do utente;
- Nome da vacina e lote;
- Via de administração;
- Identificação do profissional que realizou a administração.[29]

### **10.5. Entrega ao domicílio**

De acordo com o número 1, do artigo 9º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, “*a dispensa e entrega de medicamentos ao público só pode ser efetuada por pessoal da farmácia, [...] nas instalações desta ou no domicílio do utente*”. A Portaria n.º 1427/2007, de 2 de novembro é o documento que regula as condições e os requisitos da dispensa de medicamentos ao domicílio.[2, 31]

A Farmácia Ferrer disponibiliza este serviço aos seus utentes, garantindo assim que toda a população tem acesso à medicação de que necessita e com maior comodidade. Para que um utente receba no seu domicílio a medicação que deseja deverá então entrar em contacto com a farmácia a partir de qualquer um dos seus contactos, sendo depois acrescida uma taxa ao preço final dos produtos que pretenda adquirir. No caso de o medicamento desejado ser classificado como MSRM, o utente encontra-se obrigado à apresentação deste documento para que o medicamento lhe possa ser dispensado.[31]

De notar que sempre que é realizada uma entrega ao domicílio, o profissional de saúde que realiza a mesma deve prestar toda a informação necessária para a adequada utilização do medicamento.

### **10.6. Programa de Troca de Seringas**

O programa de troca de seringas consiste na troca de seringas de forma gratuita, tendo assim como objetivo principal a redução da transmissão endovenosa e sexual de infeções transmissíveis entre utilizadores de drogas injetáveis.[32]

Para que o programa funcione corretamente, por cada 2 seringas depositadas no contentor por parte do utilizador de drogas injetáveis, deve ser entregue 1 kit que contém:

- 2 seringas com agulha;
- 2 toalhetes desinfetantes;
- 2 filtros;
- 2 recipientes;
- 2 carteiras de ácido cítrico;

- 2 ampolas de água bidestilada;
- 1 preservativo.

No caso de o utilizador não ter seringas para trocar, não deve ser negada a cedência do kit, contudo, deve ser reforçado o princípio que rege o programa, a “troca por troca”.

Este serviço não está sujeito a nenhum pagamento por parte da farmácia para a aquisição de kits ao distribuidor, nem por parte do utilizador à farmácia. Este facto acontece uma vez que o PVP do kit é participado a 100% pelo SICAD - Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e nas Dependências.[32, 33]

### **10.7. Preparação individualizada da medicação**

O serviço de Preparação Individualizada da Medicação (PIM) *“consiste na utilização de caixas dispensadoras (ou alvéolos em fitas ou discos de alvéolos) que permitem ao farmacêutico fazer a organização da medicação do utente com o intuito de auxiliar o utente a gerir melhor a sua medicação”*. [34]

Através deste tipo de dispositivos o farmacêutico contribui para a melhor adesão à terapêutica, diminuindo os recursos desperdiçados devido à toma incorreta dos medicamentos. Na Farmácia Ferrer existe um procedimento interno elaborado com base na Norma Geral de Preparação Individualizada da Medicação publicada pela Ordem dos Farmacêuticos.

Este serviço tem como utentes alvo, principalmente:

- Utentes com dificuldades na toma de medicamentos;
- Utentes identificados pelo farmacêutico devido às suas características - exemplo: pessoas com limitações físicas, dificuldades cognitivas ligeiras, utentes que apresentem não adesão à terapêutica de forma não intencional ou com pouca autonomia;
- Utentes com regimes terapêuticos complexos;
- Utentes cuja terapêutica está a cargo de um cuidador que tenha dificuldades na gestão da medicação;
- Utentes polimedicados de forma crónica.[34]

A preparação da medicação de forma individualizada possui algumas limitações inerentes da forma farmacêutica dos medicamentos, uma vez que apenas podem ser reacondicionadas formas unitárias sólidas orais. Importa também verificar se os medicamentos mantêm as suas condições de estabilidade quando retirados do blister, sendo que se algum dos pressupostos não se verificar, então o medicamento não pode ser colocado no dispositivo.

Desta forma, estão automaticamente excluídas de introdução no dispositivo onde a medicação é preparada todos os medicamentos que sejam higroscópicos (formas dispersíveis,

orodispersíveis, efervescentes, bucais ou sublinguais, liofilizados orais e pastilhas), bem como medicamentos que sejam sensíveis à luz ou requeiram condições de conservação especiais (exemplo: refrigeração).[34]

Antes da preparação da medicação são completados todos os documentos inerentes ao utente e dispositivo, sendo que por cada preparação realizada (de carácter mensal, na maioria dos casos), cada dispositivo possui um número de lote, identificação do utente, de todos os medicamentos que integram os alvéolos e da farmácia para que possa ser mais fácil o contacto em caso de necessidade.

No final da preparação da medicação, todos os dispositivos são verificados por um segundo farmacêutico, de forma a garantir que não existem medicamentos nos locais errados e que toda a medicação se encontra de acordo com o esquema terapêutico do doente.

## 11. Preparação de Medicamentos

Os medicamentos manipulados podem ser definidos como *“qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”*. Por sua vez, pode entender-se por fórmula magistral *“o medicamento preparado em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares segundo receita que especifica o doente a quem o medicamento se destina”* e, por preparado oficial, *“qualquer medicamento preparado segundo as indicações compendiais, de uma farmacopeia ou de um formulário, em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares, destinado a ser dispensado diretamente aos doentes assistidos por essa farmácia ou serviço”*. [35]

Como anteriormente referido, é no laboratório da Farmácia Ferrer que se localiza todo o material destinado à preparação de medicamentos manipulados, bem como todas as matérias-primas utilizadas. Como forma de auxílio à preparação deste tipo de medicamentos, a Farmácia Ferrer dispõe nas suas instalações da Farmacopeia Portuguesa IX, bem como do Formulário Galénico Português, existindo ainda outros dossiers com material de apoio que considero de extrema importância e dos quais destaco:

- Dossiers com as fichas de informação de todas matérias-primas, às quais é anexada a ficha de receção das mesmas e onde também registada a quantidade utilizada para cada preparação realizada;
- Dossier com informações pedidas ao LEF - Laboratório de Estudos Farmacêuticos, entidade integrante da ANF.

## **11.1. Material de laboratório**

O material de laboratório de existência obrigatória no laboratório da farmácia encontra-se estabelecida em anexo na Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de dezembro, sendo o constante na seguinte listagem:

- Alcoómetro;
- Almofarizes de vidro e de porcelana;
- Balança de precisão sensível ao miligrama;
- Banho de água termostaticado;
- Cápsulas de porcelana;
- Copos de várias capacidades;
- Espátulas metálicas e não metálicas;
- Funis de vidro;
- Matrases de várias capacidades;
- Papel de filtro;
- Papel indicador pH universal;
- Pedra para preparação de pomadas;
- Pipetas graduadas de várias capacidades;
- Provetas graduadas de várias capacidades;
- Tamises FpVII, com abertura de malha 180 µm e 355 µm (com fundo e tampa);
- Termómetro (escala mínima até 100 °C)
- Vidros de relógio.[36]

## **11.2. Copiador de receituário**

O copiador de receituário constitui um livro no qual são registadas, tal como o nome indica, todas as preparações realizadas. Uma vez que a preparação de medicamentos manipulados deve ser realizada exclusivamente com a presença de uma prescrição médica, neste manual são registadas as seguintes informações:

- Lote do medicamento manipulado;
- Nome do medicamento manipulado e respetiva composição;
- Preço do medicamento manipulado;
- Nome e contacto do utente;
- Nome do médico prescriptor.

## **11.3. Preparação de medicamentos manipulados**

A preparação do medicamento manipulado deve ser precedida por vários passos, sendo que todo o processo tem início com a receção, na farmácia, de uma receita médica na qual consta um medicamento manipulado.

Tendo em conta os números 1 e 2, do artigo 6º, do Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril, na preparação de um medicamento manipulado apenas podem ser utilizadas substâncias que estejam inscritas na Farmacopeia Portuguesa, em farmacopeias de outros estados que tenham participado na elaboração da Farmacopeia Europeia, na Farmacopeia Europeia ou em documentação científica compendial, sendo necessária, obrigatoriamente, autorização de utilização dessa substância. Paralelamente, existe também uma listagem, que deve ser então consultada, nas quais figuram “*o conjunto de substâncias cuja utilização na preparação e prescrição de medicamentos manipulados não é permitida*”. [37]

Após realizada esta verificação, o farmacêutico deve então prosseguir para a avaliação de todas as fontes de informação disponíveis, nomeadamente FGP, podendo assim aceder a toda a informação relevante e à ficha de preparação do medicamento que deve ser corretamente preenchida.

No fim da preparação do medicamento, todo o material deve ser limpo de forma a que seja possível a sua utilização em preparações futuras.

Durante o período de estágio tive oportunidade de participar na recolha de informação e no preenchimento da ficha de preparação e pude auxiliar na preparação de alguns medicamentos sob supervisão farmacêutica. Os medicamentos manipulados nos quais participei foram:

- Suspensão oral de trimetoprim a 1% (m/V);
- Pomada de mentol 2% (m/m) e betametasona 0,03% (m/m);
- Pomada de enxofre a 6,67% (m/Vm);
- Papéis medicamentosos de fosfato de sódio di-básico;
- Papéis medicamentosos de biotina;
- Papéis medicamentosos de nitrofurantoína;
- Solução alcoólica de ácido bórico à saturação.

#### **11.4. Cálculo do preço dos medicamentos manipulados e participações associadas**

A Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho é o documento legislativo que estabelece o cálculo do preço de venda de medicamentos manipulados.

O cálculo do preço tem em conta não só o valor das matérias-primas utilizadas na preparação do medicamento e dos materiais de embalagem, mas também o valor dos honorários da preparação. [38]

De uma forma genérica, para a elaboração do cálculo do preço dos manipulados pode ter-se em conta a seguinte equação:

$$(A + B + C) \times 1,3 + IVA \text{ (à taxa em vigor)}$$

Sendo:

A - Valor dos honorários, com base no Fator F (5,03€ no ano de 2019);

B - Valor das matérias-primas;

C - Valor do material de embalagem.

Para o valor dos honorários contribui não só o Fator F, definido de forma anual pelo Instituto Nacional de Estatística (INE), mas também a quantidade de medicamento preparada, de acordo com as tabelas em Anexo na portaria anteriormente referida.[38]

O Decreto-Lei n.º 97/2015, de 1 de junho, no número 5 do artigo 22º, define que os medicamentos manipulados sujeitos a comparticipação são os constantes em lista a aprovar de forma anual, através de uma portaria do membro do Governo responsável pela área da saúde [39]

No momento, os medicamentos manipulados sujeitos a regime de comparticipação são os constantes em anexo no Despacho n.º 18694/2010, sendo que no número 7 do mesmo diploma consta que a comparticipação será de 30% do respetivo preço.[40]

## 12. Contabilidade e Gestão

### 12.1. Processamento de receituário e faturação ao SN

A Portaria n.º 223/2015, de 27 de julho, com as alterações introduzidas pela Portaria n.º 255/2016, de 27 de setembro é o diploma que regulamenta o procedimento de pagamento da comparticipação do estado no PVP de medicamentos dispensados a beneficiários do SNS.[41, 42]

Para que seja possível ao estado pagar as comparticipações à farmácia, a mesma deve enviar de forma mensal, até ao dia 10 do mês seguinte, e para o Centro de Conferência de Faturas (CCF), os seguintes documentos:

- Receitas médicas manuais ou materializadas e nas quais figuram os medicamentos alvo de comparticipação, com o impresso adequado no verso e respetiva assinatura do utente;
- Informação relativa às prescrições desmaterializadas (RSP);
- Fatura, em duplicado;
- Notas de débito/crédito, caso existam e em duplicado;
- Relação resumo de lotes;

- Verbetes de identificação dos lotes.[41, 43]

As receitas devem ser organizadas em lotes, sendo que cada lote possui um máximo de 30 receitas. No que concerne a receitas médicas eletrónicas, as mesmas não são enviadas uma vez que o envio é realizado de forma automática, sendo apenas enviados os restantes documentos. O CCF encontra-se, por sua vez, ao abrigo da Administração Central do Sistema de Saúde, IP (ACSS, IP).

## **12.2. Faturação a outras entidades participadoras**

À semelhança do SNS, existem algumas entidades privadas que participam a compra de medicamentos aos utentes que beneficiem do respetivo subsistema de saúde. O mesmo pode ser verificado no caso de companhias de seguro, existindo, para algumas, modelos de receitas específicos. Importa ressaltar que cada uma destas entidades tem procedimentos próprios.

Exemplo de algumas dessas entidades são:

- Sindicato dos Bancários do Sul e Ilhas - SBSI;
- Caixa Geral de Depósitos - CGD;
- Médis/Médis-CTT;
- Multicare;
- Sávida;
- Seguradoras Unidas;
- Liberty Seguros;
- Fidelidade Mundial.

O conhecimento, por parte do farmacêutico de qual a entidade que participa os produtos adquiridos pelo beneficiário constitui um passo fulcral no atendimento, uma vez que o mesmo deve selecionar, através do separador “Planos” qual a participação aplicável. Só desta forma é possível obter todos os documentos necessários para o envio no momento de faturação, garantindo assim que a farmácia será ressarcida do montante correspondente à participação.

## **13. Secção de Geriatria, Ortopedia e Lesões Desportivas**

A Farmácia Ferrer disponibiliza nas suas instalações uma área de considerável dimensão designada à dispensa e aconselhamento de produtos destinados à população geriátrica, para utilização aquando de lesões desportivas ou outro tipo de problemas ortopédicos.

Existem neste espaço vários produtos, nomeadamente: cadeiras de rodas, andarilhos, muletas/canadianas, cintas, almofadas anatomicamente adaptáveis, meias de compressão, colares cervicais, palminhas, separadores interdigitais, calçado ortopédico, produtos de tratamento de onicomicoses e bromidrose plantar e também calçado ortopédico e material de penso. Assim, existem neste espaço inúmeras marcas comerciais, que variam desde HARTMANN-Molicare®, HARTMANN-Tiritas®, HARTMANN-MoliMed®, URGO a Scholl e ARCOPÉDICO®, entre outras.

Sendo este tipo de produtos menos frequente num âmbito de farmácia comunitária, e de forma a assegurar que existe aconselhamento de excelência, uma das funcionárias da Farmácia Ferrer encontra-se encarregue pela gestão e pelo atendimento desta área, motivo pelo qual recebeu formação específica na mesma.

Com o evoluir do papel do farmacêutico, a existência desta área no espaço da farmácia comunitária demonstra ser uma mais valia, não só nos serviços prestados e disponibilizados à comunidade, mas também pela possibilidade de expansão das áreas de atuação do farmacêutico. O facto de serem disponibilizados produtos das gamas anteriormente citadas constitui um benefício para os utentes, que os podem adquirir com maior comodidade, e com a garantia do aconselhamento prestado pelos profissionais com formação adequada.

## **14. Atividades desenvolvidas na Farmácia**

### **Ferrer**

A Farmácia Ferrer caracteriza-se pelo dinamismo e envolvimento com a comunidade albicastrense, fatores ímpares e justificativos da relação que estabelece com os seus utentes.

Assim, durante o período de estágio decorreram várias atividades nas quais tive oportunidade de participar, não só através do auxílio prestado na organização das mesmas, mas também como participante.

Durante o período do estágio aqui retratado decorreram 2 workshops e um evento solidário: Workshop “Estratégias Nutricionais Pré-competição”, Workshop “Baropodometria e Ortóteses Plantares por Medida” e “6ª Caminhada Solidária Farmácia Ferrer”.

## 15. Bibliografia

1. Ordem dos Farmacêuticos. A Farmácia Comunitária.[Internet].[citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. Diário da República. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto. 2007. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A\\_DL\\_307\\_2007\\_6ALT.pdf](http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A_DL_307_2007_6ALT.pdf)
3. Diário da República. Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto. 2012. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A2\\_DL\\_171\\_2012.pdf](http://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A2_DL_171_2012.pdf)
4. Diário da República. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto. 2006. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/540387>
5. INFARMED. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde.[Internet]. 2018 [citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas\\_Dispensa/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790](http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispensa/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790)
6. INFARMED. Lista de DCI identificadas pelo Infarmed como MNSRM-EF e respetivos protocolos de dispensa.[Internet].[citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: [http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes\\_transferencia\\_titular\\_aim/lista\\_dci](http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci)
7. Diário da República. Lei n.º 11/2012, de 8 de março. 2012. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/542271>
8. Diário da República. Decreto-Lei 20/2013, de 14 de fevereiro. 2013. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/258706>
9. Ordem dos Farmacêuticos. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. 1998 [citado 12 de junho de 2019], 1-9. Disponível em: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo\\_deontologico\\_da\\_of\\_4436676175988472c14020.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf)
10. Herdeiro MT, Ferreira M, Ribeiro-Vaz I, Junqueira-Polónia J, Costa-Pereira A. O Sistema Português de Farmacovigilância. Acta Médica Portuguesa. 2012 [citado 14 de abril de 2019]; 25(4):241-249. Disponível em: <https://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/download/67/55>

11. Diário da República. Despacho Normativo n.º 107/92, de 27 de junho. 1992. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/303082>
12. Diário da República. Portaria n.º 224/2015, de 27 de julho. 2015. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/69879391>
13. Diário da República. Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. 1993. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/585178>
14. Diário da República. Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro. 1994. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/619306>
15. Diário da República. Despacho n.º 17690/2007, de 23 de julho. 2007. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/1065790/011-D1\\_Desp\\_17690\\_2007.pdf](http://www.infarmed.pt/documents/15786/1065790/011-D1_Desp_17690_2007.pdf)
16. Diário da República. Decreto-Lei n.º 148/2008, de 29 de julho. 2008. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/454810>
17. Diário da República. Decreto-Lei n.º 237/2009, de 15 de setembro. 2009. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/489712>
18. Diário da República. Decreto-Lei n.º 136/2003, de 28 de junho. 2003. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/693251>
19. Diário da República. Decreto-Lei n.º 118/2015, de 23 de junho. 2015. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/67541745>
20. Diário da República. Decreto-Lei n.º 216/2008, de 11 de novembro. 2008. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/439403>
21. Diário da República. Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho. 2009. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/494558>
22. INFARMED. Dispositivos médicos na farmácia.[Internet].[citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: [http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos/aquisicao-e-utilizacao/dispositivos\\_medicos\\_farmacia](http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos/aquisicao-e-utilizacao/dispositivos_medicos_farmacia)
23. Diário da República. Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro. 2008. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/452215>
24. Diário da República. Decreto-Lei n.º 113/2010, de 21 de outubro. 2010. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/308098>

25. Diário da República. Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro. 2007. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/629418>
26. Diário da República. Portaria n.º 97/2018, de 9 de abril. 2018. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/115006162>
27. Nal-von minden. NADAL® Strep A teste 20 testes cassete.[Internet].[citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: <https://www.nal-vonminden.com/pt/nadalr-strep-a-teste-1x20-testes-cassete.html>
28. Roche. Tiras Combur 5 Test® HC.[Internet].[citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: <https://www.roche.pt/corporate/index.cfm/diagnosticos/poc/autocontrolo/combur-5-test-hc/>
29. INFARMED. Deliberação n.º 139/CD/2010, de 21 de outubro. 2010. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139\\_CD\\_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a](http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139_CD_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a)
30. INFARMED. Deliberação n.º 145/CD/2010, de 4 de novembro. 2010. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Delibera%C3%A7%C3%A3o\\_145\\_CD\\_2010.pdf/ead66219-e91f-49db-a12a-5f60e2399a56](http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Delibera%C3%A7%C3%A3o_145_CD_2010.pdf/ead66219-e91f-49db-a12a-5f60e2399a56)
31. Diário da República. Portaria n.º 1427/2007, de 2 de novembro. 2007. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/629431>
32. Diário da República. Portaria n.º 301-A/2016, de 30 de novembro. 2016. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/105283970>
33. ANF. Programa de troca de seringas nas farmácias (PTS): Fluxograma de intervenção na farmácia. 2017 [citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: [https://spms.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/12/2017.07.19\\_PTS\\_Fluxograma2017.pdf](https://spms.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/12/2017.07.19_PTS_Fluxograma2017.pdf)
34. Ordem dos Farmacêuticos. Norma Geral para Preparação Individualizada de Medicação.[Internet]. 9 de outubro de 2018 [citado 8 de maio de 2019]; Disponível em: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma\\_pim\\_vfinal\\_30\\_nge\\_00\\_010\\_02\\_1834827175bf58d479434f.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf)
35. Diário da República. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. 2004. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/261875>
36. Diário da República. Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de dezembro. 2004. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/3185393>

37. Diário da República. Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril. 2004. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/223251>
38. Diário da República. Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho. 2004. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/517633>
39. Diário da República. Decreto-Lei n.º 97/2015, de 1 de junho. 2015. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/67356991>
40. Diário da República. Despacho n.º 18694/2010, de 18 de novembro. 2010. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/1070327/067-A01\\_Desp\\_18694\\_2010doc.pdf](http://www.infarmed.pt/documents/15786/1070327/067-A01_Desp_18694_2010doc.pdf)
41. Diário da República. Portaria n.º 223/2015, de 27 de julho. 2015. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/69879390>
42. Diário da República. Portaria n.º 255/2016, de 27 de setembro. 2015. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/75415905>
43. Administração Central do Sistema de Saúde. Manual de Relacionamento das Farmácias com o Centro de Controlo e Monitorização do SNS. 2019 [citado 12 de junho de 2019]; Disponível em: [https://www.ccf.min-saude.pt/portal/page/portal/estrutura/documentacaoPublica/ACSS/Manual%20de%20Relacionamento%20de%20Farm%C3%A1cias%20v1.26%20\(em%20vigor\).pdf](https://www.ccf.min-saude.pt/portal/page/portal/estrutura/documentacaoPublica/ACSS/Manual%20de%20Relacionamento%20de%20Farm%C3%A1cias%20v1.26%20(em%20vigor).pdf)

# Capítulo III - *Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*: Avaliação do potencial antimicrobiano de extratos hidroetanólicos

## 1. Introdução

### 1.1. As plantas como fontes de compostos bioativos

A utilização das plantas para tratar problemas de saúde remonta há milhões de anos, existindo referências da utilização de algumas plantas pelos Neandertais. Posteriormente, também Hipócrates registou a utilização de algumas plantas.[1] Assim sendo, e dada esta utilização já longínqua dos produtos naturais para tratar os problemas de saúde, o Homem recorre às plantas não só através da sua utilização direta, mas também através da extração e isolamento de compostos com recurso a processos apropriados.[2] Exemplo de moléculas ainda hoje utilizadas e que foram extraídas de plantas são a atropina, a digoxina, a escopolamina, a morfina e a tubocurarina.[2,3]

As plantas constituem reservatórios quase infindáveis de compostos com atividade biológica comprovada, sendo a grande maioria metabólitos secundários.[3,4] Existem nas plantas vários metabólitos com atividade antimicrobiana comprovada, entre os quais: compostos fenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos, quinonas e taninos, entre outros), alcalóides, e terpenos.[3,5] Na maioria dos casos, este tipo de substâncias desempenha um papel importante na proteção das plantas contra microrganismos, insetos e herbívoros, podendo esta ação advir do odor, do paladar ou mesmo do aspeto que conferem.[3] A produção destes metabólitos pode ser desencadeada pelo ataque de um organismo prejudicial ou pode fazer parte das suas vias metabólicas habituais.[6] Assim sendo, os compostos com atividade antimicrobiana podem ser divididos em dois grupos, as fitoalexinas e as fitoantocipinas. As fitoalexinas são moléculas que requerem a síntese *de novo* de enzimas envolvidas nas suas vias metabólicas, sendo apenas produzidas após um fator desencadeante como, por exemplo, o ataque de um microrganismo patogénico. Por sua vez, as fitoantocipinas são compostos já presentes nas plantas e que derivam do normal funcionamento das suas vias metabólicas.[7]

Existem vários fatores que condicionam a atividade antimicrobiana dos extratos de plantas, nomeadamente a estrutura química e a concentração dos compostos e as interações estabelecidas com os possíveis alvos. Uma vantagem da utilização destes extratos é o facto de,

por possuírem um elevado número de compostos, poderem apresentar sinergismo dos mecanismos de ação, potenciando a sua atividade.[6]

### **1.1.1. Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são moléculas que possuem um ou mais anéis aromáticos, com um ou mais grupos hidroxilo e que derivam do metabolismo secundário das plantas, sendo conhecidas mais de 8000 estruturas. Habitualmente, estas substâncias estão envolvidas na defesa contra a radiação UV ou agressões a microrganismos e predadores, podendo ainda contribuir para a coloração existente nas plantas.[8] Dentro deste grupo podem considerar-se os subgrupos dos flavonóides e dos polifenóis não-flavonóides.[9]

Este grupo possui uma grande variabilidade a nível estrutural, fazendo com que a ação antimicrobiana deste tipo de moléculas dependa da sua configuração estrutural, considerando-se que a principal causa de inibição serão os grupos hidroxilo (-OH) presentes. Esta ação ocorre devido à interação entre os grupos -OH e as membranas dos microrganismos, levando à rutura das mesmas e conseqüente perda dos componentes celulares. Verifica-se também que, devido à elevada capacidade antioxidante, os compostos fenólicos podem restringir o crescimento microbiano. Esta restrição deve-se ao facto de sequestrarem os radicais livres e inibirem a formação de espécies reativas de oxigénio, reduzindo assim o potencial *redox* do meio. Um outro mecanismo descrito como justificativo da ação antimicrobiana dos compostos fenólicos é a interação estabelecida entre os grupos -OH e os locais ativos de enzimas, fator que leva à alteração do metabolismo celular.[5]

#### **1.1.1.1. Flavonóides**

Os flavonóides possuem uma estrutura básica derivada dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina, que contém 15 átomos de carbono, distribuídos por 3 anéis (C6-C3-C6), e que se dividem em vários subgrupos, entre os quais: flavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas, isoflavonas e antocianidinas.[8,9] Existem diversas atividades farmacológicas atribuídas aos flavonóides, entre as quais: antioxidante, antibacteriana, hepatoprotetora, anti-inflamatória e anti-hiperlipidémica.[9]

As flavonas apresentam-se maioritariamente na forma glicosídica, sendo as principais moléculas encontradas na alimentação a luteolina e a apigenina. Entre os alimentos que possuem estes compostos encontram-se o alperce, os feijões, a couve, as maçãs e as mangas. A ingestão de flavonas contribui, principalmente, para a redução do ganho de peso ao longo do tempo, existindo também referência a efeitos benéficos ao nível da diabetes, amnésia, doença de Alzheimer, alergias, depressão, insónias e cancro.[9-11] A ação antibacteriana das flavonas parece ser explicada através da formação de um complexo entre a flavona e a parede celular, inibindo a adesão posterior de outros compostos e, conseqüentemente, o crescimento microbiano.[12]

Os flavonóis encontram-se descritos como compostos presentes nas cebolas, maçãs, brócolos, bagas, chá e vinho tinto. De entre este grupo podem destacar-se duas moléculas, a quercetina e o campeferol. O primeiro composto encontra-se principalmente presente em maçãs e bagas, salientando-se as ações preventivas do cancro, da inflamação crónica e das doenças cardiovasculares.[9] Estudos realizados por Alvarez, et al.[13] demonstraram que a quercetina possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, tendo sido registados valores de concentração mínima inibitória (CMI) de 33,8 µg/mL e 77,4 µg/mL para as duas estirpes, respetivamente. A ação antimicrobiana foi então atribuída pelos autores à neutralização das cargas dos aminoácidos existentes nas porinas, possibilitando assim a entrada de outros compostos para o interior das células bacterianas.[12,13]

Os flavanóis, também conhecidos por flavan-3-óis, por sua vez, são o subgrupo em que se encontram inseridas as catequinas e epicatequinas, sendo estes os principais polifenóis existentes no chá, e estando associados à diminuição da incidência de doenças cardiovasculares e cancro. Para além do chá, as catequinas encontram-se também presentes nas maçãs, peras, cerejas, uvas, mirtilos ou frutos secos.[9,14]

As flavanonas encontram-se presentes em diferentes grupos alimentares, variando entre os vegetais, frutos e até mesmo especiarias, nomeadamente batatas, citrinos, morangos e rosmaninho. Neste subgrupo podem destacar-se a hesperetina e a naringenina. Este tipo de moléculas salienta-se principalmente pela redução do risco de diabetes e obesidade.[9] Estudos elaborados por Mun e colaboradores [15] demonstraram que uma flavanona prenilada, soforaflavanona B, demonstrou possuir atividade contra *Staphylococcus aureus*, quer resistente à metilicina quer suscetível, tendo sido obtidos valores de CMI de 15,6 µg/mL e 31,25 µg/mL, respetivamente.[15]

No subgrupo das isoflavonas denotam-se as propriedades do tipo estrogénicas, motivo pelo qual estes compostos são muitas vezes designados, ainda que de forma quimicamente errada, por fitoestrogénios. Estas moléculas encontram-se quase exclusivamente em leguminosas, no entanto, estudos demonstram a presença, ainda que em quantidades significativamente inferiores, de isoflavonas em alimentos como a maçã, o alperce e a beringela.[9,16]

As antocianidinas e antocianinas constituem um grupo de flavonóides hidrossolúveis, sendo principalmente responsáveis pela coloração apresentada por diversas frutas e flores, e que varia entre o vermelho/laranja ao azul/violeta. O contributo para a saúde destes compostos é denotado ao nível das doenças cardiovasculares, alterações cognitivas e cancro, existindo ainda estudos que demonstram existir benefícios para a progressão da diabetes *mellitus* tipo-2, devido aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios.[9]

### 1.1.1.2. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos constituem um dos subgrupos de compostos fenólicos não-flavonóides. Estas substâncias podem ser divididas em duas classes: os derivados do ácido benzóico e os derivados do ácido cinâmico.[8] De entre o primeiro grupo podem destacar-se os ácidos gálico, vanílico *p*-hidroxibenzóico. No segundo grupo, como derivados do ácido cinâmico, encontram-se os ácidos cafeico, ferrúlico e *p*-cumarínico.[9]

Relativamente à sua atividade biológica, os ácidos fenólicos destacam-se pelas ações hipocolesteromiantes, anti-oxidantes e anti-radicalares, existindo alguns fármacos comercializados derivados de ácidos fenólicos.[2]

Estudos recolhidos por *Lin, et al.*[17], reportam a ação antimicrobiana de diversos ácidos fenólicos extraídos de diversas partes da planta da quinoa, nomeadamente o ácido 4-hidroxibenzóico extraído a partir das folhas e sementes, o ácido gálico extraído de folhas, rebentos e sementes, e o ácido siríngico obtido a partir das folhas e sementes.[17]

### 1.1.1.3. Taninos

Os taninos constituem um dos principais grupos de polifenóis presentes na dieta. Encontram-se divididos em dois subgrupos: os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados.[8] Os taninos hidrolisáveis possuem um núcleo central de glicose ou de um poliol esterificado por um ácido fenólico. Se o poliol for esterificado por ácido gálico, então o tanino denomina-se galotanino, por outro lado, se a esterificação ocorrer pelo ácido hexa-hidrodifénico, o tanino denomina-se elagitanino.[2,8]

Por sua vez, os taninos condensados são oligómeros ou polímeros de flavanóis, ligados entre si por ligações interflavano. Estes compostos são também denominados de proantocianidinas uma vez que, através de reações de hidrólise em meio ácido e a quente, dão origem a antocianidinas.[2,8]

De entre a atividade biológica atribuída a este grupo de compostos figuram a ação antioxidante e anti-radicalar, bem como a capacidade de se complexarem com macromoléculas (por exemplo: enzimas e proteínas). Possuem também atividade antimicrobiana, sendo esta atribuída a 3 hipóteses: alteração no metabolismo microbiano devido à ação sobre as membranas celulares; inibição das enzimas do microrganismo ou complexação com os substratos dessas mesmas enzimas, inibindo a sua atividade; diminuição do número de iões essenciais ao metabolismo devido à complexação com os mesmos.[2]

### 1.1.1.4. Compostos quinónicos

As quinonas são um grupo de compostos amplamente distribuídos na natureza, encontrando-se descritas mais de 1200 estruturas.[18] Estas moléculas são formadas a partir da *p*-quinona, ou, em menor número, da *o*-quinona.[2]

Um exemplo de composto pertencente a esta classe é a ubiquinona, composto com elevada capacidade antioxidante e que atua como estabilizador das membranas, prevenindo assim os danos decorrentes do normal metabolismo celular. Outras ações biológicas atribuídas aos compostos quinônicos são: prevenção de doenças cardiovasculares, ação antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticancerígena.[18] A capacidade antibacteriana demonstrada pode dever-se ao facto de estas moléculas serem altamente reativas, podendo complexar com resíduos de aminoácidos e inativando as proteínas microbianas, levando assim à inibição do crescimento bacteriano.[19]

### 1.1.2. Óleos essenciais e terpenos

Os óleos essenciais podem ser obtidos a partir de diversos órgãos das plantas, sendo que possuem na sua composição diversas substâncias químicas, como terpenos, compostos alifáticos e aromáticos, aldeídos, álcoois, ésteres, compostos fenólicos, éteres e cetonas. De uma forma genérica, é comum a existência de 2 a 3 compostos majoritários, e em concentrações mais elevadas, sendo os restantes presentes em concentrações residuais. As principais moléculas existentes nos óleos essenciais são geralmente os terpenos, embora também possam estar presentes, em concentrações consideráveis, outros compostos alifáticos e aromáticos.[2,20]

Os terpenos podem ser divididos em diversos grupos, consoante o número de repetições da sua unidade estrutural básica, o isopreno, de composição  $C_5H_8$ : monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos, sendo os dois primeiros os principais constituintes dos óleos essenciais.[2]

A utilização deste tipo de compostos pode ser verificada na aromaterapia e no tratamento de doenças, como a doença de Alzheimer, diabetes *mellitus* e doenças cardiovasculares, podendo também distinguir-se a aplicação como agentes antimicrobianos.[20]

A extração de óleos essenciais pode ter como matriz diversas partes da planta, nomeadamente folhas, frutos, flores, caules, raízes e sementes. A utilização como agentes antimicrobianos deve-se à já demonstrada atividade como antissépticos, antibacterianos, antivirais, antioxidantes, anti-parasitários e anti-fúngicos. Dada a sua composição, os óleos essenciais são maioritariamente hidrofóbicos, característica que permite uma mais fácil partição através dos lípidos das membranas celulares, aumentando assim a permeabilidade e levando a distúrbios na integridade das estruturas no interior das células e, conseqüentemente, à inviabilidade dos microrganismos.[21]

Como exemplos de óleos essenciais que demonstram possuir atividade antibacteriana, podem enumerar-se os óleos essenciais de tomilho, limão, orégão, cominho e pimenta-preta. [21,22]

Os principais compostos voláteis existentes na casca de maçã são  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno, limoneno e *p*-cimeno, entre outros.[23]

## 1.2. Extração de compostos bioativos

Para que seja possível estudar os compostos bioativos existentes nas plantas é necessário começar pela extração dos mesmos, para que depois seja possível a sua separação, caracterização e utilização em ensaios.[24] Os fatores que mais frequentemente afetam os procedimentos de extração são o material vegetal utilizado, o solvente, a temperatura, a pressão e o tempo.[25]

*Tabela 1 - Exemplo de alguns compostos bioativos extraídos por diversos solventes. Adaptado de [2] e [25].*

<i>Água</i>	<i>Etanol</i>	<i>Metanol</i>	<i>Hexano</i>
	Taninos	Antocianinas	Furanocumarinas
Antocianinas	Polifenóis	Terpenóides	Hidrocarbonetos
Taninos	Flavonóis	Saponinas	Lípidos
Saponinas	Terpenóides	Taninos	Óleos essenciais
Terpenóides	Alcalóides	Flavonas	Pigmentos
		Polifenóis	

Os solventes que são utilizados no processo de extração vão influenciar o tipo de compostos que irão estar presentes, devendo, assim, ser escolhidos com base na polaridade das biomoléculas que se desejam obter. Se o solvente possuir polaridade semelhante às biomoléculas, estas irão dissolver-se com maior facilidade e em maior quantidade.[26]

Os procedimentos de extração, por sua vez, podem ser realizados de acordo com várias técnicas e com recurso a diversos instrumentos. Estes métodos podem assim ser divididos em dois grupos, os métodos de extração convencionais e os métodos de extração não convencionais. Apesar das diferenças, todos os métodos possuem os mesmos objetivos finais: extrair os compostos bioativos-alvo da planta, que por si só constitui uma amostra complexa; aumentar a seletividade e a sensibilidade dos métodos analíticos, possibilitando assim a extração de todos os compostos, mesmo os que se encontram em concentrações mais baixas; garantir a obtenção dos compostos ativos numa forma mais adequada para a sua deteção e separação; assegurar que os métodos são reproduzíveis e aplicáveis, independentemente do tipo de matriz.[25]

### 1.2.1. Técnicas de extração convencionais

Dentro das técnicas de extração convencionais podem destacar-se a extração por Soxhlet, a maceração, a decocção e a hidrodestilação. Estes métodos baseiam-se principalmente na extração dos compostos com base nos diferentes graus de polaridade e consequente capacidade solvente dos reagentes utilizados, podendo existir recurso ao calor ou à agitação como forma de facilitar o processo. Estes procedimentos têm como principal desvantagem o facto de exigirem um maior tempo de contacto com as amostras.[25] Os principais fatores a considerar na escolha de um método convencional para obtenção de compostos bioativos são a escolha do solvente, a polaridade dos compostos a extrair, a afinidade molecular entre o solvente e o

soluto, a segurança ambiental e a toxicidade do solvente.[26] Comparativamente às técnicas de extração não-convencionais, estes processos possuem menor seletividade nos compostos extraídos, podendo ainda existir risco de decomposição de biomoléculas termolábeis.[25]

A extração com recurso a Soxhlet consiste na utilização de um cartucho, habitualmente de celulose, no qual é colocada a amostra de onde se pretendem extrair os compostos. Este cartucho é colocado no corpo do extrator Soxhlet que posteriormente é adaptado a um balão ao qual se adiciona o solvente extrator a utilizar. Com o aquecimento, o solvente entra em ebulição, condensa ao atingir o condensador, entrando em seguida em contacto, já no estado líquido, com a amostra vegetal. Com o decorrer do processo, o solvente acumula-se no interior do extrator Soxhlet, sendo depois removido por meio de um sifão e regressando ao balão.[27]

A obtenção de extratos por maceração é um processo que pode ser dividido em vários passos. Inicialmente a amostra deve ser dividida o mais finamente possível, desta forma aumenta a área de superfície da amostra que entra em contacto com o solvente. Após a adição do solvente e o decorrer do tempo estipulado, o solvente é filtrado de forma a separar as impurezas.[25] Devido ao tempo de contacto do solvente com a matriz, as paredes celulares perdem a sua rigidez característica e quebram, libertando assim as biomoléculas solúveis.[28] Durante a maceração pode existir agitação do recipiente, que deve ser fechado. Este fator pode facilitar o procedimento uma vez que aumenta a difusão de compostos, removendo a solução mais concentrada e que se localiza mais próximo da amostra sólida, fazendo com que entre solvente novo em contacto com a mesma.[25] A obtenção de extratos por decocção utiliza os mesmos princípios da maceração, contudo, a mistura da amostra com o solvente é aquecida à ebulição durante um período de tempo definido, motivo pelo qual este procedimento apenas pode ser utilizado para a extração de compostos que apresentem uma elevada estabilidade em temperaturas elevadas.[28]

O processo de extração por hidrodestilação é utilizado habitualmente para a extração de óleos essenciais. Esta técnica não recorre a solventes orgânicos e permite que a amostra não esteja desidratada ou liofilizada. Após a colocação da amostra e do volume de água a utilizar no balão, a mistura é aquecida à ebulição. Ao balão encontra-se habitualmente ligado um aparelho de Clevenger modificado onde ocorre condensação do vapor de água e acumulação de solvente, que arrasta consigo os compostos bioativos extraídos. Uma vez que um dos fatores que leva à libertação dos compostos existentes na amostra é a temperatura, esta técnica tem como principal limitação o fator de não poder ser utilizada para extrair compostos termolábeis.[25]

### **1.2.2. Técnicas de extração não-convencionais**

Os métodos de extração não convencionais constituem técnicas mais amigas do ambiente uma vez que exigem menor quantidade de solventes orgânicos, decorrem com maior rapidez e garantem melhores rendimentos de extração. Dentro deste grupo de técnicas encontram-se a

extração com recurso a banhos de ultrassons, através de campos elétricos pulsados, com digestão enzimática, assistida por micro-ondas ou com utilização de fluidos supercríticos.[25]

A extração com recurso a ultrassons apresenta como princípio o fenómeno da cavitação, originado pelas ondas de compressão e expansão formadas no meio devido à produção, crescimento e colapso de bolhas.[25,28] A ocorrência deste fenómeno facilita a entrada do solvente utilizado nas células da matriz, sendo que o mecanismo de extração se encontra dividido em duas fases. Inicialmente o solvente entra nas células por difusão, posteriormente ocorre rutura das paredes celulares, libertando o solvente e todas as biomoléculas nele dissolvidas. Os principais fatores da matriz que podem influenciar o rendimento da extração são o grau de divisão e conseqüente tamanho da amostra e o teor em água que a mesma apresenta.[25,29]

A utilização do banho de ultrassons tem ainda como vantagens o menor tempo de extração, a mistura de solvente mais eficiente, a redução do gradiente térmico e da temperatura de extração e a maior seletividade.[25,29]

A utilização de campos elétricos pulsados para a obtenção de extratos baseia-se na destruição da estrutura membranar das células. Ao expor a suspensão da amostra no solvente a um campo elétrico, as moléculas existentes nas membranas celulares vão separar-se de acordo com a sua carga, levando à formação de poros em zonas da membrana mais fragilizadas e aumentando assim a permeabilidade celular. Esta técnica permite aumentar assim a transferência de massa durante o processo de extração, permitindo a diminuição do tempo necessário para o mesmo. Verifica-se também que o campo elétrico a que a amostra é sujeita não causa um aumento da temperatura significativo, motivo pelo qual esta técnica pode ser utilizada quando se pretendem obter compostos que demonstrem ser termolábeis.[25]

A extração assistida por enzimas é uma técnica utilizada quando os compostos que se pretendem obter estão retidos na malha de lignina e polissacarídeos através de ligações por pontes de hidrogénio e ligações hidrofóbicas e que, por esse motivo, não são acessíveis com os processos tradicionais. A utilização de enzimas como a pectinase e a celulase durante o processo de extração permite a recuperação de um maior número de compostos e o aumento do rendimento da extração devido à quebra das paredes celulares e à hidrólise de polissacarídeos.[25]

A obtenção de extratos assistida por micro-ondas apresenta-se como uma das técnicas não-convencionais de obtenção de extratos. Esta técnica utiliza a energia da radiação na gama das micro-ondas para facilitar a partição dos analitos e compostos a extrair da amostra para o solvente. Ocorre interação da radiação com o solvente e a amostra, levando ao aumento da temperatura perto da superfície destes e conseqüente colisão entre moléculas. Desta forma, podem considerar-se três fases no processo de extração: a separação dos solutos da amostra

devido ao aumento da temperatura e da pressão, a difusão do solvente através da amostra e a libertação dos solutos para o solvente. Esta técnica permite extrair compostos mais rapidamente, com a obtenção de melhores rendimentos e apresenta seletividade para extrair compostos orgânicos e organometálicos.[25,28]

A utilização de fluidos supercríticos para a obtenção de extratos baseia-se na existência de um ponto crítico existente para todas as substâncias. O estado supercrítico de qualquer tipo de matéria é alcançado quando as condições de pressão e temperatura ultrapassam o ponto crítico desse mesmo material e, a partir deste, não existem fases líquida e gasosa de forma distinta. Um fluido supercrítico apresenta então as propriedades dos gases ao nível da difusão, viscosidade e tensão superficial, mas também as propriedades do líquido na sua densidade e poder de solvatação, permitindo extrair um maior número de compostos, e em qualquer um dos estados, líquido ou gasoso. Habitualmente utiliza-se dióxido de carbono como fluido supercrítico, para temperaturas superiores a 31,1°C e pressões acima dos 74 bar. Contudo, dada a sua baixa polaridade, os compostos obtidos são maioritariamente apolares, tais como os lípidos e substâncias oleosas, sendo este o método de excelência para a obtenção de óleos essenciais.[25,28]

### **1.3. A maçã, *Malus domestica***

A maçã apresenta distribuição a nível mundial e múltiplas variedades, motivo pelo qual é das frutas mais consumidas no mundo. De acordo com dados do Instituto Nacional de Estatística, nos anos de 2017 e 2018 consumiram-se, em média, cerca de 29,6 kg de maçã por cada habitante.[30] Do ponto de vista calórico é moderadamente energética (cerca de 57 kcal por cada 100 g edíveis), e possui, geralmente, paladar agradável, pelo que é apreciada pela maioria dos consumidores. O seu conteúdo em água é de aproximadamente 80%, sendo também rica em minerais como sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo. É um alimento rico em vitaminas, sendo as do complexo B as maioritárias, e possui um teor considerável em fibras (2-3%), na forma de pectina, celulose, hemicelulose e lenhina. Relativamente aos teores proteico e lipídico, não ultrapassam os 0,2% e 0,5% respetivamente. No que concerne a ácidos orgânicos, é comum a presença dos ácidos málico e cítrico. Quanto a pigmentos destacam-se as clorofilas, as antocianinas e os flavonóides.[31-33]

Do ponto de vista fitoquímico, a maçã possui uma elevada concentração de flavonóides, dependendo, contudo, esta concentração de fatores como a cultivar, o estado de maturação, as condições de colheita e armazenamento e de algum tipo de processamento a que seja sujeita a fruta. Um outro fator que pode afetar a concentração de compostos fenólicos presentes é a parte da maçã utilizada para a determinação, uma vez que entre casca e polpa são detetadas diferenças significativas.[34]

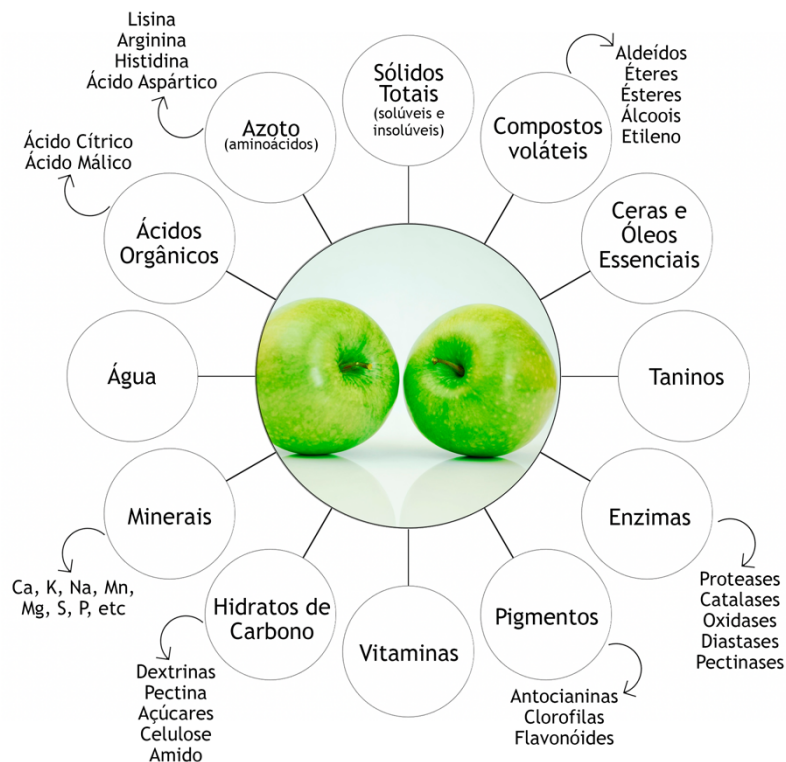


Figura 1 - Representação esquemática simplificada dos principais componentes da maçã. Adaptado de [35].

Existem 5 grupos polifenólicos principais em várias variedades de maçãs: ácidos hidroxicinâmicos, flavan-3-óis, procianidinas, antocianidinas, flavonóides e dihidrochalconas.[31,36]

Vários estudos epidemiológicos demonstram efeitos benéficos da maçã para a saúde, apresentando redução do risco de cancro do pulmão, cólon, próstata e fígado, diminuição do risco cardiovascular, do risco de asma e de hipersensibilidade brônquica e ainda um menor risco de desenvolver diabetes *mellitus* tipo II e redução dos níveis de glucose sanguíneos. A ingestão de maçãs está também associada a um melhor controlo do peso.[34,36]

### 1.3.1. *Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*

A maçã Bravo-de-Esmolfe (BE) terá surgido na localidade de Esmolfe, aldeia do concelho de Penalva do Castelo. Esta maçã caracteriza-se pela sua dimensão, média a pequena, forma oblongo-cónica e epiderme esbranquiçada, na qual podem surgir manchas de coloração avermelhada. Apresenta ainda uma polpa branca, macia e de paladar doce, sendo que a característica que permite facilmente o seu reconhecimento é o aroma intenso, agradável e característico que apresenta. Esta espécie apresenta uma época de colheita em finais de setembro.[37]

Dadas as suas qualidades, foram obtidos enxertos que levaram a uma rápida disseminação nos pomares, especialmente na região da Beira Alta e em parte da região da Cova da Beira.[38]



Figura 2 - *Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*. Retirado de [39].

A partir de 1994, e após publicação do Despacho n.º 58/94, de 15 de fevereiro, esta variedade passou a ter DOP - Denominação de Origem Protegida, sendo assim atestada a sua qualidade superior.[40]

*Feliciano e seus colaboradores* [31] elaboraram a caracterização nutricional de várias cultivares da espécie *Malus domestica*, entre as quais a variedade BE. Os resultados obtidos, por cada porção de 100g de amostra edível, e considerando a fruta com casca, encontram-se na tabela 2. De acordo com os mesmos autores, verifica-se que a maçã BE possui um elevado teor em fibras, sendo que as mesmas se localizam principalmente ao nível da casca. No que concerne ao teor nas várias vitaminas quantificadas, verifica-se também que os valores são mais elevados quando a casca não é removida. Relativamente aos ácidos orgânicos, apesar de a quantidade descrita para o ácido cítrico não variar, verifica-se uma presença mais significativa de ácido málico sem que haja remoção da casca da fruta.[31]

Tabela 2 - Composição nutricional da maçã *Bravo-de-Esmolfe*, por cada 100 g de amostra edível. Adaptado de [31].

Água		81,38 g
Proteínas		0,09 g
Açúcares totais		11,90 g
Ácidos Orgânicos	Ácido málico	170,60 mg
	Ácido cítrico	2,80 mg
Vitaminas	Vitamina C	3,10
	Vitamina A (na forma de retinol)	< 4,50 µg
	α-Tocoferol	120,52 µg
	β-Caroteno	23,41 µg
	Tiamina (vit. B1)	5,00 µg
	Riboflavina (vit. B2)	2,00 µg
	Niacina (vit. B2)	123,00 µg
	Ácido pantoténico (vit. B5)	< 100 µg
	Piridoxina (vit. B6)	22,00 µg
Folatos (vit. B9)	< 5 µg	

Minerais	Potássio (K)	115,02 mg
	Fósforo (P)	9,11 mg
	Magnésio (Mg)	4,21 mg
	Cálcio (Ca)	2,46 mg
	Enxofre (S)	3,44 mg
	Sódio (Na)	1,33 mg
	Silício (Si)	0,97 mg
	Boro (B)	0,60 mg
	Ferro (Fe)	0,16 mg
	Alumínio (Al)	0,13 mg

Os autores anteriormente referidos analisaram também as mesmas cultivares relativamente à sua composição fitoquímica. Os resultados obtidos, por cada 100g de amostra edível, encontram-se registados na tabela 3. De entre as várias cultivares analisadas, a maçã BE demonstrou possuir um elevado teor em compostos fenólicos, existindo uma diferença significativa entre a presença e a ausência da casca.[31]

*Tabela 3 - Composição fitoquímica da maçã Bravo-de-Esmolfe, por cada 100 g de amostra edíveis. Comparação entre os valores obtidos com e sem casca. Adaptado de [31].*

	BECC <sup>1</sup>	BESC <sup>2</sup>
<b>Compostos fenólicos totais</b>	144,60 mg	114,87 mg
<b>Catequinas</b>	6,36 ± 0,55 mg	5,76 ± 0,18 mg
<b>Epicatequinas</b>	9,11 ± 0,81 mg	6,57 ± 0,14 mg
<b>Ácido clorogénico</b>	8,19 ± 0,51 mg	9,22 ± 0,21 mg
<b>Floridzina</b>	0,59 ± 0,06 mg	0,49 ± 0,01 mg
<b>Quercetina-3-glucósido</b>	0,11 ± 0,02 mg	< 0,002 mg
<b>Procianidina B1<sup>3</sup></b>	1,41 ± 0,06 mg	1,22 ± 0,08 mg
<b>Procianidina B2</b>	1,70 ± 0,06 mg	1,18 ± 0,15 mg

#### 1.4. Atividade antimicrobiana

O desenvolvimento, comercialização e utilização frequente de agentes antimicrobianos revolucionaram a medicina moderna. Estes agentes permitiram não só reduzir a mortalidade infantil, mas também o aumento da esperança média de vida.[41,42]

<sup>1</sup> BECC - maçã Bravo-de-Esmolfe com casca

<sup>2</sup> BESC - maçã Bravo-de-Esmolfe sem casca

<sup>3</sup> Quantidade expressa em mg/100 g de procianidina B2

Dada a sua importância e o surgimento de um número crescente de bactérias que apresentam resistência aos antibióticos, a Organização Mundial de Saúde (OMS) nomeou a resistência aos antibióticos como um dos três principais problemas de saúde pública no século XXI.[42]

A determinação da suscetibilidade dos microrganismos a qualquer tipo de substância pode ser utilizada no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, na epidemiologia e como auxiliar na decisão terapêutica.[43] Com o aumento das resistências aos antibióticos já conhecidos, a utilização de produtos naturais assume um papel de extrema importância uma vez que são estes as maiores bibliotecas de compostos existentes no planeta.

#### **1.4.1. Desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos**

A OMS define resistência aos antimicrobianos como “*a capacidade de um microrganismo (bactérias, vírus ou parasitas) impedirem a ação de um agente antimicrobiano contra si*”.[44] Desta forma a utilização de determinada molécula que pretenda inibir o crescimento do microrganismo ou levar à sua morte não consegue exercer esse efeito, possibilitando a continuidade das infecções e podendo levar à sua propagação.[44]

As bactérias podem apresentar resistência aos antibióticos de duas formas: intrínseca ou adquirida. A resistência de forma intrínseca consiste na capacidade de o microrganismo resistir ao efeito do antibiótico de forma inata, devido à sua estrutura ou características funcionais. Por outro lado, a resistência é considerada como adquirida quando a bactéria não possui mecanismos que garantam a sua sobrevivência quando exposta ao agente antibacteriano, mas acaba por desenvolver esses mesmos mecanismos.[41] A resistência aos antibióticos é uma realidade frequente e resulta da interação dos microrganismos com o ambiente a que estes estão expostos.[42]

Os principais mecanismos envolvidos na resistência adquirida a agentes antimicrobianos possuem bases genéticas, sendo fruto de mutações em genes que estão associados ao mecanismo de ação do antibiótico ou resultando da entrada, na bactéria, de DNA que leva ao desenvolvimento da resistência, sendo esta situação denominada de transferência horizontal de genes. Desta forma podem ser divididos em três grupos principais:

1. Mecanismos que reduzem a concentração de agente no ambiente intracelular;
2. Mecanismos que alteram o alvo do agente antibacteriano;
3. Mecanismos que modificam o antibiótico, alterando assim a sua atividade.[41,42]

Dentro do primeiro grupo podem destacar-se a redução da permeabilidade celular devido a diferenças nas membranas e a existência de bombas de efluxo que removem o agente do interior da bactéria. Uma vez que o composto com ação antimicrobiana não consegue penetrar nas membranas bacterianas, não são atingidas concentrações necessárias no espaço intracelular ou periplasmático para que o antibiótico exerça o seu efeito. Por outro lado, pode ainda

verificar-se a presença de sistemas que diminuem as concentrações intracelulares do agente por expulsarem o agente do ambiente em que se localiza o seu alvo.[41,45] Este tipo de sistemas pode ser específico para o substrato ou pode apresentar capacidade de efluxo de vários compostos, sendo o último o caso mais frequente em bactérias multirresistentes.[42]

No segundo grupo de mecanismos figuram as situações em que a bactéria altera o alvo do antibiótico. Estas modificações podem dever-se a alterações na estrutura do próprio alvo, fazendo com que o agente não possua afinidade e não exerça qualquer atividade, ou podem dever-se a modificações que protegem o local de interação do antibiótico com o alvo, impossibilitando que o agente entre em contacto com o alvo e impedindo a ação. As alterações no alvo podem dever-se, principalmente, a três situações: alterações genéticas ao nível dos genes que codificam o alvo; alterações enzimáticas no local de ligação da molécula, por exemplo, através da adição de grupos metilo, ou a substituição integral do alvo.[41,42]

Por último, e dentro do terceiro grupo, podem enunciar-se as situações em que o microrganismo adquire a capacidade de modificar o agente antimicrobiano, causando a sua destruição ou diminuindo a afinidade para o alvo. As modificações no agente podem ser causadas por enzimas que provoquem alterações, a nível molecular, no agente antibacteriano.[41,45] Encontram-se descritas várias enzimas responsáveis pela inativação de compostos antibióticos, sendo que as reações que mais frequentemente ocorrem são de acetilação, fosforilação e adenilação.[42]

#### **1.4.2. Avaliação do potencial antimicrobiano**

Existem vários métodos que podem ser utilizados na determinação *in vitro* da atividade antimicrobiana de um extrato ou composto puro. Entre estes, os mais conhecidos são o método de difusão em disco, também conhecido como teste de Kirby-Bauer e os métodos de diluição em caldo.[43] Os métodos de diluição são os mais apropriados na determinação da CMI, uma vez que através destes é possível saber qual a concentração de agente antimicrobiano que entrou em contacto com o inóculo. A CMI define-se assim como a concentração mais baixa de agente antimicrobiano que demonstra inibir o crescimento visível do microrganismo em estudo, sendo habitualmente expressa em  $\mu\text{g/mL}$  ou  $\text{mg/mL}$ . [43]

O método da difusão em disco consiste na inoculação de placas com meio de cultura sólido com o microrganismo que se pretende testar. Posteriormente são colocados na superfície do meio, discos de celulose, com cerca de 6 mm de diâmetro, onde é aplicada a substância que se pretende testar. Este método não é indicado para a determinação da CMI, uma vez que é impossível quantificar a quantidade de agente antimicrobiano que entrou em contacto com os microrganismos e se difundiu pelo meio.[43,46] A extensão de difusão do agente no agar é influenciada por diversos fatores, quer da substância que se testa, quer do agar, nomeadamente: solubilidade, pH, temperatura, concentração de agar e profundidade do meio de cultura na placa.[47] De forma a complementar os resultados obtidos com este teste, pode ainda realizar-se o mesmo procedimento sem a utilização do disco, colocando um volume

predefinido (gota), diretamente no agar. Este ensaio permite conferir se existe difusão do extrato em análise no agar, contudo, pode verificar-se evaporação do extrato, sendo essa a principal desvantagem.

O halo de inibição do crescimento microbiano é formado quando a concentração do agente atinge ou ultrapassa a CMI do agente para a estirpe que se encontra em estudo.[47]

A utilização de microplacas de 96 poços permite o estudo da CMI através da microdiluição, sendo que neste teste são realizadas diluições sucessivas de 1:2 do agente cuja CMI se pretende estudar, em meio de crescimento líquido. Posteriormente, inocula-se cada poço com inóculo ajustado para 0,5 na escala de McFarland e agitam-se as placas de forma a homogeneizar o conteúdo de cada poço. De forma a estimular o crescimento bacteriano, as placas devem então ser incubadas à temperatura mais indicada para os microrganismos em estudo.[43,48,49]

Existem ainda outros métodos que permitem estudar a suscetibilidade dos microrganismos aos diferentes compostos que se pretendem testar, nomeadamente:

- Método do gradiente antimicrobiano: conjuga os princípios dos métodos de diluição com o método de difusão, criando um gradiente de concentração do agente antimicrobiano em meio sólido com recurso a uma tira impregnada com a substância e na qual se produzem as diferentes concentrações, posteriormente a mesma é colocada na superfície do agar na qual se encontra a estirpe inoculada.[43]
- Método da difusão no agar através do poço: este procedimento envolve a formação de poços no meio de crescimento sólido, nos quais serão depois depositados volumes conhecidos do extrato ou substância que se pretende estudar. A placa deve ser inoculada com o microrganismo que se pretende avaliar previamente à formação dos poços.[43]

## 2. Objetivos

A utilização de plantas e frutos como fontes de compostos bioativos tem vindo a crescer cada vez mais. Dada a grande necessidade de descoberta de novos agentes com ação antibacteriana, a ciência tem vindo a explorar cada vez mais os produtos da natureza na tentativa de descobrir moléculas com esta capacidade. Assim, o principal objetivo deste trabalho consiste na avaliação do potencial antimicrobiano de extratos hidroetanólicos obtidos a partir de *Malus domestica* cv. *Bravo-de-Esmolfe*.

Para além da determinação da capacidade antibacteriana, o presente trabalho pretende estudar os resultados obtidos com diferentes solventes de extração e efetuar a comparação da atividade antimicrobiana de extratos obtidos a partir de polpa e a partir de casca, bem como a comparação dos resultados tendo por base extratos obtidos a partir de diferentes técnicas.

## 3. Materiais e Métodos

### 3.1. Amostra e reagentes de extração

Na realização do trabalho foi utilizada maçã BE adquirida em junho de 2018 à empresa *Albifrutas - Produtos Hortícolas, Lda*, em Castelo Branco. De acordo com o proprietário da empresa, as mesmas eram provenientes da colheita do ano anterior, encontrando-se em câmara frigorífica até então.

Como reagentes, na realização de extratos foram utilizados: etanol absoluto (Fábrica de Álcool - Manuel Vieira&C.<sup>a</sup> (Irmão), Sucrs, Lda); hexano (Fisher Chemical); Água destilada.

### 3.2. Preparação da amostra

Após a aquisição, a maçã BE foi conservada refrigerada ( $T= 4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), de forma a manter as condições de conservação pós-colheita ideais.

Previamente à realização dos extratos foi separada a casca da polpa, tendo depois sido cortada em fragmentos de aproximadamente 2 mm com vista a aumentar a área de superfície que entraria em contacto com os solventes utilizados. De forma a observar possíveis diferenças entre os resultados obtidos com casca e com polpa, separadamente, preparou-se a polpa de forma idêntica à casca, tendo sido cortada em pequenos fragmentos e conservada em recipiente de plástico.

Ambas as amostras foram então liofilizadas (ZIRBUS technology) num processo de 72 horas, dividido em 2 fases: inicialmente, 1 hora à pressão de 0,3 bar e posteriormente 71 horas à pressão de 0,2 bar.

### 3.3. Obtenção dos extratos

Para obtenção dos extratos, as duas amostras distintas foram submetidas a vários processos extrativos. Inicialmente foi realizada uma hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado. Posteriormente foram utilizadas duas técnicas, maceração e extração assistida por ultrassons e dois solventes diferentes: uma mistura hidroetanólica [numa proporção 80:20 ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ )] e hexano. No final foi determinado o rendimento dos vários processos de extração de acordo com a equação:

$$\text{Rendimento da extração}(\%) = \frac{\text{massa final}_{\text{extrato}}}{\text{massa inicial}_{\text{amostra}}} \times 100$$

### **3.3.1. Extração por maceração com mistura hidroetanólica**

Foi utilizado o método descrito em [50] e [51] com algumas modificações. Colocaram-se em cada um de 3 frascos de vidro, 2,50 g de amostra e 50 mL de solvente. Os frascos foram colocados em placa de agitação (VWR® Advanced Digital Shaker) por um período de 1 hora.

O solvente foi depois filtrado, tendo sido repetido o procedimento com o resíduo sólido da primeira extração.

O volume total de mistura hidroetanólica foi recuperado e evaporado em rotavapor (VWR® IKA® RV10 Control) tendo sido obtido o extrato final, liofilizado e congelado a uma temperatura de -80°C até utilização posterior.

### **3.3.2. Extração assistida por ultrassons com mistura hidroetanólica**

As amostras foram sujeitas a extração com a mistura hidroetanólica (80:20) com recurso a um banho de ultrassons. Seguiu-se assim o método descrito por Grigoras *et al.*[48] com algumas alterações. Devido às dimensões deste equipamento foram utilizados tubos *Falcon*® onde foram colocados 0,50 g de amostra e 10 mL de solvente, em cada um dos 16 tubos. Posteriormente foram submetidos ao processo de extração no banho, à temperatura de 25°C, por um período de 30 minutos. O solvente foi recuperado por decantação e o resíduo sujeito a nova extração.

O volume total de mistura hidroetanólica foi recolhido em balão de fundo redondo e evaporado em rotavapor para obtenção do extrato. Os extratos finais obtidos foram liofilizados e congelados a uma temperatura de -80°C tendo sido conservados até utilização posterior.

### **3.3.3. Extração por maceração em hexano**

A obtenção de extratos com hexano foi realizada seguindo o método descrito por Jayaraman *et al.*[52], com algumas modificações. Desta forma foram colocados 2,50g de amostra em cada um de 3 frascos, e adicionaram-se 50 mL de hexano. Os frascos foram posteriormente colocados em placa de agitação por um período de 48 horas. Removeu-se o solvente e adicionou-se novo volume, repetindo o processo. No final foi recuperado todo o volume recolhido, evaporado em evaporador rotativo e o extrato final foi liofilizado e congelado a uma temperatura de -80°C tendo sido conservados até utilização posterior.

## **3.4. Determinação da atividade antimicrobiana**

### **3.4.1. Microrganismos e meios utilizados**

Na realização dos testes para determinação da atividade antimicrobiana foram utilizadas um total de 5 bactérias, 3 Gram-positivas e 2 Gram-negativas:

- *Listeria monocytogenes* NCTC 11944;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923;

- *Bacillus cereus* ATCC 11778;
- *Escherichia coli* ATCC 25921;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

De forma a garantir o crescimento dos microrganismos foi utilizado o meio Nutrient Agar (NA)(Liofilchem). Estas estirpes encontravam-se armazenadas em tubos criogénicos, a uma temperatura de -80°C, com meio Skim Milk (Oxoid) com glicerol a 20% (v/v). Entre os vários testes as estirpes foram conservadas a uma temperatura de -4°C, no respetivo meio de cultura e em placas envoltas em película aderente.

Antes da realização do ensaio foram repicadas 3 vezes em meio adequado e incubadas nas condições ótimas para o seu crescimento, tendo depois sido inoculadas no novo meio onde foi realizado o teste.

### 3.4.2. Teste de difusão em disco e de difusão por gota

De forma a verificar se os extratos brutos possuíam atividade antimicrobiana foram testados inicialmente através do teste de Kirby-Bauer e pelo teste de difusão por gota. Este teste foi realizado tendo em conta as recomendações da norma M2-A8, do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).[46]

Neste ensaio o meio de cultura utilizado foi o Müller-Hinton agar (MHA) (Oxoid) para todas as bactérias, exceto *Listeria monocytogenes*, microrganismo para o qual se utilizou o meio TSA (do inglês *Trypticase Soy Agar*)(Oxoid) com adição de extrato de levedura (do inglês *Yeast Extract - YE*) (Biokar Diagnostics).

Após a inoculação por espalhamento foram colocados 6 discos de celulose em cada placa. A cada um dos discos foi depois adicionado 10 µL de extrato bruto dissolvido em DMSO, a uma concentração de 500 mg/mL, perfazendo assim uma quantidade de 5000 µg por disco.

Como controlos foram utilizados três discos, dois como controlo negativo e um como controlo positivo. Como controlos negativos utilizou-se um disco impregnado em DMSO e um disco impregnado com solução salina a 0,85%. Como controlo positivo foi utilizado um disco com solução de Cloranfenicol (Sigma Aldrich) a 1%.

De forma a verificar se existiram diferenças nos resultados obtidos com a dissolução dos extratos brutos em DMSO de forma imediatamente anterior à sua utilização ou com um intervalo temporal de cerca de 24 horas, o extrato obtido por maceração da casca em solvente hidroetanólico foi preparado nos dois momentos anteriormente referidos e utilizado em dois discos distintos.

Para a inoculação das placas foram preparadas suspensões bacterianas de cada uma das estirpes utilizadas em solução salina esterilizada (cloreto de sódio a 0,85%). Com recurso a uma zaragatoa recolheu-se uma colónia isolada de cada bactéria, procedente de culturas com 18-24 horas de crescimento em meio NA, e suspendeu-se em 5 mL de solução salina. A turbidez das suspensões foi ajustada para 0,5 na escala de McFarland. Posteriormente mergulhou-se uma zaragatoa na suspensão, removeu-se o excesso de suspensão contra as paredes do tubo e inocularam-se as placas de meio sólido por espalhamento.

Após a inoculação, os discos foram distribuídos com recurso a um distribuidor semi-automático, impregnados com os extratos ou controlos e as placas colocadas a incubar a uma temperatura de 37°C. No caso da estirpe de *Bacillus cereus*, as placas onde se encontrava inoculado este microrganismo foram incubadas a uma temperatura de 30°C.

Paralelamente, realizou-se o ensaio de forma semelhante, mas sem recurso a discos de celulose. Assim, em cada placa de meio sólido foram colocados 5 µL de cada extrato cuja atividade se pretendia avaliar. De forma idêntica, e como controlos negativos, foram colocados 5 µL de DMSO e 5 µL de NaCl a 0,85%, e como controlo positivo foi utilizada uma gota (5 µL) de solução de Cloranfenicol preparada a 1%.

Após crescimento de cerca de 18-20 horas, analisaram-se as placas de forma a verificar a existência ou ausência de halo de inibição, tendo sido considerado como halo a área total em que não se verificou crescimento visível a olho nu.[46]

### **3.4.3. Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)**

Posteriormente à realização do teste de Kirby-Bauer selecionaram-se as estirpes em que foi verificada existência de halo de inibição para determinação da CMI dos extratos obtidos. Este ensaio foi realizado tendo em conta as recomendações presentes na norma M7-A6, do CLSI.[49]

Procedeu-se à dissolução dos extratos em DMSO a 2%, iniciando com uma concentração de 500 mg/mL. O ensaio foi realizado numa placa de 96 poços nos quais foram colocados os extratos dissolvidos e diluídos a várias concentrações conhecidas e os controlos utilizados.

Na microplaca foi colocado meio de cultura líquido, MHB (do inglês *Müller-Hinton Broth*) (Oxoid) e adicionou-se o extrato na sua concentração mais elevada na primeira coluna. Posteriormente realizaram-se diluições sucessivas de forma a que, no final, se obtivessem resultados para um intervalo de concentrações de 250,0 mg/mL a 3,91 mg/mL, num volume final de 200 µL. Foram preparadas suspensões bacterianas de forma semelhante às utilizadas no teste de difusão em disco, ajustada a turbidez para 0,5 na escala de McFarland, correspondendo a cerca de  $1,5 \times 10^8$  Unidades Formadoras de Colónias (UFC) por cada mL, e colocados 10 µL de inóculo em cada poço.

Cada extrato foi testado em triplicado, e foram utilizados 5 controles:

- Controlo de esterilidade do meio (CEM): colocou-se num poço 200  $\mu\text{L}$  de meio MBH de forma a verificar a existência ou ausência de crescimento bacteriano proveniente de possíveis contaminações do meio;
- Controlo positivo (CP): colocou-se num poço 190  $\mu\text{L}$  de meio MHB e 10  $\mu\text{L}$  de suspensão bacteriana, de forma a verificar a existência de crescimento do microrganismo e a sua viabilidade celular;
- Controlo de toxicidade do solvente (CTS): colocou-se num poço 95  $\mu\text{L}$  de meio MHB, 95  $\mu\text{L}$  de DMSO a 2% e 10  $\mu\text{L}$  de inóculo bacteriano, de forma a verificar a existência ou ausência de crescimento bacteriano e assim avaliar a toxicidade do solvente utilizado na dissolução dos extratos;
- Controlo negativo 1 (CN<sub>1</sub>): colocou-se num poço 190  $\mu\text{L}$  de meio MHB e 10  $\mu\text{L}$  de NaCl a 0,85%, de forma a verificar a existência ou ausência de crescimento bacteriano proveniente da solução salina;
- Controlo negativo 2 (CN<sub>2</sub>): colocou-se num poço 190  $\mu\text{L}$  de meio MHB e 10  $\mu\text{L}$  de DMSO a 2%, de forma a avaliar a existência ou ausência de crescimento bacteriano proveniente do solvente em que foram dissolvidos os extratos.

As placas foram depois incubadas a 37°C para as estirpes cujo crescimento ocorre a esta temperatura e a 30°C para *Bacillus cereus*, e após 18 horas de crescimento foram analisadas quanto à presença de crescimento. Após esta verificação foram adicionados 30  $\mu\text{L}$  de solução de resazurina a 0,01% em todos os poços e as placas foram novamente incubadas por um período de cerca de 45 minutos. A adição da solução de resazurina permite a observação de uma reação colorimétrica de forma a confirmar a presença de crescimento bacteriano nos poços da microplaca. Em caso de crescimento, a coloração azul sofre alteração para rosa/roxo devido à atividade metabólica dos microrganismos. Considerou-se como sendo a CMI, o valor de concentração no último poço em que não se verificou crescimento.[53]

Uma vez que os extratos possuíam uma coloração amarelo-esverdeada, e de forma a verificar qual a cor existente em cada poço após a adição da resazurina, e sem que existisse interferência do crescimento bacteriano preparou-se, em paralelo, uma microplaca de 96 poços na qual foram realizadas as diluições dos extratos na mesma gama de concentrações testadas. Assim, colocaram-se 190  $\mu\text{L}$  de meio MHB nas colunas 1 a 7 e linhas A a H, posteriormente adicionaram-se 190  $\mu\text{L}$  de cada um dos extratos em todos os poços da coluna 1 e procederam-se a diluições sucessivas de 1:2. Por fim adicionaram-se 10  $\mu\text{L}$  de solução salina a 0,85% e 30  $\mu\text{L}$  de resazurina a 0,01%. A microplaca foi incubada a 37°C e foram registados os resultados após 1 hora e após 5 horas, de forma a verificar se não existiam alterações na coloração devido a possíveis interações entre compostos. **(Anexo III)**

Tabela 4 - Esquema representativo da concentração final do extrato dos diferentes poços da microplaca para determinação da CMI.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	[E] <sup>4</sup> =	[E] =	[E] =	[E] =	[E] =	[E] =	[E] =	CEM	CP	CTS	CN <sub>1</sub>	CN <sub>2</sub>
<b>B</b>	250,0	125,0	62,5	31,25	15,625	7,82	3,91	CEM	CP	CTS	CN <sub>1</sub>	CN <sub>2</sub>
<b>C</b>	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	CEM	CP	CTS	CN <sub>1</sub>	CN <sub>2</sub>
<b>D</b>	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O
<b>E</b>	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O
<b>F</b>	[E] =	[E] =	[E] =	[E] =	[E] =	[E] =	[E] =	CEM	CP	CTS	CN <sub>1</sub>	CN <sub>2</sub>
<b>G</b>	250,0	125,0	62,5	31,25	15,625	7,82	3,91	CEM	CP	CTS	CN <sub>1</sub>	CN <sub>2</sub>
<b>H</b>	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	CEM	CP	CTS	CN <sub>1</sub>	CN <sub>2</sub>

#### 3.4.4. Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB)

A determinação da concentração mínima bactericida permite verificar qual o menor valor de concentração de extrato que mata os microrganismos.

Com vista à determinação desta concentração, em meio sólido NA, pipetaram-se 5 µL retirados de cada poço da microplaca e procedeu-se à sua incubação nas temperaturas recomendadas (30°C para *Bacillus cereus* e 37°C para as restantes estirpes). A recolha do volume indicado nas microplacas foi realizada de forma prévia à adição da resazurina, para determinação da CMI.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Processo de extração e rendimento

Os extratos obtidos em que o solvente era a mistura hidroetanólica (etanol/água, 80:20) demonstraram possuir uma maior quantidade de compostos, sendo o seu rendimento mais elevado. Por sua vez, nos extratos em que o solvente utilizado foi o hexano, foi obtida apenas uma pequena quantidade de compostos. Relativamente ao processo de hidrodestilação realizado, o mesmo não demonstrou qualquer resultado, motivo pelo qual se retirou do presente relatório. Os rendimentos alcançados com os vários processos de extração e diferentes solventes encontram-se descritos na Tabela 5.

<sup>4</sup> [E]: Concentração do extrato testado

Tabela 5 - Rendimento das extrações realizadas.

Técnica	Solvente	Amostra	
		Casca	Polpa
Maceração	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH/H <sub>2</sub> O (80:20)	68,88 %	72,86 %
	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	0,55 %	0,17 %
Extração assistida em Banho de Ultrassons	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH/H <sub>2</sub> O (80:20)	63,23 %	82,39 %

Os valores de rendimento dos extratos obtidos com recurso à mistura hidroetanólica como solvente demonstram ser superiores aos descritos na literatura para outras cultivares de *Malus domestica*. Em 2016, Sowa e os seus colaboradores [54] reportaram valores de massa de extratos obtidos a partir de folhas de várias variedades de macieiras (Golden delicious, Jonagold, Elstar, Ligol, Mutsu), e com recurso a metanol como solvente, que variam entre os 2,7597 g e os 3,2771 g ( $\pm 0,0001$ ), a partir de uma amostra de 50,0 g. Os valores reportados correspondem assim a uma gama de rendimentos entre os 5,52% e os 6,55%. Comparativamente aos valores obtidos no presente relatório, estes valores são consideravelmente mais baixos, mesmo considerando as diferenças no solvente utilizado e nas cultivares estudadas.[54] Importa considerar que não é possível realizar uma comparação direta com os resultados previamente apresentados dadas as diferenças na matriz para obtenção de extratos, folhas de outras variedades da árvore da espécie *Malus domestica*, bem como nos solventes utilizados para a extração.

Dada a reduzida quantidade de extrato bruto obtido através da maceração em hexano com as duas amostras analisadas, não foi possível a sua utilização para a avaliação do potencial antimicrobiano. Alguns estudos apontam a utilização de hexano para a remoção de clorofila das amostras em estudo.[52]

Após a liofilização de todos os extratos, e de forma prévia à sua pesagem para dissolução e posterior avaliação, verificou-se também que os extratos apresentam uma textura pastosa, que indica a presença de um elevado teor de açúcares e mucilagens. Desta forma, e com o objetivo de remover os açúcares presentes nos extratos e isolar apenas os compostos fenólicos, o próximo passo deveria ser a purificação dos mesmos por cromatografia. Para a purificação de compostos fenólicos poderia utilizar-se o método descrito por Catalão *et al.*[53] e por Bastos *et al.* [57], com recurso a cromatografia de troca iónica. Assim, os compostos fenólicos podem ficar ligados a uma coluna na superfície da qual existam grupos catiónicos, sendo que os açúcares irão eluir. Posteriormente os compostos de interesse serão removidos ao alterar a polaridade do eluente. [56,57] No presente trabalho não foi possível a realização desta purificação devido ao curto intervalo temporal disponível.

## 4.2. Determinação da atividade antimicrobiana

O número de resistências dos microrganismos aos agentes antimicrobianos apresenta-se cada vez maior, facto que motiva cada vez mais a investigação e a procura de novas biomoléculas que possam constituir alternativas no controlo de infeções. Desta forma, avaliou-se numa primeira fase a atividade antimicrobiana dos extratos brutos obtidos com a mistura hidroetanólica, contra 5 bactérias, 2 Gram negativo e 3 Gram positivo, através do ensaio de difusão em disco e do ensaio de difusão por gota.

Numa segunda fase, e atendendo aos resultados obtidos nos ensaios prévios determinaram-se as CMI de cada extrato com recurso a microplacas de 96 poços. Nesta fase a estirpe de *Listeria monocytogenes* NCTC 11944 foi removida dos ensaios devido ao facto de não apresentar qualquer suscetibilidade à ação inibitória dos extratos em estudo, nos ensaios em meio sólido.

Numa terceira e última fase da avaliação do potencial antibacteriano, foram utilizadas placas de meio sólido nas quais foram colocados 5 µL removidos de cada um dos poços das microplacas utilizados na determinação das CMI. Através deste ensaio foi possível verificar se os resultados obtidos previamente se deviam apenas à inibição do crescimento das estirpes ou se ocorreria, efetivamente, morte dos microrganismos.

### 4.2.1. Teste de difusão em disco e de difusão por gota

Na tabela 6 encontram-se registados os resultados de halo de inibição obtidos no ensaio de difusão por disco e de difusão por gota de cada um dos extratos obtidos.

Através da análise da tabela supracitada pode verificar-se que os extratos brutos obtidos apresentam maior atividade contra a estirpe de *B.cereus*, tendo sido o único microrganismo no qual se obtiveram resultados de inibição do crescimento através do teste de difusão por gota. Pode verificar-se também que a estirpe de *L.monocytogenes* não apresentou qualquer tipo de inibição de crescimento. *Zambrano et al.*[58] realizaram ensaios com extratos obtidos a partir de uma mistura hidroetanólica (etanol/água, 10:90), tendo como amostra uma variedade diferente da espécie *Malus domestica*, nos quais, e considerando a adição de 1 mg de extrato bruto dissolvido no mesmo solvente de extração a cada disco, obtiveram apenas uma ligeira inibição do crescimento em torno do disco de celulose para as bactérias *B.cereus*, *L.monocytogenes*, *S.aureus* e *E.coli*, mas não tendo obtido qualquer resultado de inibição para *P.aeruginosa*. [58] A explicação para a diferença de resultados obtidos pode dever-se a duas possíveis situações: a utilização de uma mistura de solventes com proporções diferentes, alterando assim as biomoléculas solubilizadas e, conseqüentemente, presentes nos extratos brutos, ou a utilização de uma quantidade de extrato cinco vezes inferior (1 mg vs. 5 mg no presente relatório).

Tabela 6 - Halo de inibição formado, em milímetros (mm), pelo ensaio de difusão em disco e de difusão por gota para os extratos brutos. MC - extrato obtido por maceração da casca; MP - extrato obtido por maceração da polpa; USC - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; USP - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.

Estirpes	Ensaio de difusão	Halo de inibição (mm) <sup>a</sup>			
		MC	MP	USC	USP
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Disco	-	-	10,88	-
	Gota	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 17853	Disco	6,0	6,0	6,0	6,0
	Gota	-	-	-	-
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	Disco	7,10	7,10	6,86	7,10
	Gota	7,96	-	6,11	4,0
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Disco	6,0	6,0	6,0	-
	Gota	-	-	-	-
<i>L. monocytogenes</i> NCTC 11944	Disco	-	-	-	-
	Gota	-	-	-	-

<sup>a</sup> Segundo a norma seguida (norma M2-A8 recomendada pelo CLSI) são considerados como halo de inibição os diâmetros superiores a 6,0 mm, uma vez que os discos de celulose usados têm um diâmetro de 6,0 mm. [46]

As figuras 3, 4, 5, 6 e 7 representam os registos fotográficos das placas de meio sólido, com os resultados do teste de difusão em disco e por gota.

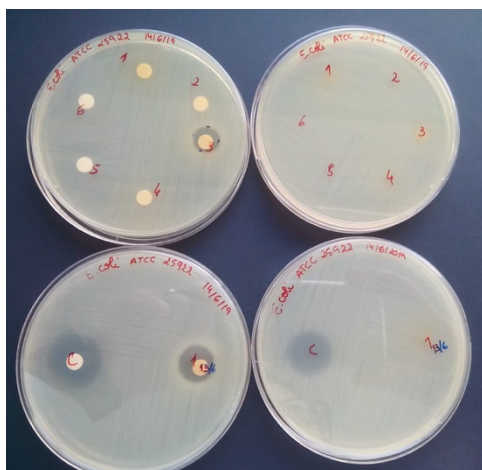


Figura 3 - Resultados obtidos com a estirpe *Escherichia coli* ATCC 25922. Volume de extrato utilizado por disco: 10  $\mu$ L; Volume de extrato utilizado por gota: 5  $\mu$ L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com cloranfenicol a 1%.

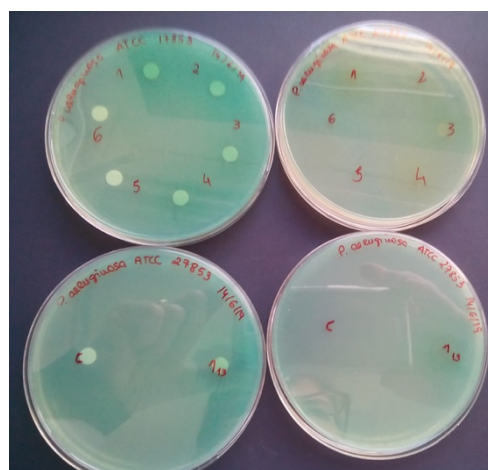


Figura 4 - Resultados obtidos com a estirpe *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Volume de extrato utilizado por disco: 10  $\mu$ L; Volume de extrato utilizado por gota: 5  $\mu$ L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com cloranfenicol a 1%.

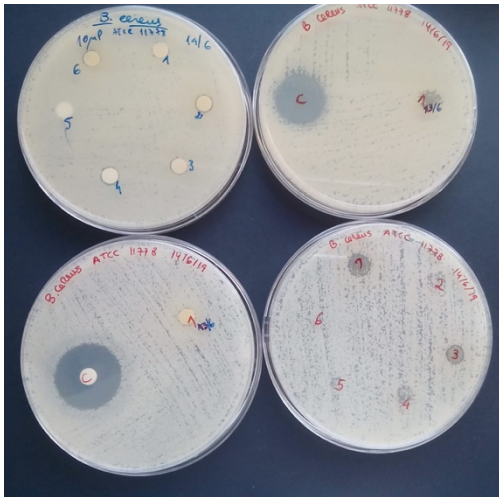


Figura 5 - Resultados obtidos com a estirpe *Bacillus cereus* ATCC 11778. Volume de extrato utilizado por disco: 10  $\mu$ L; Volume de extrato utilizado por gota: 5 $\mu$ L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com Cloranfenicol a 1%.

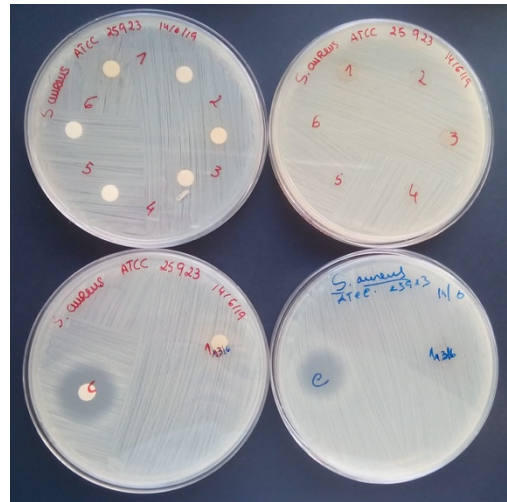


Figura 6 - Resultados obtidos com a estirpe *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Volume de extrato utilizado por disco: 10  $\mu$ L; Volume de extrato utilizado por gota: 5 $\mu$ L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com Cloranfenicol a 1%.

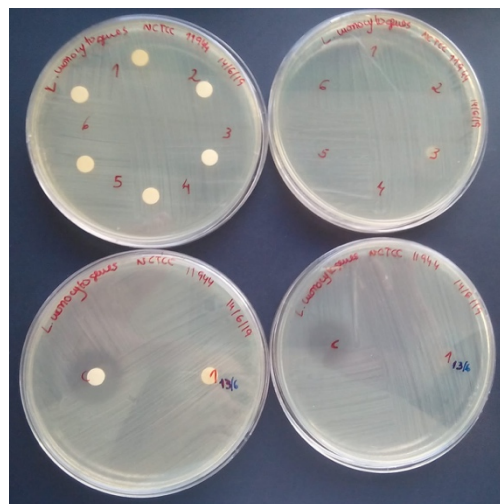


Figura 7 - Resultados obtidos com a estirpe *Listeria monocytogenes* NCTC 11944. Volume de extrato utilizado por disco: 10  $\mu$ L; Volume de extrato utilizado por gota: 5 $\mu$ L. 1 - Extrato obtido por maceração da casca; 2 - Extrato obtido por maceração da polpa; 3 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; 4 - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa; 5 - DMSO; 6 - NaCl a 0,85%. C - Controlo com Cloranfenicol a 1%.

A existência de halos de inibição, ainda que de reduzidas dimensões, para *P.aeruginosa* demonstra alguma relevância. Este microrganismo consegue, através da produção de biofilmes, sobreviver a tratamentos com antibióticos, mesmo em doses elevadas. Em algumas situações,

devido à existência dos biofilmes, a tolerância aos antibióticos é tão elevada que são necessárias concentrações que não podem ser alcançadas *in vivo* através da administração sistêmica dos mesmos.[59]

Resultados descritos por *Unnisa et al.*[60], descrevem a ocorrência de halos de inibição de 12,0 mm e 16,0 mm para *P. aeruginosa*. Importa considerar que este autor realizou os ensaios com extratos obtidos por maceração em água e em etanol e através da realização de poços de 8 mm no agar solidificado, nos quais foram colocados 100 µL de extrato bruto, fator que pode levar à existência de maiores zonas nas quais não se verifica o crescimento do microrganismo.[60]

#### 4.2.2. Determinação da Concentração Mínima Inibitória e da Concentração Mínima Bactericida

Na tabela 7 encontram-se registados os valores de CMI obtidos para as 4 estirpes estudadas, sendo 2 Gram positivo e 2 Gram negativo. Na tabela 8 figuram os resultados de CMB, obtidos a partir do terceiro ensaio de avaliação do potencial antimicrobiano.

*Tabela 7 - Concentrações mínimas inibitórias (CMI), em mg/mL, dos extratos analisados. MC - extrato obtido por maceração da casca; MP - extrato obtido por maceração da polpa; USC - extrato obtido com recurso a um banho de ultrassons da casca; USP - extrato obtido com recurso a um banho de ultrassons da polpa.*

	CMI (mg/mL)			
	MC	MP	USC	USP
<i>E.coli</i> ATCC 25922	> 250,0	> 250,0	250,0	> 250,0
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 17853	250,0	250,0	250,0	250,0
<i>B.cereus</i> ATCC 11778	31,25	31,25	31,25	31,25
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	125,0	250,0	125,0	250,0

*Tabela 8 - Concentrações mínimas bactericidas (CMB), em mg/mL, dos extratos analisados. MC - extrato obtido por maceração da casca; MP - extrato obtido por maceração da polpa; USC - extrato obtido com recurso a um banho de ultrassons da casca; USP - extrato obtido com recurso a um banho de ultrassons da polpa.*

	CMB (mg/mL)			
	MC	MP	USC	USP
<i>E.coli</i> ATCC 25922	> 250,0	> 250,0	> 250,0	> 250,0
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 17853	> 250,0	> 250,0	> 250,0	> 250,0
<i>B.cereus</i> ATCC 11778	> 250,0	> 250,0	> 250,0	> 250,0
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	> 250,0	> 250,0	> 250,0	> 250,0

As figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15 apresentam os registos fotográficos relativos às microplacas onde foi realizado o ensaio de determinação da CMI.

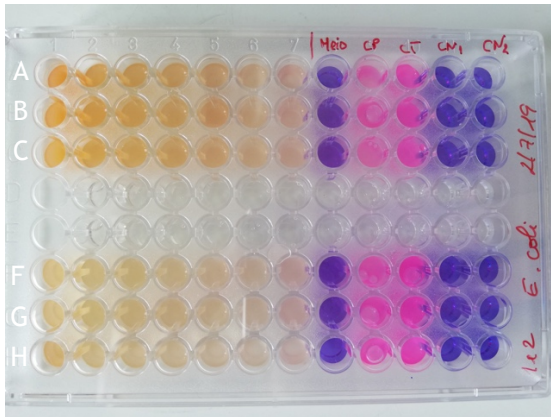


Figura 8 - Resultados obtidos com a estirpe *Escherichia coli* ATCC 25922. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa

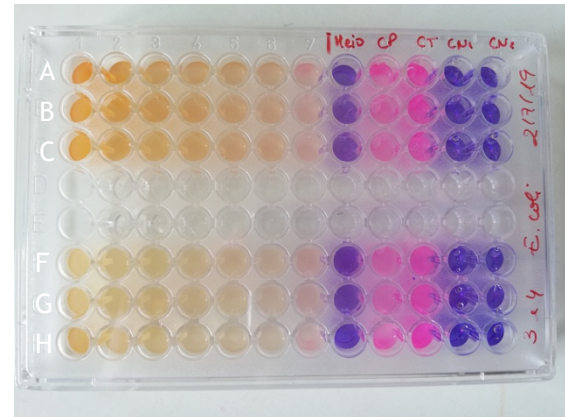


Figura 9 - Resultados obtidos com a estirpe *Escherichia coli* ATCC 25922. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.

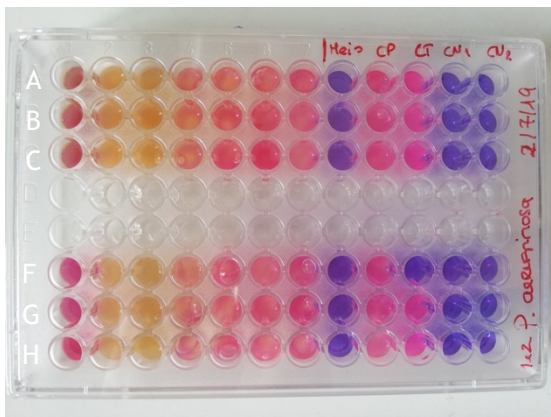


Figura 10 - Resultados obtidos com a estirpe *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa.

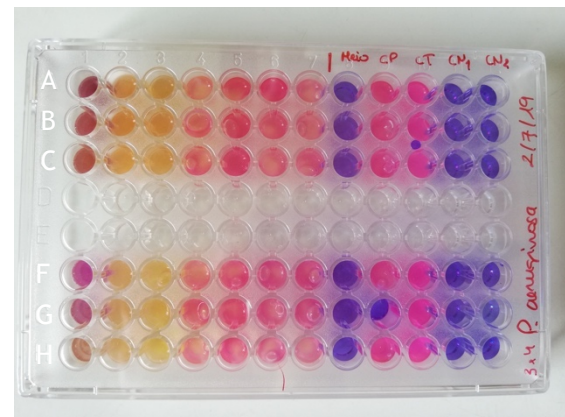


Figura 11 - Resultados obtidos com a estirpe *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.

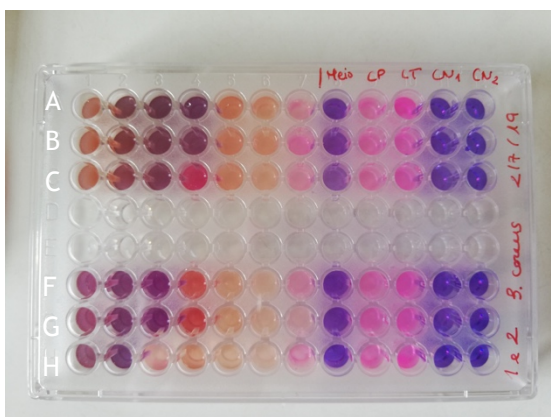


Figura 12 - Resultados obtidos com a estirpe *Bacillus cereus* ATCC 11778. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa.

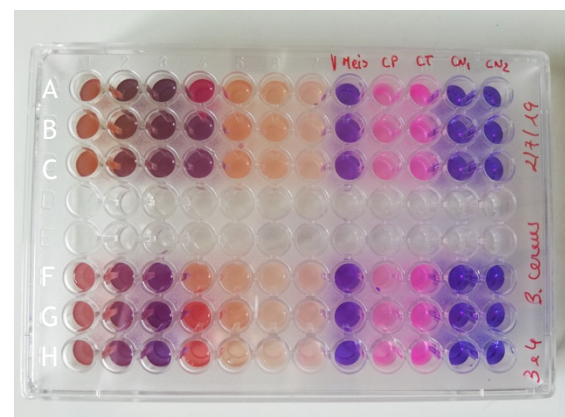


Figura 13 - Resultados obtidos com a estirpe *Bacillus cereus* ATCC 11778. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.

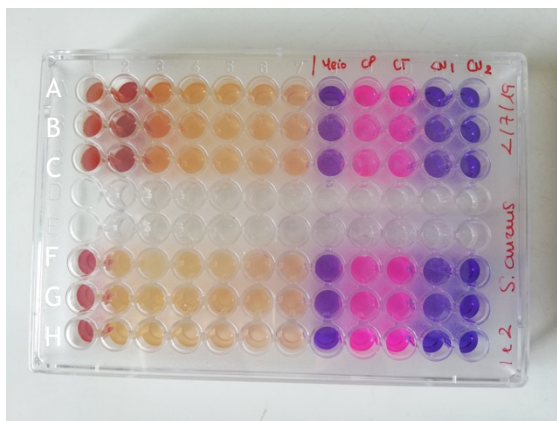


Figura 14 - Resultados obtidos com a estirpe *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Linhas A, B e C - extrato obtido por maceração da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido por maceração da polpa.

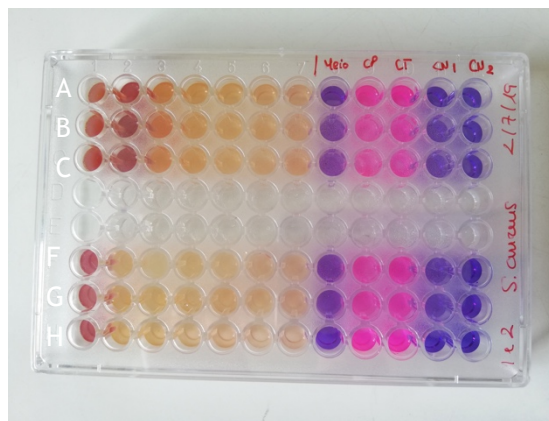


Figura 15 - Resultados obtidos com a estirpe *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Linhas A, B e C - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas F, G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.

A partir da análise das duas tabelas pode verificar-se que a estirpe com que foi possível obter resultados de CMI mais baixos foi *B.cereus*, tendo sido obtidas as CMI de 31,25 mg/mL. Através da diferença de valores de CMI obtidos para os vários extratos analisados no que corresponde à estirpe de *S.aureus* pode inferir-se a existência de um composto ao nível da casca da maçã BE que possa originar um valor mais baixo de concentração do extrato bruto. Para a estirpe de *P.aeruginosa*, e por comparação com os resultados em Anexo III, pode verificar-se que a CMI obtida foi de 250 mg/mL. Apesar de existirem poços da microplaca nos quais não é evidente a coloração rosa característica da presença de microrganismos após a adição de resazurina, apenas a primeira coluna das diversas placas em que foi testada esta estirpe se verifica a existência de uma coloração mais escura, e sem que exista crescimento bacteriano. Relativamente ao microrganismo *E.coli*, verifica-se que apenas o extrato USC, obtido com recurso a banho de ultrassons e cuja matriz em análise era a casca da maçã BE apresentou inibição do crescimento. Este fator pode resultar do facto de, devido à maior rutura das paredes celulares e conseqüente libertação de um maior número de biomoléculas, poder existir um composto que, embora em concentrações elevadas, seja responsável pela inibição do crescimento.

Através dos resultados apresentados na tabela 8, e por comparação com os valores de CMI obtidos e registados na tabela 7, pode concluir-se que com os valores de CMI indicados apenas ocorre inibição do crescimento das quatro estirpes em estudo, não sendo provocada a morte das mesmas.

Através da análise das microplacas pode ainda concluir-se que, na concentração utilizada como solvente dos extratos brutos, o DMSO a 2% (v/v) não exerce influência nos resultados obtidos, tendo sido verificado crescimento bacteriano em todos os poços onde se realizou o CTS.

Os resultados obtidos não se encontram de acordo com os previamente descritos na literatura, sendo superiores a estes. *Pires et al.*[50] utilizaram *snacks* de maçã BE, previamente descascados e desidratados e como solvente uma mistura hidrometanólica (metanol/água 80:20) para obter extratos. Após análise da atividade antimicrobiana, com recurso a estirpes isoladas de amostras de pacientes hospitalizados foram obtidos os valores de 5 mg/mL para *E.coli* e *S.aureus* suscetível à metilcilina e um valor de concentração superior a 20 mg/mL para *P.aeruginosa*. [50]

Num outro estudo, elaborado por *Zambrano et al.*[58], com recurso a uma mistura hidroetanólica (etanol/água, 10:90), e a partir de resíduos de *Malus domestica cv. Jonagold*, os valores de CMI obtidos demonstraram ser superiores aos reportados no presente relatório para a estirpe de *B.cereus*, para a qual foi obtida a CMI de 100 mg/mL. Para as culturas de *S.aureus* e *E.coli*, os resultados reportados por Zambrano encontram-se concordantes com os obtidos no presente estudo, sendo de CMI > 100 mg/mL. Contudo, para a bactéria *P.aeruginosa*, os autores do trabalho anteriormente referido reportam CMI de 100 mg/mL, resultado inferior ao obtido no presente relatório, de 250mg/mL.[58]

Ainda num terceiro estudo, *Unnisa et al.*[60] obtiveram extratos aquosos e etanólicos a partir de amostras frescas e posteriormente liofilizadas de *Malus domestica*, avaliando posteriormente a sua bioatividade contra estirpes isoladas de feridas de doentes. Através de diluições de 1:2 dos extratos brutos obtidos, os extratos etanólicos demonstraram como CMI 6 mg/mL para as estirpes isoladas de *S.aureus* e *P.aeruginosa*. Estes valores são então consideravelmente mais baixos que os obtidos no trabalho desenvolvido. De forma semelhante, para a estirpe de *E.coli* isolada, os valores de CMI alcançados por Unnisa foram de 10 mg/mL, valores inferiores aos obtidos no presente relatório. A determinação de valores inferiores mantém-se para as estirpes de *E.coli* e *S.aureus*, aquando da utilização de extratos aquosos. A diferença de valores obtidos pode dever-se não só às diferenças nos solventes e matrizes de extração utilizadas, mas também à suscetibilidade que os microrganismos isolados podem apresentar aos diferentes agentes com ação antibacteriana.[60]

Os valores de CMB não permitiram a comparação direta com outros valores obtidos a partir de *Malus domestica cv. Bravo-de-Esmolfe*. Uma vez que se trata de uma variedade regional, com origem genética em Esmolfe, não tendo sido encontrados estudos comparáveis com o realizado. No entanto, apesar da impossibilidade de comparação de resultados, os mesmos permitem concluir que a cultivar estudada não possui ação bactericida para concentrações inferiores a 250 mg/mL. Estes resultados são concordantes com os resultados de *Zambrano et al.* uma vez que os valores de CMB reportados para as diversas estirpes são > 100 mg/mL, para as diversas estirpes testadas.[58]

Os registos fotográficos dos resultados obtidos na determinação dos valores de CMB encontram-se em anexo. (Anexo IV)

## 5. Conclusões e Perspetivas Futuras

O trabalho desenvolvido pretendia avaliar a existência de potencial antimicrobiano em extratos obtidos a partir de maçã BE, variedade regional e característica da região de Esmolfe, na Beira Alta, Portugal. A utilização de duas matrizes provenientes da mesma amostra, casca e polpa, em separado permitiu verificar se poderiam existir diferenças ao nível dos compostos extraídos que pudessem justificar diferentes atividades dos extratos. A utilização de duas técnicas de extração distintas para um mesmo solvente pretendia também verificar se existiriam diferenças na quantidade de biomoléculas solubilizadas. Por fim, a utilização de um solvente distinto, o hexano, que apresenta polaridade menor do que a mistura hidroetanólica também utilizada pretendia permitir a obtenção de compostos apolares, contudo, e devido ao baixo rendimento da extração, não foi possível a sua utilização nos ensaios de determinação de bioatividade.

Para os quatro microrganismos testados, os extratos de maçã BE demonstraram possuir maior atividade na inibição do crescimento da estirpe de *Bacillus cereus*, com o valor de CMI de 31,25 mg/mL. A partir dos resultados obtidos pode concluir-se que existem diferenças quanto aos compostos presentes nos extratos obtidos a partir de duas matrizes distintas. Apesar de para a estirpe *B.cereus* os resultados se demonstrarem constantes, para a bactéria *S.aureus* os resultados de CMI obtidos a partir da casca são mais baixos do que os obtidos a partir da polpa, sugerindo assim a existência de compostos bioativos com maior capacidade de inibição do crescimento microbiano na casca. Relativamente à utilização de duas técnicas de obtenção de extratos distintas, pode inferir-se que não existem diferenças significativas na composição dos extratos obtidos, uma vez que, quando comparados os resultados dos extratos obtidos por maceração, com os resultados dos extratos obtidos com recurso ao banho de ultrassons, os mesmos apenas são discordantes para a bactéria *E.coli*, tendo sido obtidos resultados concordantes entre si quando comparados os valores registados para as restantes bactérias.

Os resultados obtidos não se encontram concordantes com os descritos na literatura para a mesma cultivar da espécie *Malus domestica*, contudo, é necessário ter em conta diferenças na composição dos extratos que são influenciadas pelos solventes e técnicas de extração utilizadas, pelo grau de maturação da maçã e período que decorreu desde a colheita até à realização das análises. Importa também considerar as condições a que os extratos e as amostras foram sujeitas, nomeadamente condições de luz, temperatura e humidade, capazes de impactar na degradação de compostos bioativos potencialmente presentes na maçã.

Embora os resultados não tenham sido satisfatórios, seria importante continuar a desenvolver estudos com amostras da variedade BE. A utilização de extratos fracionados, nos quais sejam isolados e identificados os compostos bioativos, com eliminação de açúcares e mucilagens poderá permitir obter resultados acerca do potencial antimicrobiano mais positivos. Assim, a utilização de técnicas de cromatografia que permitam separar compostos fenólicos e levem ao seu isolamento e purificação para posterior avaliação demonstram ser uma possibilidade para

estudos futuros. Da mesma forma, e considerando que os extratos estudados demonstraram alguma atividade, ainda que com concentrações elevadas, contra *P. aeruginosa*, seria interessante a análise e estudo da capacidade de inibição da formação de biofilmes.

Uma vez que a estirpe que demonstrou maior suscetibilidade à atividade dos extratos de maçã BE foi *B.cereus*, e sendo este um microrganismo associado a intoxicações alimentares após a ingestão de alimentos contaminados, seria pertinente a utilização, em estudos futuros, deste microrganismo de forma a verificar possíveis aplicações dos extratos de maçã BE como adjuvantes da conservação de alimentos.

## 6. Referências

1. Hintz T, Matthews KK, Di R. The Use of Plant Antimicrobial Compounds for Food Preservation. *Biomed Res Int*. 2015;2015:77-90.
2. Proença da Cunha, A. *Farmacognosia e Fitoquímica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian: 2005. Pages 58-60; 110; 113; 220; 293; 297; 310; 318; 346; 362.
3. Abdallah EM. Plants: An alternative source for antimicrobials. *J Appl Pharm Sci*. 2011;01(June):16-20.
4. Cowan MM. Plant Products As Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev* . 1999;12(4):564-82.
5. Gyawali R, Ibrahim SA. Natural Products as Antimicrobial Agents. *Food Control*. 2014;46:219-94.
6. da Cruz Cabral L, Fernández Pinto V, Patriarca A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. *Int J Food Microbiol*. 2013;166(1):1-14.
7. González-Lamothe R, Mitchell G, Gattuso M, Diarra MS, Malouin F, Bouarab K. Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. *Int J Mol Sci*. 2009;10(8):3400-19.
8. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010;15(10):7313-52.
9. Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Cicala C, Caiazza E, Izzo AA, Novellino E, Santini A. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phyther Res* . 2019;(May):1-23.
10. Salehi B, Venditti A, Sharifi-Rad M, Kręgiel D, Sharifi-Rad J, Durazzo A, Lucarini M, Santini A, Souto EB, Novellino E, Antolak H, Azzini E, Setzer WN, Martins N. The therapeutic potential of apigenin. *Int J Mol Sci*. 2019;20(1305):1-26.
11. Seelinger G, Merfort I, Schempp CM. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Med*. 2008;74(14):1667-77.
12. Farhadi F, Khameneh B, Iranshahi M, Iranshahy M. Antibacterial activity of flavonoids and their structure-activity relationship: An update review. *Phyther Res*. 2019;33(1):13-40.
13. Alvarez MA, Debattista NB, Pappano NB. Antimicrobial activity and synergism of some substituted flavonoids. *Folia Microbiol (Praha)*. 2008;53(1):23-8.

14. Gadkari PV, Balaraman M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. *Food Bioprod Process* . 2015;93(August 2013):122-38.
15. Mun S-H, Kang O-H, Joung D-K, Kim S-B, Seo Y-S, Choi J-G, Lee Y-S, Cha S-W, Ahn Y-S, Han S-H, Kwon D-Y. Combination therapy of sophoraflavanone B against MRSA: In vitro synergy testing. *Evidence-based Complement Altern Med* . 2013;2013:7.
16. Kuhnle GGC, Dell'Aquila C, Aspinall SM, Runswick SA, Joosen AMCP, Mulligan AA, Bingham SA. Phytoestrogen content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC-MS and <sup>13</sup>C-labelled standards. *Food Chem*. 2009;116(2):542-54.
17. Lin M, Han P, Li Y, Wang W, Lai D, Zhou L. Quinoa Secondary Metabolites and Their Biological Activities or Functions. *Molecules*. 2019;24(13):2512.
18. El-Najjar N, Gali-Muhtasib H, Ketola RA, Vuorela P, Urtti A, Vuorela H. The chemical and biological activities of quinones: Overview and implications in analytical detection. *Phytochem Rev*. 2011;10(3):353-70.
19. Lai PK, Roy J. Antimicrobial and Chemopreventive Properties of Herbs and Spices. *Curr Med Chem*. 2004;11:1451-60.
20. Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2016;2016:21.
21. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial activity of some essential oils - Present status and future perspectives. *Medicines*. 201; 4, 58.
22. Man A, Santacroce L, Jacob R, Mare A, Man L. Antimicrobial activity of six essential oils against a group of Human pathogens: A comparative study. *Pathogens*. 2019; 8, 15.
23. Judžentienė A, Misiūnas A. Chemical composition of apple-tree (*Malus domestica* Borkh.) leaf essential oils. *Chemija*. 2017; 28(3):172-176.
24. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts. *African J Tradit Complement Altern Med*. 2011;8(1):1-10.
25. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, Jahurul MHA, Ghafoor K, Norulaini NAN, Omar AKM. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng*. 2013;117(4):426-36.

26. Putnik P, Barba FJ, Lucini L, Rocchetti G, Montesano D. Conventional, non-conventional extraction techniques and new strategies for the recovery of bioactive compounds from plant material for human nutrition. *Food Res Int* [Internet]. 2019;123(May):516-7.
27. Luque de Castro MD, Priego-Capote F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *J Chromatogr A*. 2010;1217(16):2383-9.
28. Nn A. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med Aromat Plants*. 2015;04(03):3-8.
29. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson D, Lightfoot D. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*. 2017;6(4):42.
30. INE - Instituto Nacional de Estatística. Consumo humano de frutos *per capita* (kg/hab.) por espécie frutícola (Balanços de mercado).[cited 9 august 2019]. Available from: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&indOcorrCod=0000163&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=pt](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000163&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=pt)
31. Feliciano RP, Antunes C, Ramos A, Serra AT, Figueira ME, Duarte CMM, de Carvalho A, Bronze MR. Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1 - Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *J Funct Foods*. 2010;2(1):35-45.
32. Wu J, Gao H, Zhao L, Liao X, Chen F, Wang Z, Hu X. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chem*. 2007;103(1):88-93.
33. Franco P. Características Físico-químicas, Propriedades Funcionais e Perfil de Compostos Fenólicos de 17 Variedades de Maçãs Portuguesas. Tese de Doutoramento em Qualidade Alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade Nova de Lisboa. 2014.
34. Boyer J, Liu RH. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr J* [Internet]. 2004 May;3(1):5.
35. Lozano JE. Fruit Manufacturing - Scientific Basis, Engineering Properties, and Deteriorative Reactions of Technological Importance [Internet]. Barbosa-Cánovas GV (Washington SU, editor). *Food Engineering Chemical Engineering for the Food Industry Thermal Processing of Packaged Foods*. Bahia Blanca, Argentina; 1999. 230 p.
36. Tsao R, Yang R, Young JC, Zhu H. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *J Agric Food Chem*. 2003;51(21):6347-53.
37. Ministério da Agricultura. Gabinete do Secretário de Estado dos Mercados Agrícolas e Qualidade Alimentar. Anexo I: Principais Características da “MAÇÃ BRAVO DE ESMOLFE”. [cited

12 june 2019]. Available from: [https://tradicional.dgadr.gov.pt/images/prod\\_imagens/frescos/docs/CE\\_maca\\_bravoeshmolfe.pdf](https://tradicional.dgadr.gov.pt/images/prod_imagens/frescos/docs/CE_maca_bravoeshmolfe.pdf)

38. DRAP Centro - Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro. Maçã Bravo de Esmolfe DOP.[cited 12 june 2019]. Available from: [http://ptqc.drapc.min-agricultura.pt/documentos/maca\\_bravo\\_esmolfe.pdf](http://ptqc.drapc.min-agricultura.pt/documentos/maca_bravo_esmolfe.pdf)

39. FELBA - Promoção das Frutas e Legumes da Beira Alta, A.C.E. O impacro das DOP/IPG na Fileira: Valorizar o que é nosso.[cited 9 july 2019]. Available from: [http://ptqc.drapc.min-agricultura.pt/documentos/maca\\_bravo\\_esmolfe.pdf](http://ptqc.drapc.min-agricultura.pt/documentos/maca_bravo_esmolfe.pdf)

40. Diário da República. Despacho n.º 58/94, de 15 de fevereiro. 1994. Available from: [https://tradicional.dgadr.gov.pt/images/prod\\_imagens/frescos/docs/Desp\\_n\\_58\\_94\\_maca\\_bravoeshmolfe.pdf](https://tradicional.dgadr.gov.pt/images/prod_imagens/frescos/docs/Desp_n_58_94_maca_bravoeshmolfe.pdf)

41. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2015;13(1):42-51.

42. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*. 2016;4(2):1-37.

43. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*. 2016;6(2):71-9.

44. World Health Organization. Antimicrobial resistance [Web page] Geneva.[cited 12 may 2019]. Available from: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/en/>

45. Peterson E, Kaur P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. *Front Microbiol*. 2018;9(NOV):1-21.

46. Clinical Laboratory Standards Institute. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada. 8ª edição. Vol 23. 2003.

47. Biemer JJ. Antimicrobial Susceptibility Testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method. *Ann Clin Lab Sci*. 1973;3(2):135-40.

48. Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 2007;42(4):321-4.

49. Clinical Laboratory Standards Institute. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactérias de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada. 6ª edição. Vol 23. 2003.
50. Pires TCSP, Dias MI, Barros L, Alves MJ, Oliveira MBPP, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Antioxidant and antimicrobial properties of dried Portuguese apple variety (*Malus domestica* Borkh. cv Bravo de Esmolfe). *Food Chem* [Internet]. 2018;240(July 2017):701-6.
51. Grigoras CG, Destandau E, Fougère L, Elfakir C. Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. *Ind Crops Prod*. 2013;49:794-804.
52. Jayaraman SK, Manoharan MS, Illanchezian S. Antibacterial , Antifungal and Tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extracts. *Int J Integr Biol*. 2008;3(1):44-9.
53. Chuah EL, Zakaria ZA, Suhaili Z, Abu Bakar S, Desa MNM. Antimicrobial Activities of Plant Extracts against Methicillin-Susceptible and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Microbiol Res*. 2014;4(1):6-13.
54. Sowa A, Zgórk G, Szykuba A, Franciczek R, Gbikowska B, Gamian A, Sroka Z. Analysis of polyphenolic compounds in extracts from leaves of some *Malus domestica* cultivars: Antiradical and antimicrobial analysis of these extracts. *Biomed Res Int*. 2016;2016:12.
55. Cos P, Vlietinck AJ, Berghe D Vanden, Maes L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro “proof-of-concept.” *J Ethnopharmacol*. 2006;106(3):290-302.
56. Catalão M. Caracterização fitoquímica e avaliação das propriedades antimicrobianas de cerejas do Fundão. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. Faculdade de Ciências, Universidade da Beira Interior. 2016.
57. Bastos C, Barros L, Dueñas M, Calhelha RC, Queiroz MJRP, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: The widely studied fruits and the unexplored stems. *Food Chemistry*. 2015; 173: 1045-1053.
58. Zambrano C, Kerekes EB, Kotogán A, Papp T, Vágvölgyi C, Krisch J, Takó M. Antimicrobial activity of grape, apple and pitahaya residue extracts after carbohydrase treatment against food-related bacteria. *Lwt*. 2019;100(October 2018):416-25.
59. Ciofu O, Tolker-Nielsen T. Tolerance and Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms to Antimicrobial Agents - How *P. aeruginosa* Can Escape Antibiotics. *Front Microbiol* [Internet]. 2019;10(May):1-15.

60. Unnisa N, Tabassum H, Mir Naiman A, Ponia K. Evaluation of Antibacterial Activity of Five Selected Fruits on Bacterial Wound Isolates. *Int J Pharma Bio Sci.* 2012;3(4):531-46.



# ANEXOS

## Anexo I - Lista de situações passíveis de automedicação

Tabela 9 - Lista de Situações Passíveis de Automedicação. Retirado de [15]

<b>Sistema Digestivo</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Diarreia;</li><li>- Hemorróidas (diagnóstico confirmado);</li><li>- Pirose, enfartamento, flatulência;</li><li>- Obstipação;</li><li>- Vômitos, enjoo do movimento;</li><li>- Higiene oral e da orofaringe;</li><li>- Endoparasitoses intestinais;</li><li>- Estomatites (excluindo as graves) e gengivites;</li><li>- Odontalgias;</li><li>- Profilaxia da cárie dentária;</li><li>- Candidíase oral recorrente com diagnóstico médico prévio;</li><li>- Modificação dos termos de higiene oral por desinfecção oral;</li><li>- Estomatite aftosa.</li></ul>
<b>Sistema respiratório</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Sintomatologia associada a estados gripais e constipações;</li><li>- Odinofagia, faringite (excluindo amigdalite);</li><li>- Rinorreia e congestão nasal;</li><li>- Tosse e rouquidão;</li><li>- Tratamento sintomático da rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio;</li><li>- Adjuvante mucolítico do tratamento antibacteriano das infecções respiratórias em presença de hipersecreção brônquica;</li><li>- Prevenção e tratamento de rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio (corticoide em inalador nasal).</li></ul>
<b>Sistema cutâneo</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Queimaduras de 1º grau, incluindo queimaduras solares;</li><li>- Verrugas;</li><li>- Acne ligeiro a moderado;</li><li>- Desinfecção e higiene da pele e mucosas;</li><li>- Micoses interdigitais;</li><li>- Ectoparasitoses;</li><li>- Picadas de insetos;</li><li>- <i>Pitiríase capitis</i> (caspa);</li><li>- Herpes labial;</li><li>- Feridas superficiais;</li><li>- Dermatite das fraldas;</li><li>- Seborreia;</li><li>- Alopecia;</li><li>- Calos e calosidades;</li><li>- Frieiras;</li><li>- Tratamento da pitiríase versicolor;</li><li>- Candidíase balânica;</li><li>- Anestesia tópica em mucosas e pele nomeadamente mucosa oral e retal;</li><li>- Tratamento sintomático localizado de eczema e dermatite com diagnóstico médico prévio.</li></ul>
<b>Sistema Nervoso</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Cefaleias ligeiras a moderadas;</li><li>- Tratamento da dependência da nicotina para alívio dos sintomas de privação desta substância em pessoas que desejem deixar de fumar;</li><li>- Enxaqueca com diagnóstico médico prévio;</li><li>- Ansiedade ligeira temporária;</li><li>- Dificuldade temporária em adormecer.</li></ul>
<b>Sistema Muscular/Ósseo</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Dores musculares ligeiras a moderadas;</li><li>- Contusões;</li><li>- Dores pós-traumáticas;</li><li>- Dores reumáticas ligeiras a moderadas (osteoartrose/osteoartrite);</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Dores articulares ligeiras a moderadas;</li> <li>– Tratamento tópico de sinovites, artrites (não infecciosa), bursites, tendinites;</li> <li>– Inflamação moderada de origem músculo esquelética nomeadamente pós-traumática ou de origem reumática.</li> </ul>
<b>Geral</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Febre (menos de 3 dias);</li> <li>– Estados de astenia de causa identificada;</li> <li>– Prevenção de avitaminoses.</li> </ul>
<b>Sistema Ocular</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Hiposecreção conjuntival, irritação ocular de duração inferior a três dias;</li> <li>– Tratamento preventivo da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio;</li> <li>– Tratamento sintomático da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio</li> </ul>
<b>Sistema Ginecológico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Dismenorreia primária;</li> <li>– Contraceção de emergência;</li> <li>– Métodos contraceptivos de barreira e químicos;</li> <li>– Higiene vaginal;</li> <li>– Modificação dos termos de higiene vaginal por desinfeção vaginal;</li> <li>– Candidíase vaginal recorrente com diagnóstico médico prévio;</li> <li>– Terapêutica tópica das alterações tróficas do trato génito-urinário inferior acompanhadas de queixas vaginais como dispareunia, secura e prurido.</li> </ul>
<b>Sistema Vascular</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Síndrome varicosa - terapêutica tópica adjuvante;</li> <li>– Tratamento sintomático por via oral da insuficiência venosa crónica (com descrição da sintomatologia)</li> </ul>

Anexo II - Certificado de Participação na Formação “1º Curso Uriage”



**URIAGE**  
EAU THERMALE


**CERTIFICADO**

Certifica-se que o (a) Exmo. (a) Sr. (a)

**Rui Relvas**

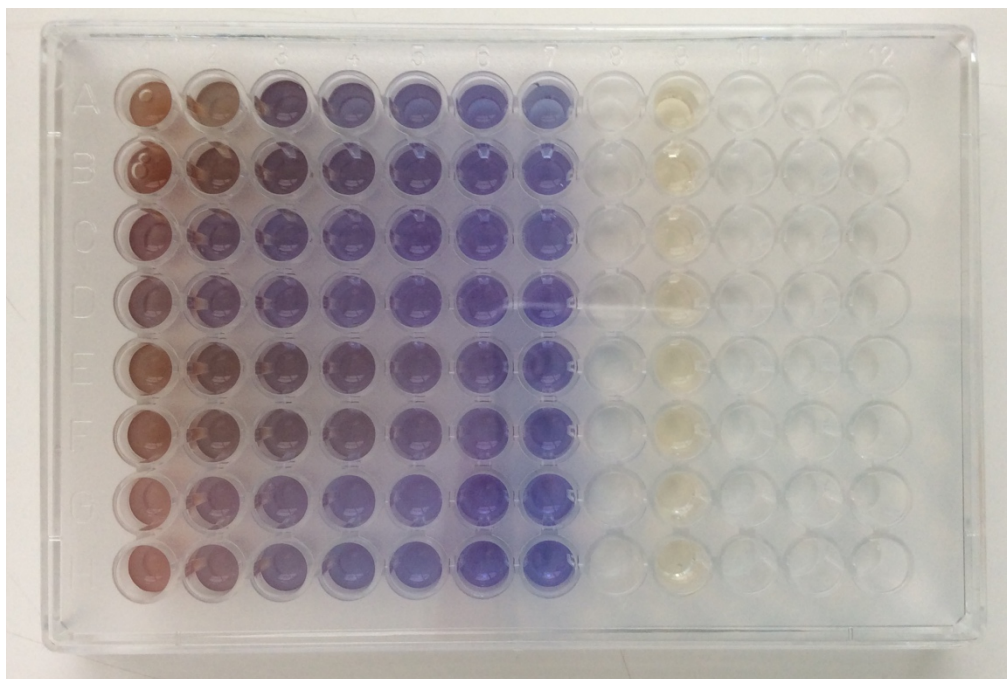
Efetuu o 1º Curso Uriage realizado no Hotel Tryp Colina do Castelo, a 20 de Março de 2019

Com a duração de 3,5 horas

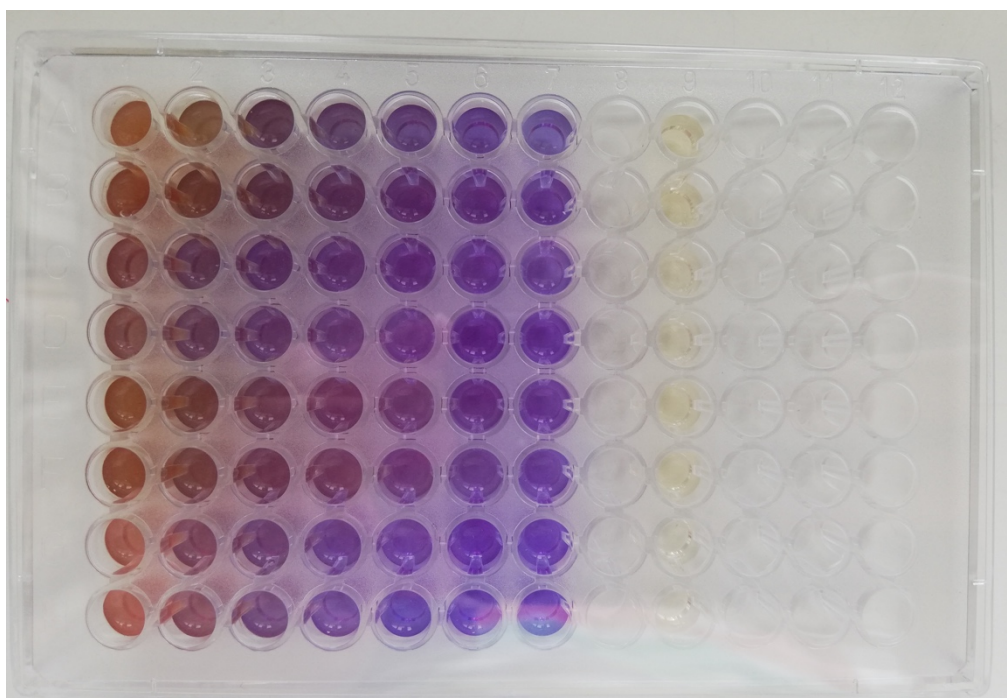
  
Dina Barreiros

URIAGE, ÁGUA THERMAL DOS ALPES FRANÇAISES

**Anexo III - Registo da coloração resultante da adição de resazurina aos extratos na gama de concentrações testada**



*Figura III.1 - Resultados obtidos após adição de resazurina a 0,01% aos extratos, nas diferentes concentrações em estudo no ensaio de determinação da CMI, antes da incubação. Linhas A e B - extrato obtido por maceração da casca; Linhas C e D - extrato obtido por maceração da polpa; Linhas E e F - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.*



*Figura III.2 - Resultados obtidos após adição de resazurina a 0,01% aos extratos, nas diferentes concentrações em estudo no ensaio de determinação da CMI, após incubação a 37°C, por 1 hora. Linhas A e B - extrato obtido por maceração da casca; Linhas C e D - extrato obtido por maceração da polpa; Linhas E e F - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; Linhas G e H - extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa.*

Anexo IV - Resultados obtidos na determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB)

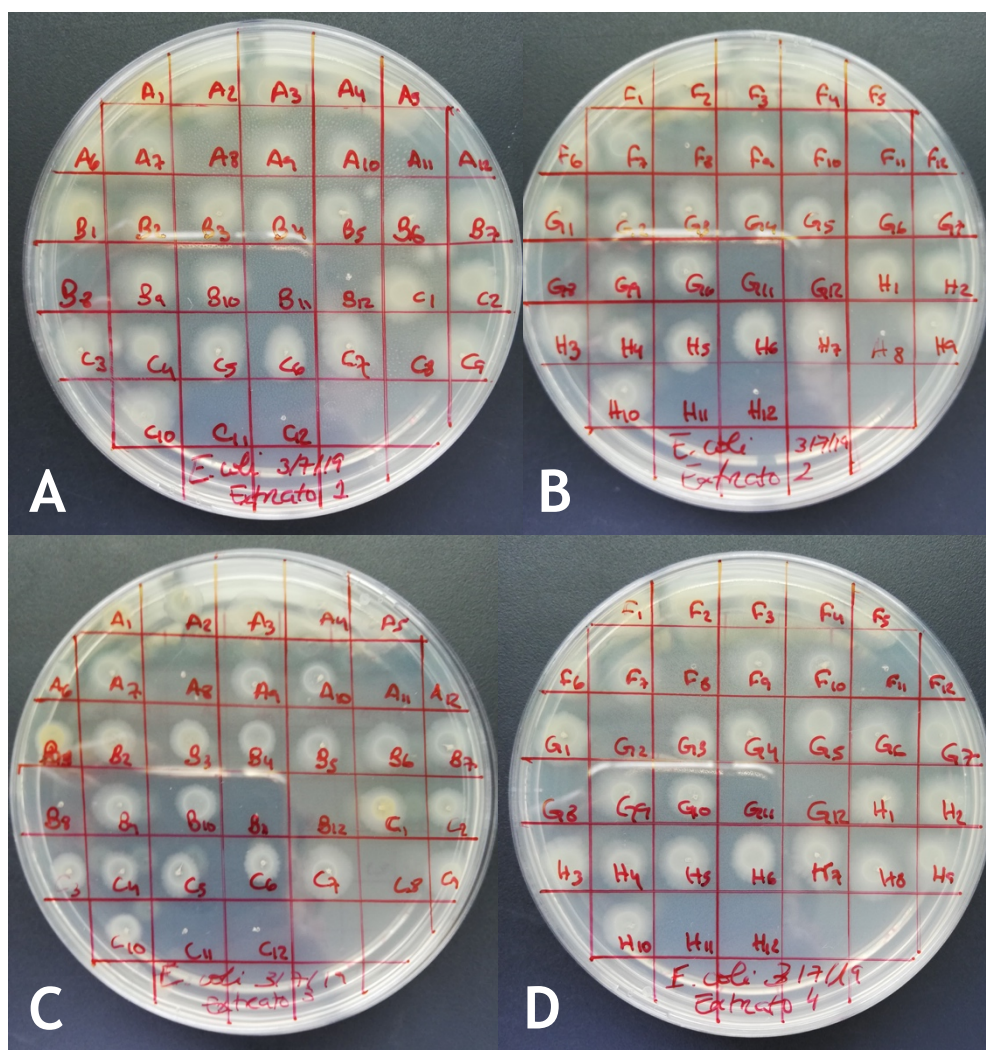


Figura IV.1 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe *Escherichia coli* ATCC 25922. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo.

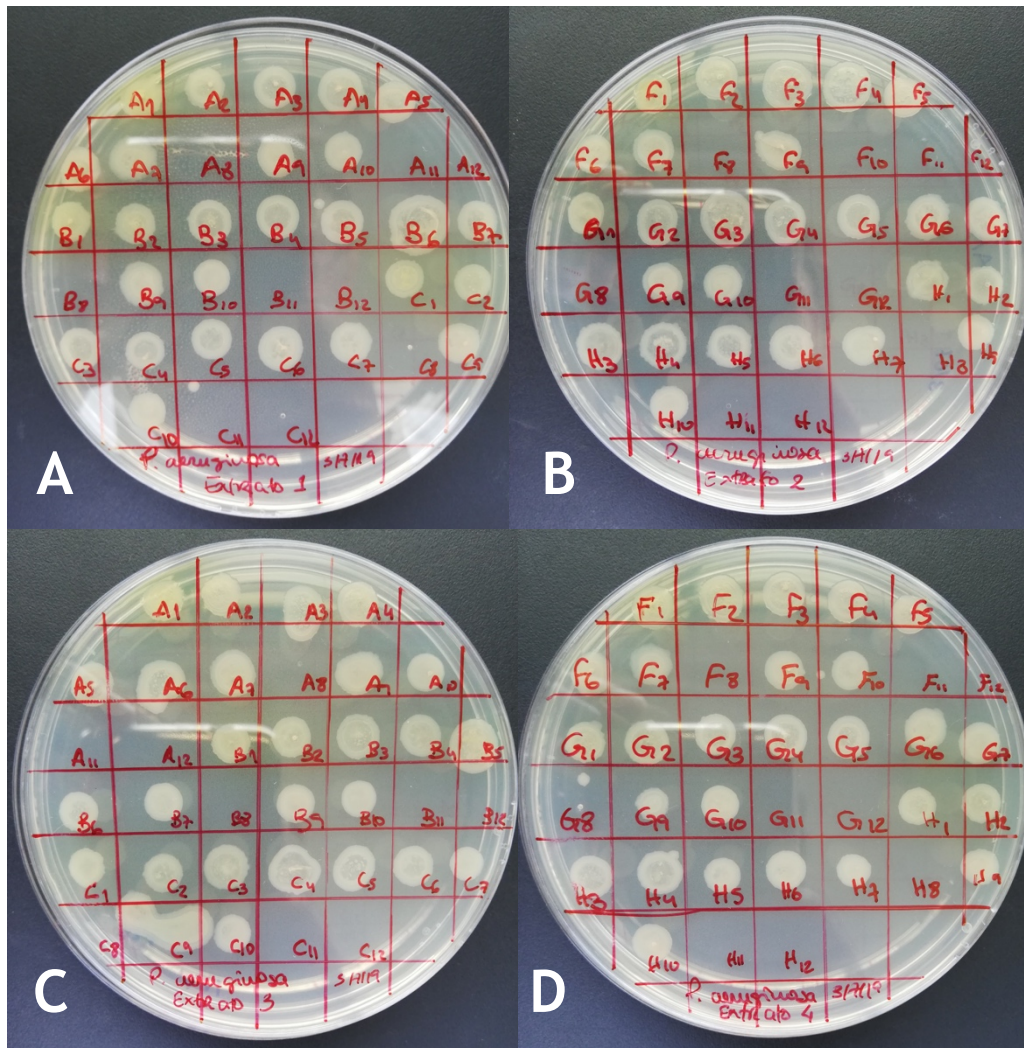


Figura IV.2 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo.

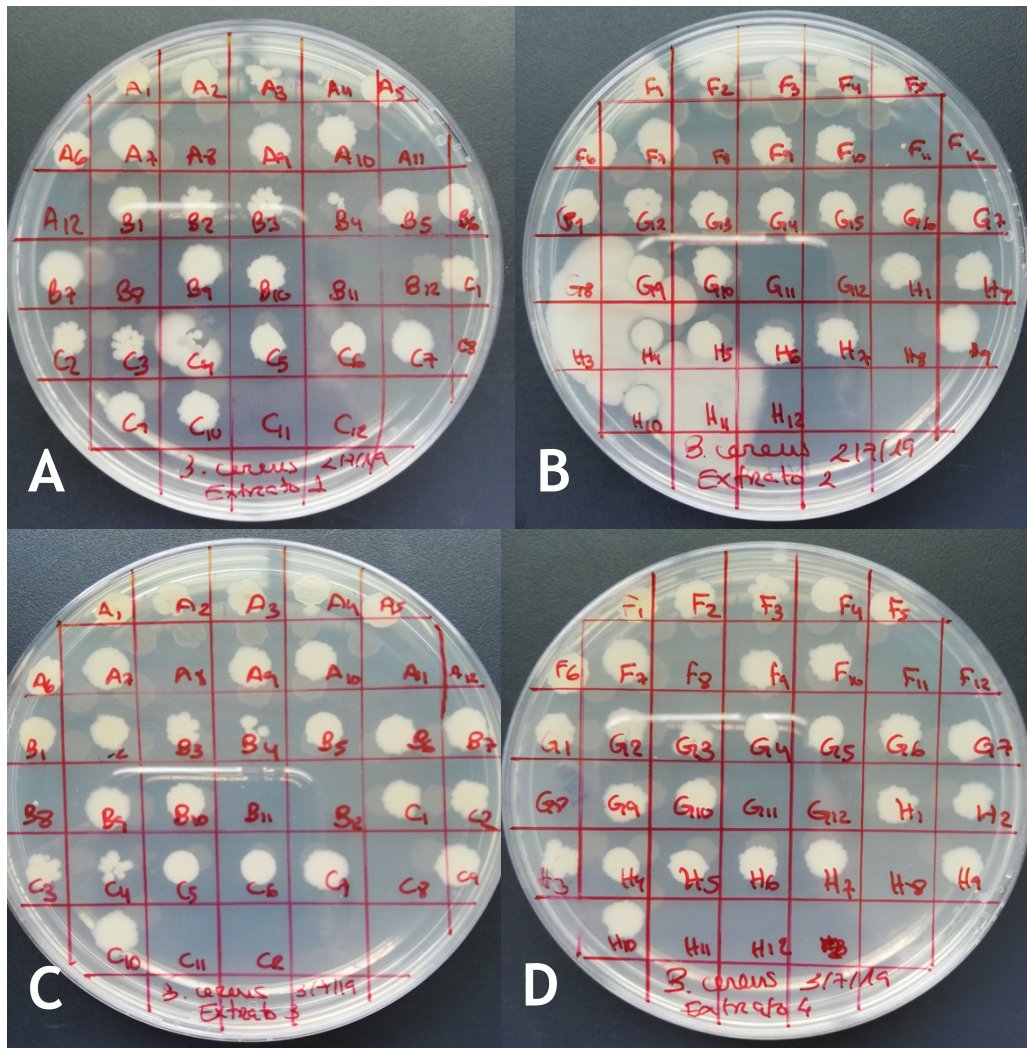


Figura IV.3 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe *Bacillus cereus* ATCC 11778. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo.

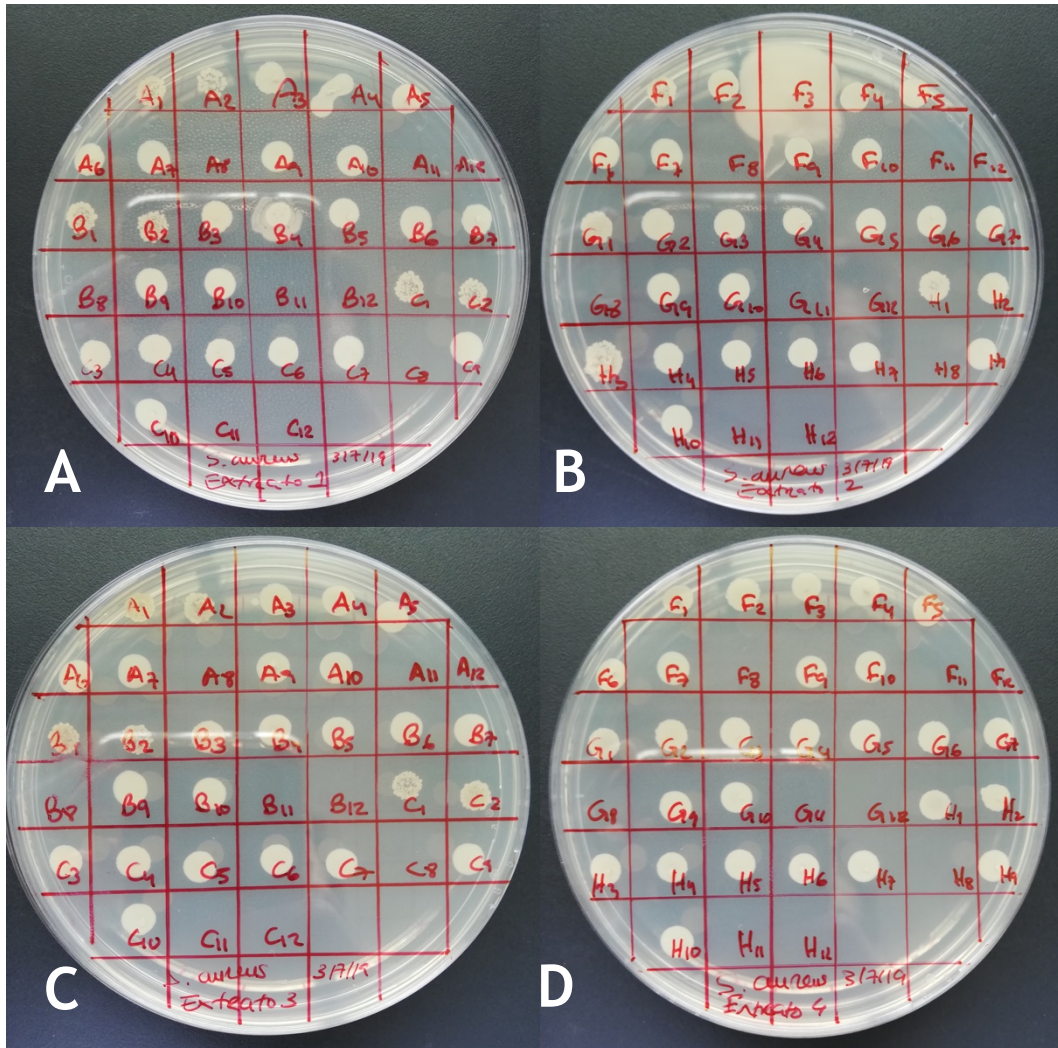


Figura IV.4 - Resultados obtidos na determinação da CMB para a estirpe *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A - Extrato obtido por maceração da casca; B - Extrato obtido por maceração da polpa; C - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da casca; D - Extrato obtido com recurso a banho de ultrassons da polpa. Verifica-se que ocorreu crescimento bacteriano em todas as gotas correspondentes aos poços A1-A7, B1-B7, C1-C7, F1-F7, G1-G7, H1-H7, correspondentes às várias concentrações em estudo.