



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências da Saúde

**Efeito da Adenosina Sobre a Patogenicidade de  
*Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Typhimurium  
Experiência Profissionalizante na Vertente de Farmácia  
Comunitária, Hospitalar e Investigação**

**Ana Rita Gomes da Silva**

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em  
**Ciências Farmacêuticas**  
(ciclo de estudos integrado)

Orientadora: Doutora Susana Ferreira  
Coorientadora: Professora Doutora Fernanda Domingues

**Covilhã, Outubro de 2016**



# Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à minha orientadora, Doutora Susana Ferreira, pela disponibilidade, pelo apoio e pelos ensinamentos que me transmitiu e me permitiram a concretização deste trabalho. Agradecer também à minha coorientadora, Professora Doutora Fernanda Domingues, e às minhas colegas de laboratório, em especial à Mestre Joana Tomás, que sempre se disponibilizaram para qualquer tipo de ajuda.

À equipa de profissionais, quer da farmácia Holon Covilhã, quer do Centro Hospitalar Cova da Beira, que me acompanharam no estágio curricular, o meu muito obrigada, pela simpatia e pelos conhecimentos passados, que com certeza me irão auxiliar no futuro.

Por último, mas não menos importante, aos meus pais por todos os sacrifícios, aos meus amigos e ao meu namorado pelo apoio que me prestaram nos momentos mais difíceis e pelas alegrias que estes me proporcionaram e irão por certo continuar a proporcionar.



*“It is impossible to live without failing at something, unless you live so cautiously that you might as well not have lived at all - in which case, you fail by default.”*

J.K. Rowling



# Resumo

O presente trabalho encontra-se dividido em três capítulos: relatório de estágio em farmácia comunitária, relatório de estágio em farmácia hospitalar e trabalho de investigação. Ao longo do primeiro capítulo estão descritas as atividades onde participei, bem como o conhecimento e competências que adquiri relativos à farmácia comunitária no meu estágio curricular na farmácia Holon Covilhã. No segundo capítulo, de forma semelhante ao primeiro, encontra-se descrito o que observei e realizei no estágio curricular no Centro Hospitalar Cova da Beira. Por último, no terceiro capítulo está descrito o meu trabalho de investigação desenvolvido no Centro de Investigação em Ciências da Saúde. Considerando o papel da adenosina na promoção ou inibição da virulência descrito para alguns microrganismos, este trabalho teve por objetivo principal avaliar o efeito da adenosina na patogenicidade de dois microrganismos: *S. aureus* e *S. Typhimurium*. Para tal determinou-se o efeito deste composto sobre o crescimento destas bactérias e em diversos fatores de virulência. Assim, a ação da adenosina foi avaliada sobre a capacidade de formação de biofilmes de ambas as bactérias; sobre a atividade hemolítica, lipolítica e ainda sobre a produção de estafiloxantina por *S. aureus*; sobre a motilidade de *S. Typhimurium*; e no mecanismo de “*quorum sensing*”. Com este trabalho foi possível verificar que a adenosina nas concentrações testadas interfere com a patogenicidade de ambos os microrganismos, inibindo o crescimento e a formação de biofilmes de ambos, inibindo a motilidade de tipo *swarming* de *S. Typhimurium*, e dependendo da estirpe avaliada, influenciando alguns dos fatores de virulência de *S. aureus*. Como tal, este trabalho veio salientar a importância deste nucleósido na patogenicidade de *S. aureus* e *S. Typhimurium*.

## Palavras-chave

Farmácia Comunitária; Farmácia Hospitalar; Patogenicidade; *S. aureus*; *S. Typhimurium*; Adenosina.



# Abstract

The work here presented is divided in three chapters, regarding to the knowledge acquired during the internship at a community pharmacy, at a hospital pharmacy and to the research work performed, respectively. The first chapter summarizes the activities, the knowledge and the skills acquired during my internship at Farmácia Holon Covilhã. The second one, as the first, refers to what I observed and performed at my internship at Centro Hospitalar Cova da Beira. The last chapter concerns to the research work that took place at Centro de Investigação em Ciências da Saúde. Considering, the adenosine's role in the promotion or inhibition of bacterial virulence previously described for some microorganisms, the main objective of this work was to determinate the effect of adenosine in the pathogenicity of *S. aureus* and *S. Typhimurium*. Therefore, the effect of this molecule upon growth and several virulence factors of these bacteria was evaluated. Thus, the role of adenosine in the biofilm formation ability of both bacteria; in the haemolytic and lipolytic activity, and in the production of staphyloxanthin by *S. aureus*; as well as in the motility of *S. Typhimurium* and its possible interference in the quorum sensing were assessed. The results showed that, at the tested concentrations, adenosine interfere in both microorganisms pathogenicity, reducing growth and the biofilm formation of both bacteria, inhibiting the swarming motility of *S. Typhimurium*, and influencing several virulence factors of *S. aureus*, with dependence of the tested strain. Thereby, this study has highlighted the relevance of this nucleoside in the pathogenicity of both *S. aureus* and *S. Typhimurium*.

## Keywords

Community Pharmacy; Hospital Pharmacy; Pathogenicity; *S. aureus*; *S. Typhimurium*; Adenosine.



# Índice

<b>Capítulo 1- Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária</b> .....	<b>1</b>
1. Introdução .....	1
2. Organização da farmácia .....	1
2.1. Recursos Humanos .....	1
2.2. Espaço físico da farmácia .....	2
3. Informação e documentação científica .....	2
4. Aprovisionamento e armazenamento .....	3
4.1. Seleção dos fornecedores .....	3
4.2. Realização, receção e armazenamento de encomendas .....	3
4.3. Devolução de produtos .....	3
5. Atendimento .....	4
5.1. Casos práticos .....	4
5.1.1. Jovem com cálculos renais .....	5
5.1.2. Homem com estilhaço no olho .....	5
5.1.3. Utente com infeção respiratória .....	6
5.1.4. Jovem com sintomatologia de infeção urinária .....	6
5.1.5. Suplemento vitamínico .....	7
5.1.6. Lactente com uma lesão no pescoço .....	7
5.1.7. Tratamento da gota com colquicina .....	8
5.1.8. Senhora com hipocaliemia .....	8
5.1.9. Tosse seca vs tosse produtiva .....	9
6. Receituário .....	9
6.1. Receitas de estupefacientes e psicotrópicos .....	12
7. Farmácias Holon .....	12
7.1. Produtos Holon .....	12
7.2. Serviços prestados .....	13
7.2.1. Serviço de Nutrição .....	13
7.2.2. Serviço do Pé Diabético .....	14
7.2.3. Serviço de Podologia .....	15
7.2.4. Serviço de Dermofarmácia .....	15
7.2.5. Serviço de Consulta Farmacêutica e Preparação Individualizada da Medicação .....	16
7.2.6. Serviço de Cessação Tabágica .....	16
7.2.7. Serviço Respirar Melhor .....	17

7.2.8. Serviço de Consulta do Viajante .....	18
7.2.9. Serviço de Reabilitação Auditiva .....	18
7.2.10. Serviço <i>Check-Saúde</i> .....	19
8. Sistema de gestão da qualidade .....	19
9. Discussão e conclusão.....	20
10. Referências bibliográficas.....	22
<b>Capítulo 2- Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar .....</b>	<b>24</b>
1. Introdução .....	24
2. Organização dos Serviços Farmacêuticos hospitalares.....	25
2.1. Recursos Humanos .....	25
2.2. Espaço físico .....	25
3. Seleção, aquisição e receção de medicamentos no CHCB.....	26
3.1. Seleção de medicamentos .....	26
3.2. Aquisição de medicamentos.....	27
3.3. Autorizações de utilização especial .....	28
3.4. Receção de encomendas.....	29
4. Sinalética de medicamentos no CHCB .....	29
4.1. Medicamentos fotossensíveis .....	29
4.2. Medicamentos potencialmente perigosos.....	29
4.3. Medicamentos <i>look-alike, sound-alike</i> .....	30
4.4. Embalagens idênticas .....	30
5. Distribuição .....	31
5.1. Reposição de stocks nivelados: introdução.....	31
5.1.1. Organização do armazém central .....	32
5.1.2. Reposição de stocks: carros de <i>stocks</i> nivelados, Pyxis®, farmácia do Hospital do Fundão, armazém de ambulatório e serviços clínicos do CHCB .....	32
5.1.3. Controlo de <i>stocks</i> e validades dos armazéns dos Serviços Farmacêuticos ....	34
5.2. Distribuição a doentes em ambulatório.....	35
5.3. Circuito de estupefacientes e psicotrópicos .....	37
5.4. Circuito de hemoderivados.....	38
5.5. Distribuição em dose unitária e/ou individual.....	38
5.5.1. Pedidos urgentes de medicação .....	40
5.5.2. Devolução da medicação não administrada .....	40
5.5.3. Preparação da medicação para o fim-de-semana .....	40
6. Farmacêutico clínico.....	41
7. Farmacocinética clínica .....	42

8.	Farmacotecnia .....	43
8.1.	Procedimento para a preparação dos citotóxicos .....	43
8.1.1.	Instalações.....	44
8.1.2.	Operadores .....	45
8.1.3.	Equipamento de proteção pessoal.....	46
8.2.	Preparação de manipulados estéreis .....	47
8.2.1.	Preparação de bolsas de nutrição parentérica .....	47
8.3.	Controlo microbiológico .....	49
8.4.	Manipulados não estéreis .....	49
8.5.	Reembalagem de medicamentos.....	51
9.	Ensaio clínico .....	51
9.1.	Instalações e equipamentos.....	52
9.2.	Receção da medicação.....	52
9.3.	Prescrição da medicação .....	52
9.4.	Dispensa da medicação .....	53
10.	Sistema de gestão da qualidade.....	53
10.1.	Indicadores/objetivos da área de aquisição de medicamentos .....	53
10.2.	Indicadores/objetivos da distribuição por níveis .....	53
10.3.	Indicadores/objetivos da área da conferência e armazenamento de medicamentos .....	54
10.4.	Indicadores/objetivos da distribuição em ambulatório .....	54
10.5.	Indicadores/objetivos da distribuição em dose unitária e/ou individual .....	54
10.6.	Indicadores/objetivos da área da farmacotecnia .....	54
10.7.	Indicadores/objetivos da área da farmacovigilância e farmácia clínica .....	55
10.8.	Indicadores/objetivos da área da informação .....	55
10.9.	Indicadores/objetivos da área da farmacocinética .....	55
10.10.	Indicadores/objetivos da área dos ensaios clínicos .....	55
10.11.	Indicadores/objetivos da área dos gases medicinais .....	55
11.	Discussão e conclusão .....	56
12.	Referências bibliográficas.....	57

**Capítulo 3- Efeito da Adenosina Sobre a Patogenicidade de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Typhimurium* ..... 58**

1.	Introdução .....	58
1.1.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	58
1.1.1.	Fatores de virulência de <i>S. aureus</i> .....	59
1.2.	<i>Salmonella Typhimurium</i> .....	61
1.2.1.	Fatores de virulência de <i>S. Typhimurium</i> .....	61
1.3.	Adenosina .....	62

1.3.1.	Síntese e metabolismo da adenosina .....	63
1.3.2.	Recetores de adenosina e ação farmacológica desta .....	64
1.3.3.	Adenosina e sua ação na patogenicidade de diversos microrganismos .....	64
2.	Objetivos.....	66
3.	Materiais e métodos.....	67
3.1.	Microrganismos .....	67
3.2.	Armazenamento e preparação das estirpes .....	67
3.3.	Reagentes e equipamentos.....	67
3.3.1.	Reagentes.....	67
3.3.2.	Equipamentos .....	68
3.4.	Avaliação do efeito da adenosina no crescimento de <i>S. aureus</i> e <i>S. Typhimurium</i> .....	68
3.5.	Avaliação do efeito da adenosina sobre a capacidade de formação de biofilmes de <i>S. aureus</i> e <i>S. Typhimurium</i> .....	69
3.6.	Determinação do efeito da adenosina na atividade lipolítica e hemolítica de <i>S. aureus</i> .....	70
3.6.1.	Efeito da adenosina sobre a capacidade lipolítica .....	70
3.6.2.	Efeito da adenosina na capacidade hemolítica .....	70
3.7.	Avaliação do efeito da adenosina na produção de estafiloxantina por <i>S. aureus</i> ..	71
3.8.	Avaliação do efeito da adenosina sobre a motilidade de tipo <i>swarming</i> e <i>swimming</i> de <i>S. Typhimurium</i> .....	71
3.9.	Efeito da adenosina no mecanismo de “ <i>quorum sensing</i> ” .....	71
3.10.	Análise estatística.....	72
4.	Resultados e discussão.....	73
4.1.	Efeito da adenosina no crescimento de <i>S. aureus</i> e <i>S. Typhimurium</i> .....	73
4.2.	Efeito da adenosina sobre a capacidade de formação de biofilmes de <i>S. aureus</i> e <i>S. Typhimurium</i> .....	75
4.3.	Efeito da adenosina na capacidade lipolítica e hemolítica de <i>S. aureus</i> .....	76
4.3.1.	Efeito da adenosina na capacidade lipolítica .....	76
4.3.2.	Efeito da adenosina na capacidade hemolítica .....	78
4.4.	Efeito da adenosina na produção de estafiloxantina por <i>S. aureus</i> .....	78
4.5.	Efeito da adenosina sobre a capacidade de motilidade de tipo <i>swarming</i> e <i>swimming</i> de <i>S. Typhimurium</i> .....	79
4.6.	Efeito da adenosina no mecanismo de “ <i>quorum sensing</i> ” .....	80
5.	Conclusão .....	82
6.	Referências bibliográficas.....	84
Anexos.....		90
Anexo I .....		90
Anexo II .....		91

Anexo III.....	92
Anexo IV.....	93
Anexo V .....	95
Anexo VI.....	97
Anexo VII.....	98



# Lista de Figuras

Figura 1- Esquematização dos documentos enviados juntamente com as receitas que contêm medicamentos compartilhados pelo Estado (A) ou por outras entidades (B) para o Centro de Conferência de Faturas.. .....	11
Figura 2- Etapas de formação de um biofilme: adesão, maturação e dispersão. ....	60
Figura 3- Via intracelular primária de síntese de adenosina a partir de SAH e ATP. ....	64
Figura 4- Etapas de preparação das estirpes para posterior realização dos ensaios. ....	67
Figura 5- Percentagem de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> ATCC 25923, MRSA 05/15 e MSSA 04/15 quando exposto a diferentes concentrações de adenosina em relação ao controlo de crescimento sem composto.. .....	74
Figura 6- Percentagem de inibição do crescimento de <i>S. Typhimurium</i> quando exposta a diferentes concentrações de adenosina em relação ao controlo de crescimento sem composto.....	75
Figura 8- Percentagem de inibição da formação de biofilmes de <i>S. Typhimurium</i> para diferentes concentrações de adenosina em relação ao controlo de crescimento sem composto. ....	76
Figura 9- Efeito da adenosina sobre a atividade lipolítica de <i>S. aureus</i> na presença de adenosina em concentrações de 5 mM e 20 nM ou na sua ausência. ....	77
Figura 10- Efeito da adenosina sobre a atividade hemolítica de <i>S. aureus</i> na presença de adenosina em concentrações de 5 mM e 20 nM ou na sua ausência. ....	78
Figura 11- Efeito da adenosina sobre a produção de estafiloxantina por <i>S. aureus</i> na presença de adenosina em concentrações de 5 mM e 20 nM ou na sua ausência... ..	79
Figura 12- Ensaio de avaliação de motilidade de tipo <i>swarming</i> de <i>S. Typhimurium</i> após 24 horas de incubação com adenosina a 5 mM e 20 nM, ou na sua ausência (controlo).....	80
Figura 13- Ensaio de avaliação de motilidade de tipo <i>swimming</i> de <i>S. Typhimurium</i> após 24 horas de incubação com adenosina a 5 mM e 20 nM, ou na sua ausência (controlo).....	80
Figura 14- Efeito na adenosina no “ <i>quorum sensing</i> ” pelo método de difusão em disco com a bactéria <i>C. violaceum</i> .....	81



# Lista de Tabelas

Tabela 1- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com cálculos renais. ....	5
Tabela 2- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com estilhaço no olho. ....	5
Tabela 3- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com uma infeção respiratória. ....	6
Tabela 4- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com Gota. ....	8
Tabela 5- Categorias dos produtos Holon. ....	13
Tabela 6- Exemplos de medicamentos ou classe de medicamentos considerados potencialmente perigosos. ....	30
Tabela 7- Sistemas de automatização existentes no CHCB e respetivas funções. ....	31
Tabela 8- Situações para as quais se efetua a dispensa de medicamentos em ambulatório no CHCB de acordo com a legislação. ....	35
Tabela 9- Situações cuja dispensa de medicamentos em ambulatório no CHCB foi autorizada pela administração do Hospital. ....	36
Tabela 10- Bolsas de nutrição parentérica disponíveis no CHCB e suas características. ....	48
Tabela 11- Ensaio que devem ser realizados de acordo com a forma farmacêutica do manipulado preparado. ....	50
Tabela 12- Área terapêutica e medicamentos envolvidos nos ensaios clínicos que se encontravam a realizar à data do estágio no CHCB. ....	52
Tabela 13- Reagentes e respetivos laboratórios usados para os diversos ensaios realizados. .	67
Tabela 14- Equipamentos e respetivos modelos usados para os diversos ensaios realizados. .	68



## Lista de Acrónimos

ADA	Adenosina deaminase
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADP	Adenosina difosfato
AIM	Autorização de introdução no mercado
AMP	Adenosina monofosfato
ANF	Associação Nacional de Farmácias
ATP	Adenosina trifosfato
AUE	Autorização de utilização especial
AVC	Acidente vascular cerebral
BFP	<i>“Bundle-forming pilus”</i>
CFT	Comissão de Farmácia e Terapêutica
CHCB	Centro Hospitalar Cova da Beira
DCI	Designação comum internacional
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crónica
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogénica
FNHM	Formulário Nacional Hospitalar de Medicamentos
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HEPA	Filtro de alta eficiência
INFARMED	Autoridade nacional do medicamento e produtos de saúde
ISO	Organização internacional para padronização
IV	Intravenoso
JCI	<i>Joint Commission International</i>
LASA	<i>Look-alike, sound alike</i>
LPS	Lipopolissacárido
MNSRM	Medicamento não sujeito a receita médica
MSRM	Medicamento sujeito a receita médica
PIM	Preparação individualizada da medicação
PSA	Antigénio específico da próstata
RCM	Resumo das características do medicamento
SAH	S-adenosilhomocisteína
SC	Subcutâneo
SOS	Quando necessário
UCAD	Unidade de Cuidados Agudos Diferenciados
UCI	Unidade de Cuidados Intensivos
ULPA	Filtro de ar penetração ultrabaixa
UPS	Fonte de alimentação ininterrupta
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
VMER	Viatura médica de emergência e reanimação



# Capítulo 1- Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

## 1. Introdução

A Farmácia Comunitária é uma importante área de prestação de serviços de saúde, que visa a cedência de medicamentos em condições que minimizem os riscos, reduzindo a morbilidade e mortalidade associada ao seu uso, isto é, o farmacêutico deve efetuar a dispensa responsável dos medicamentos, de forma a contribuir para uma melhoria na qualidade de vida do doente<sup>1</sup>.

O meu estágio curricular em Farmácia Comunitária foi realizado na farmácia Holon Covilhã. Esta farmácia pertence à rede de farmácias do grupo Holon que tem como principal objetivo otimizar os serviços prestados ao utente, devendo estes serem concedidos de forma competente e personalizada. Durante o meu estágio curricular, tive também a oportunidade de contactar com outras farmácias pertencentes ao mesmo grupo, a farmácia Pedroso e a farmácia Diamantino, localizadas na Covilhã e no Fundão, respetivamente. Estas apresentam um padrão de utentes de uma faixa etária mais idosa e maioritariamente com patologias crónicas, contrariamente ao que observei na farmácia Holon Covilhã, localizada próximo do hospital, onde a generalidade dos utentes eram mais jovens e com um nível de literacia superior. Ao longo deste capítulo, encontra-se descrita de forma sucinta a minha experiência vivida durante cerca de 3 meses de estágio realizado, compreendidos entre 26 de janeiro e 19 de abril, o conhecimento que adquiri e algumas particularidades que presenciei durante este período.

## 2. Organização da farmácia

### 2.1. Recursos Humanos

De acordo com o disposto nos pontos 1 e 3 do artigo 23º do Decreto-Lei 307/2007 de 31 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei 171/2012 de 1 de agosto, as farmácias comunitárias devem dispor de pelo menos um diretor técnico e de outro farmacêutico (exceto farmácias cujo o valor de faturação do ano anterior tenha sido inferior a 60% do valor de faturação médio anual por farmácia ao Serviço Nacional de Saúde), sendo que os farmacêuticos devem constituir a maioria dos trabalhadores da farmácia. No artigo 24º do mesmo decreto de lei, encontra-se ainda a informação de que os farmacêuticos podem ser coadjuvados por técnicos de farmácia ou por outra pessoa devidamente habilitada, segundo os termos afixados pelo INFARMED. No caso da farmácia Holon Covilhã, fazem parte do quadro de pessoal da farmácia sete farmacêuticos

(sendo um deles o diretor técnico e outro o farmacêutico substituto) e três técnicos de farmácia. O diretor técnico ou, na sua ausência, o farmacêutico substituto deve assumir a responsabilidade pelos atos farmacêuticos praticados, promover o uso racional do medicamento, assegurar que medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) só são dispensados na ausência desta em casos de força maior, verificar o cumprimento das regras deontológicas, entre outros deveres que se encontram descritos no artigo 21º do mesmo Decreto-Lei<sup>2</sup>.

## **2.2. Espaço físico da farmácia**

No exterior da farmácia Holon Covilhã encontra-se a “cruz verde” luminosa, que se encontra ligada sempre que a farmácia está de serviço, seja durante o seu horário alargado, seja nos dias em que lhe é atribuído serviço permanente. No interior podemos visualizar outros elementos identificativos de uma farmácia, designadamente o nome do diretor técnico, o horário de funcionamento e ainda a informação relativa às farmácias de serviço no município<sup>2</sup>.

No que diz respeito ao espaço físico da farmácia, esta possui, para além das divisões consideradas obrigatórias e mencionadas na Deliberação nº 1502/2014, de 3 de julho, algumas das áreas facultativas<sup>3</sup>. Na área de atendimento ao público existem produtos de livre acesso, nomeadamente produtos de higiene oral, cosmética, puericultura, ortopedia, alimentação pediátrica, entre outros. Também nesta área, mas atrás do balcão de atendimento (sem livre acesso para o público) encontram-se produtos expostos, sendo eles maioritariamente medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM). Todos os restantes medicamentos encontram-se armazenados no Robot *Rowa Vmax*® ou em gavetas devidamente identificadas.

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

A existência de uma biblioteca básica de farmácia é obrigatória e de elevada importância, dado que permite aos profissionais de saúde esclarecerem dúvidas que possam surgir no seu dia-a-dia, bem como auxiliá-los no que diz respeito à preparação de medicamentos manipulados. É considerado de carácter obrigatório, tal como se pode comprovar na Deliberação nº414/CD/2007, de 28 de novembro do INFARMED, a existência da Farmacopeia Portuguesa, seja em formato eletrónico ou em papel, e do Prontuário Terapêutico<sup>2,4</sup>.

Na farmácia onde realizei o estágio encontravam-se ainda outros manuais que podiam ser consultados sempre que necessário, designadamente manuais sobre Microbiologia, Farmácia Galénica, Veterinária, Dermofarmácia, entre outros.

## **4. Aprovisionamento e armazenamento**

### **4.1. Seleção dos fornecedores**

A farmácia Holon Covilhã recebe diariamente encomendas de dois fornecedores grossistas (*Alliance Healthcare* e OCP). Os critérios para a seleção destes baseiam-se essencialmente nas vantagens comerciais e financeiras que apresentam, nomeadamente vantagens relacionadas com o prazo de pagamento, os horários de entrega das encomendas, os descontos que cedem, entre outros, garantindo-se deste modo uma qualidade de excelência do serviço e dos produtos adquiridos, bem como uma otimização da margem de lucro obtida pela farmácia adquirente. Importa ainda salientar que esta seleção encontra-se à responsabilidade da gerência da farmácia. Para além destes fornecedores grossistas, são também, por vezes, adquiridos produtos diretamente ao laboratório, nomeadamente MNSRM, produtos de dermocosmética, ortopedia, pediatria, puericultura, entre outros. No que toca aos produtos de veterinária, existe ainda um outro fornecedor específico com entregas agendadas (Agrovisu).

### **4.2. Realização, receção e armazenamento de encomendas**

As encomendas são, regra geral, feitas diariamente ao respetivo fornecedor sempre que é atingido o ponto de encomenda de um determinado medicamento, ou quando é requerido por um utente um produto de momento não disponível na farmácia. Por vezes fazem-se encomendas de maiores dimensões com o intuito de aumentar o *stock* existente de produtos que têm maior rotação na farmácia. Os produtos de venda livre, regra geral, são encomendados mensalmente para que não haja falta ou excesso de *stock*. No que diz respeito à receção das encomendas, esta é feita recorrendo ao programa Sifarma® 2000. Durante a receção é fundamental a verificação do prazo de validade dos medicamentos, sendo que este deve ficar registado no sistema, e caso exista em *stock* mais que uma unidade do mesmo produto, a data registada deve ser aquela que expira mais rapidamente. Para além desta verificação é necessário confirmar os preços de faturação, bem como os preços de venda ao público. No final, os produtos de venda livre são etiquetados e arrumados no respetivo expositor e os medicamentos são armazenados no robot, nas gavetas/expositores, ou no frigorífico, dependendo dos critérios de armazenamento (temperatura e humidade). Neste caso, e tal como a maioria dos medicamentos, os estupefacientes e psicotrópicos são também armazenados no robot, uma vez que o acesso a este é restrito.

### **4.3. Devolução de produtos**

Sempre que advenham à farmácia produtos danificados, não encomendados ou cujo preço de faturação se encontre incorreto é possível efetuar-se a devolução destes para o fornecedor. O mesmo acontece com produtos cujo prazo de validade se encontre próximo de expirar. Neste último caso, e tratando-se de MSRM, em primeiro lugar os laboratórios deverão creditar o fornecedor com o valor referente aos produtos devolvidos, e só depois este creditará a

farmácia. Nos restantes casos, o fornecedor poderá optar por diferentes soluções ao pedido de devolução: através de creditação da farmácia, novo envio do mesmo produto ou substituição por um produto equivalente. Caso o fornecedor ou o laboratório em questão decidam creditar a farmácia poderão fazê-lo de forma parcial ou total, dependendo do motivo que levou à devolução. Torna-se assim essencial mencionar esse mesmo motivo aquando da realização desta.

No que diz respeito às validades dos produtos, todos os meses é feito um controlo destas com o objetivo de retirar do robot os medicamentos cujo prazo de validade seja igual ou inferior a três meses. Assim, permite-se que a sua venda seja feita de forma mais rápida e fácil. Também permite que aqueles que tenham um período de validade igual ou inferior a um mês possam ser devolvidos ao fornecedor, tal como referido anteriormente.

## **5. Atendimento**

Nas farmácias Holon existem protocolos de atendimento que asseguram a igualdade da qualidade nos serviços prestados para todos os utentes.

Durante o atendimento, o farmacêutico ou o técnico de farmácia deverá mostrar-se proactivo e dirigir-se ao utente na zona de público e de seguida seleccionar o local mais adequado para o atender, tendo em conta a situação concreta com que se depara. Assim sendo, o farmacêutico ou o técnico de farmácia poderá optar por concretizar o atendimento em três zonas distintas (que estão relacionadas com três níveis de atendimento distintos): a zona de atendimento ao público, o balcão de atendimento ou o atendimento sentado. A primeira opção (atendimento de nível I) é indicada para utentes que procurem produtos que se encontrem expostos nesta mesma zona (por exemplo produtos de dermocosmética), sendo função do farmacêutico aconselhar e auxiliar na escolha do produto mais adequado à situação. O atendimento ao balcão (também nível I) é o mais comum, sendo utilizado essencialmente para a dispensa de MNSRM ou de MSRM mediante a apresentação desta. Por último, o atendimento sentado é efetuado no posto sentado (nível II) ou no gabinete de consulta farmacêutica (nível III), estando adequado para utentes que apresentem dificuldades motoras e sempre que o atendimento exija maior privacidade ou seja mais prolongado<sup>5</sup>. No final de todo o processo é necessário garantir que o doente sai satisfeito com os serviços e o aconselhamento que lhe foram prestados na farmácia e devidamente instruído sobre a sua medicação ou qualquer outro produto que tenha adquirido.

### **5.1. Casos práticos**

Durante o meu estágio usufruí da possibilidade de realizar atendimentos a diferentes utentes que apresentavam diferentes sintomas. De seguida irei descrever alguns casos que me surgiram e que achei pertinente destacar, quer pela dificuldade quer pela curiosidade que estes me causaram.

### 5.1.1. Jovem com cálculos renais

Neste caso deparei-me com uma jovem de 28 anos que trazia consigo uma receita proveniente do serviço de Urologia hospitalar onde lhe haviam sido prescritos os seguintes medicamentos:

Tabela 1- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com cálculos renais.

Medicamento	Posologia
Diclofenac 100 mg, supositório, blister de 12 unidades	Aplicar uma vez ao dia
Tansulosina 0,4 mg, cápsula de libertação prolongada, blister de 10 unidades	1 Cápsula por dia
Paracetamol 1000 mg, comprimido, blister de 18 unidades	1 Comprimido duas vezes ao dia

Perante a análise dos medicamentos prescritos questionei a utente relativamente à sua situação, obtendo assim a informação de que lhe tinha sido diagnosticada litíase renal. No serviço de urgência fora-lhe administrada uma solução injetável de Diclofenac 75mg/3mL para alívio das dores que sentia. Para dar seguimento a este efeito foram lhe então prescritos o Diclofenac em supositórios e o Paracetamol em comprimidos. O que me chamou à atenção nesta situação foi a prescrição de Tansulosina, dado que esta substância é indicada para o tratamento e alívio sintomático da Hiperplasia Benigna da Próstata. Aquando da dispensa dos medicamentos efetuei uma rápida pesquisa relativamente a esta situação de onde pude concluir que, apesar de esta informação não constar no resumo das características do medicamento (RCM), a Tansulosina é muitas vezes prescrita em casos de cálculos renais, uma vez que os estudos indicam que ela beneficia a eliminação destes, embora o mecanismo pelo qual isso acontece ainda não se encontre descrito<sup>6</sup>.

### 5.1.2. Homem com estilhaço no olho

Neste atendimento um senhor apresentava uma receita proveniente do serviço de Oftalmologia com os seguintes medicamentos:

Tabela 2- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com estilhaço no olho.

Medicamento	Posologia
Cloranfenicol 8 mg/mL, colírio, solução 5 mL	Aplicar 1 gota 4 vezes ao dia durante 7 dias
Gentamicina 3 mg/g, pomada oftálmica 3,5 g	Aplicar 4 vezes ao dia no primeiro dia e depois aplicar só ao deitar durante 6 dias

Perante a apresentação da receita médica em questão e da observação do olho do utente, questionei-o relativamente à sua situação, obtendo assim a informação de que lhe tinha entrado um fragmento de um metal para o olho. Durante a dispensa dos medicamentos prescritos achei

pertinente educar o utente relativamente à correta utilização destes. Assim sendo, aconselhei o utente a realizar uma limpeza adequada do olho com soro fisiológico e uma compressa estéril ou com compressas já impregnadas com um líquido adequado à limpeza dos olhos, antes de cada aplicação das gotas ou da pomada. Além disso, instruí o utente acerca da colocação do colírio e da pomada no saco conjuntival e alertei para a possibilidade de visão turva devido à colocação da pomada oftálmica.

### 5.1.3. Utente com infeção respiratória

Neste caso encontrei um utente que apresentava receita médica com a seguinte medicação:

Tabela 3- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com uma infeção respiratória.

Medicamento	Posologia
Carbocisteína [Pulmiben® Lisina], 1500 mg, pó para solução oral, saqueta 40 unidades	Dissolver e tomar 1 saqueta de 12 em 12 horas
Levofloxacina, 500 mg, comprimidos revestidos por película, blister de 10 unidades	Tomar 1 comprimido ao almoço
Bilastina [Bilaxten®], 20 mg, comprimido, blister 20 unidades	Tomar 1 comprimido de 12 em 12 horas

Perante esta apresentação, e após confirmar que se tratava de uma infeção respiratória, achei pertinente alertar para que a toma do antibiótico fosse feita até ao fim, ainda que o utente se sentisse melhor, e também acautelar para a possibilidade de ocorrência de diarreia, um dos efeitos secundários mais comuns com a toma de antibióticos. Tentei também verificar se o utente tomava habitualmente antiácidos ou suplementos de ferro, dado que estes podem interferir com a absorção do antibiótico e como tal a sua administração deve ser separada em pelo menos 2 horas. De forma semelhante, a toma do Bilaxten® deve ser realizada 1 hora antes ou 2 horas depois das refeições devido à influência que os alimentos têm na sua farmacocinética. Relativamente ao Pulmiben® Lisina, adjuvante mucolítico que facilita a remoção do muco existente nas vias aéreas, a posologia apontada pelo médico (duas vezes ao dia) difere daquela que é indicada no RCM (uma vez ao dia). Esta situação já havia ocorrido anteriormente com outros utentes e como tal a farmácia averiguou se eventualmente existiria alguma indicação por parte do delegado de informação médica para se administrar o Pulmiben® Lisina duas vezes ao dia, sendo que a resposta obtida foi negativa. Assim sendo, o utente foi aconselhado a tomar o medicamento apenas duas vezes ao dia inicialmente, durante um ou dois dias, mas para posteriormente administrar apenas uma vez ao dia.

### 5.1.4. Jovem com sintomatologia de infeção urinária

Neste atendimento surgiu uma jovem que não apresentava receita médica e que pediu que lhe fosse dispensada uma embalagem de Furadantina®, que contém como substância ativa a Nitrofurantoína. Perante esta situação, questionei de forma a averiguar qual a sintomatologia

apresentada pela utente, verificando que provavelmente tratar-se-ia de uma infecção do trato urinário. No entanto, e não existindo uma prescrição médica do antibiótico, optei por aconselhar um tratamento alternativo e aconselhei para uma eventual consulta médica caso não sentisse melhoras nos dias seguintes. O tratamento que sugeri pertence à gama de produtos da marca Holon e é denominado Uriflash®. Tratam-se de cápsulas que têm na sua composição 378 mg de Uva-ursina e 150 mg de Extrato de Arando Vermelho, sendo que a combinação destas duas substâncias irá produzir um alívio dos sintomas associados à infecção urinária através do impedimento da adesão das bactérias, nomeadamente da *Escherichia coli*, ao trato urinário.<sup>7</sup> Recomenda-se a toma de uma cápsula duas vezes ao dia durante sete dias. Para além deste tratamento, é importante salientar que uma higiene íntima com produtos adequados (designadamente produtos com pH ácido) pode auxiliar na prevenção de possíveis reinfeções ou recidivas. A utilização de Urifort®, que apresenta uma composição semelhante ao Uriflash®, mas em concentrações menores, pode também ser uma boa alternativa para utentes que apresentam com frequência este tipo de problema.

#### 5.1.5. Suplemento vitamínico

Nesta situação surgiu-me um utente de meia-idade que solicitou que lhe aconselhasse um suplemento vitamínico dado que se sentia sem energia, provavelmente devido ao seu trabalho desgastante. Ao mesmo tempo queria algo que lhe fizesse “bem à cabeça”. Perante isto, sugeri duas opções de suplementos vitamínicos: o Viterra® Homem e o Centrum® Homem, sendo que ambos têm uma composição semelhante. No entanto, e já próximo do final do atendimento, o senhor referiu que tinha problemas de tiroide. Posto isto, verifiquei se os suplementos apresentados continham iodo na sua composição e optei por sugerir outra alternativa que não apresentasse este oligoelemento. Aconselhei então Holon Magnésio® juntamente com Holon Ómega 3®. O magnésio é importante para reduzir o cansaço e dores musculares e o Ómega 3 irá auxiliar ao nível da memória e do processo cognitivo em geral. Recomendiei assim que coadministrasse os dois suplementos após a primeira refeição da manhã de forma a evitar as náuseas ou o desconforto digestivo.

#### 5.1.6. Lactente com uma lesão no pescoço

Neste atendimento surgiu um casal que solicitou que lhe dispensasse uma embalagem de Elocom® creme para colocar no pescoço de um bebé de 9 meses que apresentava uma lesão com eritema e descamação localizada da pele. Perante este pedido, e após confirmar que o Elocom® não tinha sido recomendado por um médico e uma vez que este creme contém como substância ativa um corticosteroide, designadamente Mometasona, optei por aconselhar outras alternativas que pudessem proporcionar o alívio necessário para a situação, sem que se usassem corticosteroides, dado que não é recomendado o seu uso em pediatria. Assim, apresentei duas possibilidades, o creme Cicalfate da Avéne® e o Eucerin® Atopic Control Creme para as Fases Agudas. O primeiro contém Zinco e Cobre que auxiliam na regeneração cutânea e Sucralfato que permite restabelecer o conforto da pele, e o segundo apresenta na sua composição ácidos

gordos regenerativos, uma substância calmante - a *Licochalcone A*, e ainda Decanediol com ação anti prurido e que combate a proliferação bacteriana.

### 5.1.7. Tratamento da gota com colquicina

Uma idosa dirigiu-se à farmácia com o propósito de levantar a sua medicação para iniciar o tratamento para a Gota. Na sua prescrição apresentava os seguintes medicamentos:

Tabela 4- Medicamentos e posologia prescritos ao utente com Gota.

Medicamento	Posologia
Colquicina, 1 mg, comprimidos, blister de 40 unidades	Tomar 1 comprimido após o almoço
Alopurinol, 300 mg, comprimidos, blister de 60 unidades	Tomar 1 comprimido ao jantar (iniciar 1 semana após a Colquicina)

Enquanto conversava com a utente, questionei-a relativamente à duração do tratamento com a Colquicina, verificando que a senhora iria fazer um tratamento prolongado com aquele fármaco. Geralmente este é usado nas crises agudas de Gota e durante períodos de tempo curtos numa posologia diferente daquela que lhe tinha sido recomendada. Perante a situação, achei pertinente alertar para a possibilidade de ocorrência de alguns efeitos adversos, nomeadamente diarreia. Posto isto, realizei uma pesquisa de onde apurei que a Colquicina, além de ser usada nas fases agudas da doença, pode ser usada em tratamentos de longa duração em doses de 0,5 a 1 mg por dia para prevenção de episódios agudos de Gota, sendo que nestes casos as complicações relacionadas com o tratamento são raras. De qualquer forma deve-se efetuar uma avaliação hematológica semestral devido à possibilidade, embora diminuta de ocorrência de leucopenia, neutropenia, trombocitopenia e ainda anemia aplástica<sup>8</sup>.

### 5.1.8. Senhora com hipocaliemia

Neste caso, atendi uma senhora de meia-idade que apresentava uma receita médica onde lhe estava prescrito um suplemento de potássio, um suplemento de magnésio e também um de cálcio associado à vitamina D. Relativamente aos dois últimos a senhora referiu que já os tomava há algum tempo devido às dores musculares que habitualmente sentia e para prevenir a desmineralização óssea. No que dizia respeito ao potássio, a utente referiu que tinha iniciado o tratamento recentemente uma vez que os valores deste não se encontravam abaixo dos valores de referência, o que a deixava preocupada e descontente. Perante este comentário, alertei para a possibilidade da Hipocaliemia ser muitas vezes causada por medicamentos para a Hipertensão Arterial pelo facto de terem um efeito depletor de potássio e perguntei à utente se fazia algum tipo de medicação para esta patologia, de onde obtive uma resposta afirmativa. A utente encontrava-se a tomar Preterax®, um medicamento que apresenta na sua composição Peridonpril e Indapamida. Apesar de não ser um dos medicamentos com maior probabilidade de originar Hipocaliemia, encontra-se também descrito no resumo das características deste

medicamento a possibilidade de ocorrência deste efeito indesejável, particularmente para populações de elevado risco em que geralmente se verificam alterações na farmacocinética e na farmacodinâmica dos fármacos<sup>9</sup>.

#### 5.1.9. Tosse seca vs tosse produtiva

Nesta situação encontrei uma utente à qual havia sido prescrito Dextrometorfano, solução oral 2mg/mL. Perante esta prescrição, perguntei à utente se apresentava tosse seca ao qual ela respondeu que possuía não só tosse seca mas também que sentia que tinha alguma expetoração nas vias aéreas. Perante esta resposta e depois de verificar que a utente em questão não apresentava nenhuma razão clínica que justificasse a toma de antitússicos (doenças cardíacas, doente acamada ou após cirurgia), aconselhei a utente a confirmar com o prescritor a medicação em questão e aconselhei que fizesse um xarope alternativo, designadamente o Grintuss®. Este é adequado para os dois tipos de tosse e possui um mecanismo mais fisiológico devido à sua origem vegetal. Contrariamente ao Dextrometorfano, que atua a nível central através da inibição do centro da tosse, o Grintuss® atua localmente nas vias aéreas através do revestimento da mucosa das vias aéreas superiores, acalmando assim a origem da tosse seca. Para além disso, através da hidratação do muco, facilita a sua libertação, contribuindo assim para a melhoria da tosse com expetoração.

## 6. Receituário

Durante o meu estágio, a maioria das receitas que chegavam à farmácia eram receitas eletrónicas materializadas, sendo que estas devem conter os seguintes campos: número da receita, a identificação do local da prescrição, do prescritor e do utente, a entidade responsável pela comparticipação e, se aplicável, o regime especial de comparticipação (com identificação do diploma legal correspondente), a identificação dos medicamentos, que inclui o nome da substância ativa ou nome comercial do medicamento, a dosagem, a forma farmacêutica, a dimensão da embalagem, a posologia e o número de embalagens, a data e validade da prescrição e ainda a assinatura do médico prescritor.<sup>10</sup> A prescrição por nome comercial só pode ser aplicada caso se tratem de medicamentos sem genérico comercializado ou sem genérico comparticipado, medicamentos com margem terapêutica estreita (exceção a do Decreto-Lei 176/2006, de 30 de agosto), caso o utente tenha demonstrado intolerância ou reação adversa a um medicamento contendo a mesma substância ativa, mas com uma denominação comercial diferente (exceção b) ou ainda para assegurar a continuidade de um tratamento com duração estimada superior a 28 dias (exceção c)<sup>10,11</sup>. Neste último caso o utente mantém o direito de opção, isto é, pode optar por um medicamento contendo a mesma substância ativa, a mesma forma farmacêutica, dosagem e tamanho da embalagem similares desde que o preço desse medicamento seja inferior<sup>10</sup>. Em cada receita podem ser prescritos até quatro medicamentos distintos perfazendo um máximo de quatro embalagens por receita, podendo ser prescritos no máximo duas embalagens do mesmo medicamento, excetuando

medicamentos que se apresentem na forma de embalagem unitária, dos quais podem ser prescritas até quatro embalagens do mesmo medicamento<sup>10</sup>.

Existem ainda determinadas situações nas quais o prescritor pode optar pela prescrição manual de medicamentos, devendo ser assinalado em local apropriado o motivo que o levou a esta opção. Os motivos aceites são os seguintes:

- a) Falência informática;
- b) Inadaptação do prescritor;
- c) Prescrição ao domicílio (exceto lares de idosos);
- d) Até quarenta receitas mensais.

Neste caso é importante que a receita não apresente diferentes caligrafias e que o número de embalagens esteja escrito em numeração cardinal e por extenso, não sendo permitida a prescrição de mais do que uma via desta receita, mesmo tratando-se de medicação para tratamentos de longa duração<sup>10</sup>.

No ato da dispensa dos medicamentos, o farmacêutico ou o técnico de farmácia deve imprimir no verso da receita a seguinte informação, consoante indicado no Despacho nº 15700/2012, de 30 de novembro:

- Identificação da farmácia;
- Data da dispensa;
- Preço de cada medicamento dispensado e o valor total da receita;
- Comparticipação pelo Estado por unidade de medicamento e pela sua totalidade;
- Número de registo dos medicamentos dispensados em caracteres e códigos de barras;
- Declaração do utente onde consta a frase: “Declaro que me foram dispensados nn,nn (número de embalagens) embalagens de medicamentos constantes na receita e prestados os conselhos sobre a sua utilização”;
- Declaração pelo utente em relação ao exercício ou não do direito de opção;
- Assinatura do utente ou do adquirente da medicação;
- Assinatura do farmacêutico ou técnico de farmácia;
- Carimbo de identificação da farmácia<sup>12</sup>.

Após a dispensa responsável dos medicamentos pelo farmacêutico, este deverá fazer uma verificação da receita com o intuito de confirmar a presença de todos os campos mencionados anteriormente e ainda assegurar que a dispensa dos medicamentos foi feita corretamente. Para garantir que não existem efetivamente erros é feita a verificação cruzada por vários membros da equipa (geralmente 3 para as receitas manuais e 1 ou 2 para receitas eletrónicas). No caso de se tratarem de receitas eletrónicas esta verificação é mais fácil, sendo apenas necessário verificar a presença da assinatura do prescritor, se a impressão no verso da receita corresponde

àquela prescrição e a existência da data, carimbo da farmácia e assinatura do adquirente e do farmacêutico ou técnico de farmácia. Posto isto, as receitas que contêm medicamentos comparticipados pelo Estado ou por outras entidades são organizadas separadamente por lotes e ordenadas por número devendo-se no final imprimir o verbete correspondente a cada lote quando este estiver completo. Estes lotes devem ser posteriormente enviados até ao dia dez do mês seguinte para o Centro de Conferência de Faturas que irá creditar futuramente a farmácia com o valor total das comparticipações correspondentes dadas pelo Estado Português. As receitas comparticipadas por outras entidades são enviadas para a Associação Nacional de Farmácias (ANF) que, seguidamente, irá redistribuí-las para as diferentes entidades. Juntamente com estas receitas devem também ser enviados a fatura e o resumo verbete de lotes, de acordo com o esquema da figura 1:

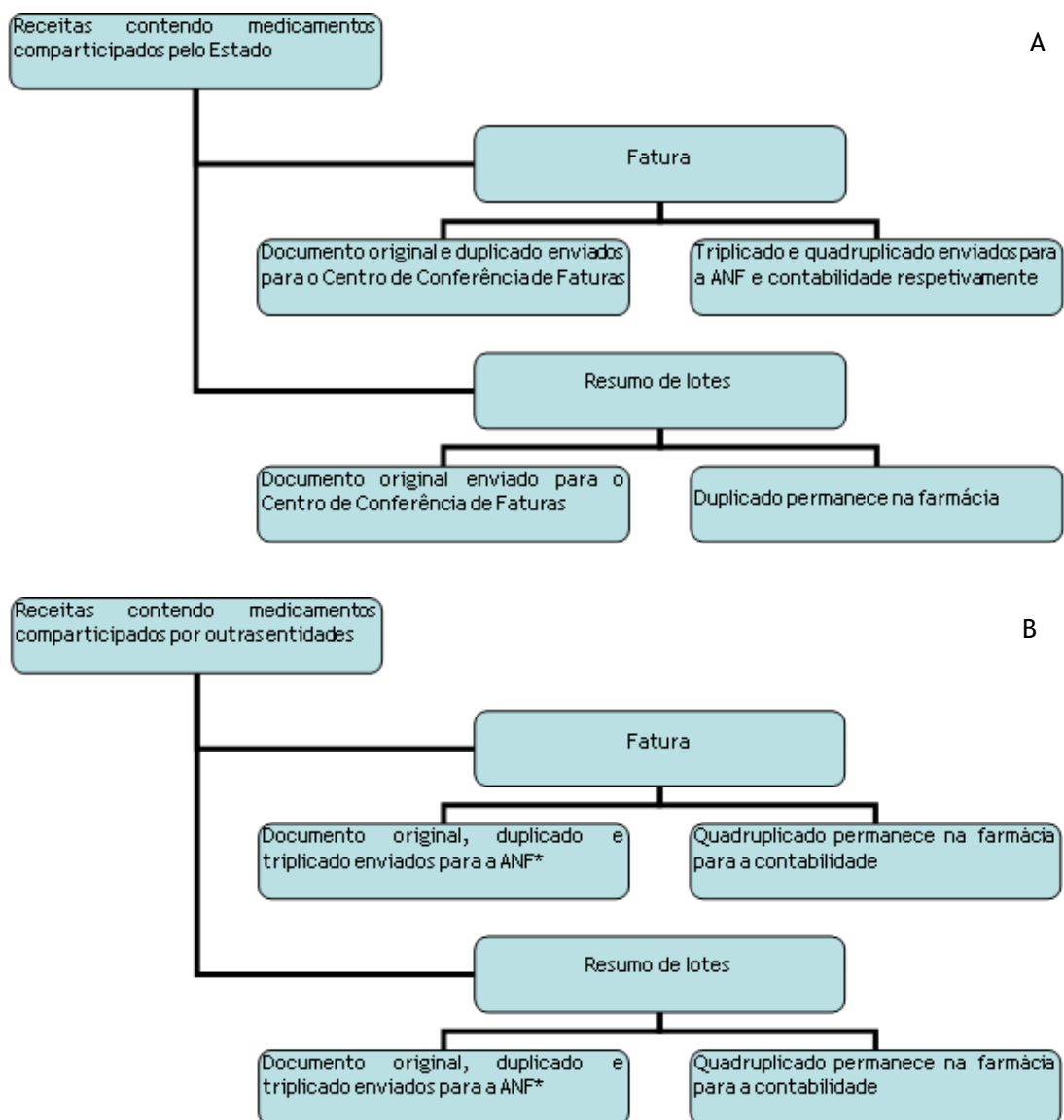


Figura 1- Esquematização dos documentos enviados juntamente com as receitas que contêm medicamentos comparticipados pelo Estado (A) ou por outras entidades (B) para o Centro de Conferência de Faturas. \* Posteriormente a ANF redistribuirá os originais e duplicado.

A partir de dia 1 de abril de 2016 foi implementado um novo modelo de receita eletrónica, a receita eletrónica desmaterializada, com a qual ainda tive a oportunidade de contactar durante o estágio. Neste caso, o utente que se dirige à farmácia apresenta apenas o número da receita e os códigos de acesso/dispensa e de direito de opção permitindo ao farmacêutico conseguir aceder à prescrição e dispensar apenas os medicamentos que o utente desejar. O intuito deste novo formato é substituir as receitas eletrónicas materializadas, apresentando as vantagens de reduzir o tempo do farmacêutico dedicado à conferência de receituário e a possibilidade de serem prescritos simultaneamente diferentes tipos de medicamentos, comparticipados ou não, podendo as diferentes linhas de prescrição apresentarem diferentes validades. Em suma o principal objetivo com este novo modelo é aumentar a segurança e eficácia na dispensa dos medicamentos e facilitar também a prescrição pelos próprios médicos de medicamentos de uso crónico.

## **6.1. Receitas de estupefacientes e psicotrópicos**

Segundo a Portaria 137-A/2012 de 11 de maio, a prescrição de medicamentos estupefacientes ou psicotrópicos (receita especial) pode ser efetuada da mesma forma que qualquer outro medicamento em receita manual ou informatizada. No entanto, a prescrição destes não pode constar numa receita onde sejam prescritos outros medicamentos<sup>13</sup>. Caso se tratem de receitas manuais, deverá ser enviada uma cópia destas em formato digital para o INFARMED no final de cada mês. Deverá também ser enviado mensalmente para esta entidade o registo de saídas dos medicamentos que constam nas tabelas I e II do Decreto-Lei nº 15/93 de 22 de janeiro e anualmente o mapa de balanço dos medicamentos que constam nas tabelas I, II, III e IV<sup>14</sup>.

No ato da dispensa de medicamentos psicotrópicos ou estupefacientes que constem nas tabelas I e II, o farmacêutico ou o técnico de farmácia deverá registar não só os dados do utente, como também do adquirente, usando para tal um documento apropriado, geralmente o cartão de cidadão. Na farmácia deverá arquivar-se, por um período mínimo de três anos, uma cópia das receitas que contenham estes medicamentos, bem como o comprovativo da sua dispensa.

## **7. Farmácias Holon**

### **7.1. Produtos Holon**

Uma das características diferenciadoras das farmácias Holon é a existência de uma extensa gama de produtos de marca própria. Tratam-se de produtos que visam melhorar a saúde e qualidade de vida dos utentes com garantia de qualidade e a um preço inferior, sendo também uma importante ferramenta de fidelização de utentes. Os produtos encontram-se segmentados em diversas categorias, facilitando assim a sua identificação (tabela 5).

Tabela 5- Categorias dos produtos Holon.

<b>Holon Baby</b>	•Produtos para bebês
<b>Holon Care</b>	•Produtos de dermocosmética, beleza e bem-estar
<b>Holon Basic</b>	•Produtos básicos de primeira necessidade
<b>Holon Diet</b>	•Produtos para gestão do peso corporal
<b>Holon Fresh</b>	•Produtos para higiene oral
<b>Holon Protect</b>	•Produtos com função protetora (por exemplo, pomada regeneradora, pastilhas emolientes para a garganta)
<b>Holon Med</b>	•Dispositivos médicos
<b>Holon Plus</b>	•Suplementos alimentares
<b>Holon Vision</b>	•Produtos para cuidado oftálmico
<b>Holon Vit</b>	•Produtos que contêm vitaminas essenciais

## 7.2. Serviços prestados

Os serviços existentes nas farmácias Holon, como é o caso da farmácia Holon Covilhã, podem ser prestados por um farmacêutico ou por um prestador externo. Os serviços de consulta farmacêutica e preparação individualizada da medicação (PIM), de cessação tabágica, de consulta do viajante e o serviço respirar melhor são prestados por farmacêuticos, ao passo que os serviços de nutrição, podologia, pé diabético, dermofarmácia e reabilitação auditiva têm um prestador externo. Estes serviços têm um custo associado, o que por um lado permite à farmácia obter lucro económico, e por outro faz com que estes não sejam desvalorizados pelos utentes que os procuram.

### 7.2.1. Serviço de Nutrição

Este serviço é prestado por uma nutricionista e é destinado não só para utentes que pretendam perder ou ganhar peso, mas principalmente para aqueles que têm doenças crónicas nas quais a prática de hábitos de vida saudável, incluindo a alimentação, têm um papel fundamental. Abrangem-se assim doentes com diabetes, hipertensão arterial, dislipidémias, doenças inflamatórias intestinais, doentes infetados pelo vírus da imunodeficiência Humana (VIH), entre outros.

O objetivo destas consultas é educar o doente para uma alimentação saudável e, se for o caso, adequada às suas patologias. É importante inicialmente conhecer a história clínica do utente, a medicação que toma, dado que esta pode interferir com o peso corporal, e ainda os seus hábitos alimentares diários. Posto isto, é ainda feita uma pesagem do utente e uma medição do perímetro abdominal. Sempre que a nutricionista achar apropriado, poderá recomendar a toma de determinados suplementos alimentares, desde produtos como o Ómega 3 ou o Extrato de Alho para doentes com Dislipidémias, até suplementos que controlam o apetite como o Glucomanano, a Garcinia ou o Crómio para utentes que pretendam perder peso.

Associado a este serviço estão alguns projetos desenvolvidos na comunidade, como é o caso dos *workshops* de leitura de rótulos dos alimentos, das caminhadas, do projeto escola que visa educar as crianças para uma alimentação adequada, e ainda da realização de rastreios para avaliação do risco cardiovascular. Durante o meu estágio tive a oportunidade de realizar vários rastreios cardiovasculares, nos quais se efetuavam a medição do colesterol total (caso o utente se encontrasse em jejum também se realizava a medição dos triglicéridos e do colesterol HDL e LDL) e da pressão arterial. Aplicava-se ainda um questionário onde se avaliavam os hábitos alimentares, as patologias e a medicação que cada utente fazia. No final, sempre que adequado, recorria-se à tabela da norma da Direção Geral da Saúde “Avaliação do Risco Cardiovascular SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*), que se encontra no anexo I deste documento, para avaliação do risco cardiovascular tendo em conta os valores da pressão arterial sistólica, do colesterol total, o sexo, a idade e ainda se o utente era ou não fumador.

### 7.2.2. Serviço do Pé Diabético

Este serviço é prestado por um enfermeiro e é dirigido a todos os diabéticos. Uma das principais consequências a longo prazo da diabetes é a neuropatia, afetando sobretudo as extremidades inferiores do corpo, e que leva a uma redução da sensibilidade nos pés. Assim sendo, os objetivos das consultas do pé diabético são avaliar a sensibilidade ao frio, ao calor e à dor que os doentes apresentam e detetar a existência de malformações, fissuras ou feridas que possam existir. Estas consultas servem ainda para educar o utente para o corte de unhas correto de forma a prevenir lesões que possam advir de um corte de unhas executado incorretamente. Sempre que considere adequado o enfermeiro poderá encaminhar o doente para o serviço de podologia. Para além da avaliação do pé, nestas consultas é igualmente importante o aconselhamento ao doente. Assim, recomenda-se ao utente que evite fontes de calor, que use meias brancas sem costuras, que seque convenientemente os pés, principalmente nos espaços interdigitais, e que não coloque creme nesta região. Após a primeira consulta são feitas periodicamente novas consultas de acompanhamento, sendo que o período decorrente entre elas depende do risco associado a cada doente, podendo ser realizadas anualmente, semestralmente ou no caso de existir um risco maior, por exemplo para doentes já com perda de sensibilidade e algum tipo de deformação, trimestralmente ou mensalmente.

### 7.2.3. Serviço de Podologia

O serviço de podologia é executado por uma podologista e é direcionado a todos os utentes que apresentem queixas nos pés. O principal objetivo é tratar e aliviar a dor ou o desconforto associado a diferentes causas, desde que relacionadas com os pés, podendo ser tratados doentes com dermatopatias, queratopatias, onicopatias ou alterações biomecânicas. Sempre que a podologista considere necessário indicar tratamento farmacológico para o problema em questão, esta poderá recomendar um tratamento tópico. Alguns exemplos são o uso do Verrumal® (que contem Ácido Salicílico + Fluorouracilo 100+5mg/mL) ou do Verrufilm® (que contem Ácido Salicílico 167 mg/mL) no tratamento de verrugas ou calosidades ou ainda de vernizes que contenham Amorolfina como é o caso do Locetar®, indicados no tratamento de onicomicoses. Se a podologista considerar pertinente, em situações mais graves ou que exijam tratamentos sistémicos poderá fazer um reencaminhamento do utente para o médico. Faz ainda parte deste serviço a possibilidade de fabrico de suportes plantares personalizados e de ortóteses de silicone. Tal como para os restantes serviços, existem, após a primeira consulta, consultas para acompanhamento e reavaliação do utente.

### 7.2.4. Serviço de Dermofarmácia

Este serviço é realizado por uma farmacêutica e é destinado a utentes que solicitem aconselhamento de cuidados e/ou produtos de dermofarmácia, que pretendam saber qual o seu tipo de pele ou que sofram de patologias dermatológicas como a Acne, a Rosácea, a Dermatite Atópica, entre outras. Na consulta de dermofarmácia pode ser feita uma avaliação cutânea e capilar recorrendo-se para tal a um aparelho apropriado denominado *Aramo TS®* que possui lentes com diferentes ampliações. Com este dispositivo é possível averiguar a hidratação, oleosidade e elasticidade da pele e ainda, através de uma análise mais profunda é viável avaliarem-se os poros, a pigmentação e a presença de rugas no rosto. No que diz respeito à análise capilar, este aparelho permite fazer uma avaliação da queda, da espessura e ainda da cutícula do cabelo. No final o resultado de todos os parâmetros é apresentado e comparado com o valor médio normal (tendo em conta a idade e o sexo do utente) indicando assim as condições que requerem tratamento. É depois papel da farmacêutica prestadora deste serviço indicar os cuidados mais adequados a cada situação. Para avaliar se estes cuidados estão a produzir os resultados esperados são feitas mensalmente consultas de acompanhamento.

No estágio tive a oportunidade de estar presente na formação dada aos farmacêuticos e técnicos de farmácia onde foram instruídos sobre o funcionamento deste aparelho para que toda a equipa conseguisse realizar de forma mais eficaz estas avaliações.

### 7.2.5. Serviço de Consulta Farmacêutica e Preparação Individualizada da Medicação

Este serviço é prestado por um farmacêutico e tem por objetivo inicial rever a medicação do utente. É direcionado principalmente para idosos, ou qualquer doente que não consiga realizar a sua terapêutica medicamentosa corretamente, nomeadamente doentes polimedicados e com múltiplas patologias concomitantes. Após a abordagem inicial do doente ao balcão e de se avaliar a necessidade de consulta farmacêutica, o utente é convidado a trazer o seu saco de medicação, incluindo aquela à qual não recorre frequentemente. O intuito é verificar se os medicamentos estão dentro do prazo de validade, se existem duplicações na terapêutica, problemas de adesão ao tratamento, reações adversas ao medicamento, interações medicamentosas, entre outras. Sempre que o farmacêutico considerar oportuno, este deverá expor a situação do doente ao seu médico de família. Caso o farmacêutico verifique que, mesmo após instrução e clarificação da posologia correta, o doente mantém os erros na toma da medicação, é-lhe apresentado o serviço de PIM. Caso haja uma resposta positiva à adesão a este serviço, o doente assina uma folha de consentimento informado, na qual autoriza a farmácia a ser responsável pela sua medicação diária. Posto isto, o farmacêutico deverá preparar semanalmente uma *pill box* que contenha toda a medicação (exceto medicação usada em SOS, inaladores e injetáveis) devidamente identificada e separada por tomas. Desta forma, aumenta-se a probabilidade do utente fazer a sua medicação corretamente, aumentando a adesão à terapêutica, diminuindo efeitos adversos e reduzindo os custos para o utente e consequentemente para o Estado.

### 7.2.6. Serviço de Cessação Tabágica

Este serviço é dirigido para todos os fumadores e tem por objetivo auxiliar o utente a deixar de fumar, aconselhando-o para uma terapêutica adequada e fornecendo-lhe motiva o para tal. Na abordagem inicial ao utente fumador deverá ser-lhe questionado se gostaria de deixar de fumar. Se a resposta for negativa deverá alertar-se para os riscos e consequências do tabaco, bem como incentivá-lo a mudar de opinião. Se a resposta for afirmativa, então o utente poderá ser convidado a fazer parte deste serviço. Posto isto, impõe-se a realiza o de mais três questões: “há quanto tempo fuma?”, “quantos cigarros fuma por dia?” e “quanto tempo demora desde o acordar até fumar o seu primeiro cigarro?”. Dependendo das respostas obtidas deverá instituir-se uma terapêutica adequada. Regra geral e como primeiro passo, deve ser feita uma avalia o dos hábitos diários que levam o utente a fumar. A partir da , devem estimular-se comportamentos alternativos que estejam de acordo com a preferência do utente. Poderão existir casos em que seja necessário introduzir tratamentos farmacológicos. Pode recorrer-se a gomas ou pastilhas contendo Nicotina, que são usadas em SOS (ou seja, quando necessário) quando o individuo tem desejo de fumar (simultaneamente o utente deve reduzir progressivamente o número de cigarros que fuma diariamente). Após o utente conseguir abandonar por completo os cigarros, e com o intuito de reduzir os sintomas de priva o a longo prazo, podem ser aconselhados os adesivos transdérmicos contendo como substância ativa a

Nicotina. Apesar de este tratamento ser o mais frequente, existem outros tratamentos que podem também auxiliar o utente a deixar de fumar, nomeadamente a Bupropiona, a Vareniclina, a Nortriptilina ou a Clonidina. No primeiro caso, a Bupropiona irá levar a um aumento de noradrenalina e dopamina, reduzindo os sintomas de abstinência, o desejo compulsivo de fumar e ainda limitando o aumento de peso que se associa ao abandono do tabaco. A Vareniclina é um agonista parcial dos recetores  $\alpha_4\beta_2$  nicotínicos, sendo que a sua atividade agonista leva a um estímulo destes recetores, reduzindo a urgência de fumar e os sintomas de privação, e a sua atividade antagonista atenua a sensação de satisfação associada à Nicotina. A Nortriptilina é um antidepressivo tricíclico que vai também contribuir para um aumento dos níveis de serotonina e noradrenalina. A Clonidina é um agonista  $\alpha_2$  adrenérgico, que contribui para uma redução da atividade simpática. Estes tratamentos são tratamentos de segunda linha e são instituídos após avaliação clínica e dispensados aquando da apresentação da receita médica. Para além de tudo isto, e se necessário, o utente poderá fazer terapêutica farmacológica combinada, recorrendo-se à combinação de dois tipos de terapêutica de substituição nicotínica, isto é, gomas ou pastilhas mais adesivos transdérmicos, de forma a por um lado reduzir a necessidade de fumar e por outro a manter os níveis séricos de Nicotina mais estáveis. Alternativamente pode-se associar a Bupropiona a uma terapêutica de substituição nicotínica<sup>15-20</sup>.

#### 7.2.7. Serviço Respirar Melhor

Este serviço é prestado por um farmacêutico e é direcionado para todos os utentes que apresentem queixas respiratórias ou que tenham sido diagnosticados com patologia respiratória crónica como é o caso da Asma ou da Doença Obstrutiva Pulmonar Crónica (DPOC). Um dos objetivos é identificar utentes com indícios de DPOC, aplicando-se para tal um questionário apropriado denominado “DPOC: Qual o seu grau de risco?”. Sempre que pertinente poder-se-á convidar o doente a realizar uma avaliação da função respiratória através da técnica de espirometria. Esta técnica permite avaliar as propriedades mecânicas do pulmão recorrendo-se para tal à medição do volume de ar que é expirado pelo utente após uma inspiração profunda permitindo conhecer assim a capacidade vital forçada e o volume expiratório máximo num segundo. Sempre que o farmacêutico achar conveniente deverá fazer uma referência do doente para o médico ou para o serviço de cessação tabágica. No caso de se tratar de um doente já diagnosticado os objetivos deste serviço visam melhorar a adesão à terapêutica, instruindo por um lado o utente para uma técnica correta de utilização de dispositivos inalatórios e, por outro lado, a distinguir a medicação que é usada para alívio sintomático em SOS da medicação para controlo a longo prazo. Deve ainda ser aplicado um questionário que permite avaliar o grau de controlo da Asma ou da DPOC e avaliar-se a função respiratória do doente<sup>21</sup>.

- ✓ Questionários normalizados:

DPOC: Qual o seu grau de risco?

Este questionário é baseado nas linhas de orientação da *Global Initiative for Chronic Lung Disease* e considera quatro fatores indicativos da DPOC: tosse crónica, dispneia, expectoração e história de exposição a fatores de risco. É constituído por cinco questões e a resposta afirmativa a três ou mais é indicativo da possível existência de patologia respiratória<sup>21</sup>.

DPOC: Qual o seu grau de controlo?

Este questionário é adaptado da escala *Medical Research Council* modificada e permite classificar a dispneia em cinco graus distintos desde o grau zero até ao grau quatro. Para um grau superior ou igual a dois considera-se a patologia não controlada<sup>21</sup>.

Asma: Qual o seu grau de controlo?

Trata-se do questionário CARAT (*Control of Allergic Rhinitis and Asthma Test*) que é constituído por dez questões que permitem avaliar a sintomatologia ao nível das vias aéreas superiores (para doentes com Rinite Alérgica) e inferiores e ainda a medicação do doente. No final é feito o somatório da pontuação obtida em cada questão para avaliar se existe ou não controlo da patologia, sendo que se considera controlada quando a pontuação global for superior a 24 pontos<sup>21</sup>.

### 7.2.8. Serviço de Consulta do Viajante

O serviço de aconselhamento ao viajante é realizado por um farmacêutico e dirige-se a todos os utentes que pretendem viajar quer para destinos nacionais quer internacionais. Os objetivos principais visam dar a conhecer ao utente os riscos para a saúde relacionados com o local de destino, e as formas de prevenção desses riscos. Assim, educa-se o utente para a prevenção de doenças transmitidas através da água e alimentos, para efetuar a vacinação adequada e também sobre os medicamentos que deve levar consigo. Após a viagem poderá ser feita uma nova consulta com o intuito de rever os problemas de saúde que surgiram no seu decorrer e se necessário o utente poderá ser reencaminhado para o médico ou para um outro serviço prestado na farmácia, como é o exemplo do serviço de podologia, dado que muitos dos doentes que requerem este serviço são peregrinos que percorrem grandes distâncias a pé<sup>22</sup>.

### 7.2.9. Serviço de Reabilitação Auditiva

Este serviço é prestado por um audiologista especializado e dirige-se a todos os utentes que apresentem perda auditiva, sendo o objetivo primordial melhorar a capacidade auditiva destes. Para tal, o audiologista realiza um exame videotoscópico a partir do qual se podem obter três resultados distintos, designadamente o canal auditivo pode mostrar-se limpo, ou obstruído por cerúmen ou ainda obstruído e com sinais de inflamação. Após a realização dos testes

audiométricos necessários, o prestador em conjunto com o utente deverão eleger a(s) prótese(s) mais adequada(s) à situação. O utente deverá fazer uma nova consulta de revisão após um período máximo de um mês e, após esta, poderão realizar-se novas consultas sempre que o utente ou o audiologista acharem pertinente, regra geral estas realizam-se trimestralmente<sup>23</sup>.

#### 7.2.10. Serviço *Check-Saúde*

O serviço *check-saúde* consiste na possibilidade de medição de vários parâmetros bioquímicos que estão relacionados com diferentes patologias e é direcionado a todos os utentes que pretendam efetuar a sua medição. Para mensurar estes parâmetros recorre-se à técnica de espectrofotometria do aparelho *Callergari CR 3000* da Quilaban® cujo funcionamento é semelhante, independentemente do que se pretende medir. Deve-se colher a amostra (sangue) para um tubo capilar que é introduzido numa cuvete adequada que contem um reagente adaptado a cada parâmetro. Efetua-se uma primeira leitura (branco) e de seguida adiciona-se uma enzima específica, também dependente do parâmetro que se pretende medir, efetuando-se assim uma segunda medição que nos dará o resultado pretendido. Com este dispositivo é possível realizar-se a mensuração dos seguintes parâmetros: colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos, LDL (calculado a partir dos valores do colesterol total, HDL e triglicéridos), glicémia e ácido úrico. Para além da medição destes, faz ainda parte do serviço *check-saúde* a possibilidade de medição da pressão arterial do doente, da hemoglobina glicada e do PSA.

Durante o meu estágio, tive a oportunidade de participar numa formação da Quilaban® relativa ao funcionamento dos dispositivos usados para a medição dos diversos parâmetros mencionados acima. Pude também efetuar algumas medições, quer da pressão arterial quer dos restantes parâmetros que fazem parte deste serviço.

## 8. Sistema de gestão da qualidade

O sistema de gestão da qualidade das farmácias Holon tem aplicação em todas as atividades que estas desenvolvem, desde a dispensa de medicamentos e preparação de manipulados até ao aconselhamento e intervenção na comunidade. O sistema encontra-se de acordo com a norma ISO 9001:2008, excluindo a cláusula 7.3, que se refere à conceção e desenvolvimento. Desta forma, as farmácias Holon propõem-se a uma melhoria contínua na qualidade dos serviços prestados cumprindo todos os requisitos legais aplicáveis e executando as suas tarefas com um maior rigor e com o envolvimento de todos os seus colaboradores qualificados. É também importante para a qualidade que se faça uma abordagem por processos e, assim sendo, são considerados três processos: atendimento, gestão e intervenção comunitária. De forma a garantir que todos os parâmetros de qualidade estão a ser cumpridos são feitas periodicamente auditorias, quer internas quer externas, às farmácias do grupo Holon que são certificadas, como é o caso da farmácia Holon Covilhã<sup>24</sup>.

## 9. Discussão e conclusão

Durante o estágio tive a oportunidade, como referi anteriormente, de contactar com diferentes realidades devido à possibilidade de ter estado presente em três farmácias do grupo. Na farmácia onde realizei a grande parte do estágio, a farmácia Holon Covilhã, pude contactar essencialmente com utentes provenientes do Hospital Pêro da Covilhã, maioritariamente com queixas de patologias agudas, nomeadamente infeções respiratórias, doentes que apresentavam dores fortes, crianças com sintomatologia gripal, entre outras. No entanto, também pude familiarizar-me com os utentes habituais que frequentavam a farmácia com alguma regularidade, sendo na sua maioria idosos com patologias crónicas como a Diabetes, Hipertensão Arterial e Hipercolesterémia.

Esta farmácia apresentava também uma extensa área de produtos de dermocosmética que, aliados ao serviço de dermofarmácia, constituíam também um papel importante no aconselhamento ao público, quer mais idoso, que procurava essencialmente produtos anti envelhecimento, quer de um público mais jovem, que procurava fundamentalmente produtos para a Acne, a Rosácea ou ainda para evitar a queda acentuada do cabelo. Na farmácia Pedroso, devido à sua localização no centro da cidade, o seu público-alvo era maioritariamente idosos e utentes com patologias crónicas, sendo um público que não dava, regra geral, tanta importância aos produtos de cosmética.

Na farmácia Diamantino, tive a oportunidade de auxiliar na preparação das *pill box* usadas no serviço de consulta farmacêutica e PIM, podendo constatar que existe um grande número de utentes que requerem este serviço, provavelmente porque também o público-alvo desta farmácia é essencialmente mais idoso.

No global, pude constatar que existe uma grande procura de benzodiazepinas por parte dos utentes, que poderá estar relacionada com um maior *stress* do dia-a-dia vivido por estes, sendo que frequentemente solicitavam este tipo de medicamento sem a apresentação de uma receita médica. Perante esta situação, e constatando que esta medicação já faz parte da medicação habitual daquele utente, deve-se solicitar a apresentação de uma prescrição médica (para que estes medicamentos sejam dispensados), e deve ser explicado o risco de dependência associado àquele tipo de medicação, apresentando outras alternativas que não acarretam esse risco. Pude também verificar que muitos utentes ainda não compreendem o risco do desenvolvimento de resistências aos antibióticos e que insistem em que lhe sejam dispensados determinados antibióticos antes de serem avaliados por um médico. De referir que muitos dos utentes já têm preferência por medicamentos genéricos, principalmente quando a diferença no custo é significativa.

Este estágio permitiu-me por em prática alguns conhecimentos que trazia mas, mais do que isso, possibilitou-me a aprendizagem de novos conhecimentos no que diz respeito não só a

medicamentos, mas também noutras áreas igualmente importantes numa farmácia comunitária como a dermofarmácia ou os suplementos alimentares. Permitiu-me também contactar com diferentes utentes aquando do atendimento e também durante os projetos realizados na comunidade, como os rastreios ou as sessões de esclarecimento realizadas durante o meu estágio, designadamente uma sessão de esclarecimento sobre a Diabetes e uma outra sessão dedicada a crianças sobre o risco de transmissão dos piolhos. Tudo isto irá contribuir para que possa no futuro realizar um melhor trabalho enquanto farmacêutica.

## 10. Referências bibliográficas

1. Conselho Nacional da Qualidade. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária. Disponível em [www.ordemfarmaceuticos.pt](http://www.ordemfarmaceuticos.pt) 2009;
2. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto - Regime jurídico das farmácias de oficina. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
3. Deliberação nº 1502/2014, de 3 de julho - Regulamentação das áreas mínimas das farmácias, de acordo com os nº 4 e 5 do artigo 29º e do artigo 57ºA do Decreto-Lei nº307/2007, de 31 de agosto. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
4. Deliberação nº 414/CD/2007. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
5. GrupoHolon. Manual de Atendimento Holon 2016. 2016;1-26.
6. Küpeli B, Irkilata L, Gürocak S, et al. Does tamsulosin enhance lower ureteral stone clearance with or without shock wave lithotripsy? *Urology* 2004;64(6):1111-5.
7. Ruz EN, González CC, Jaen S de L, et al. Cranberry juice and its role in urinary infections. *Ginecol y Obstet México* 2009;77(11):512-7.
8. Resumo das Características do Medicamento Colchicine, 1 mg, comprimidos. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
9. Resumo das Características do Medicamento Preterax 2,5 mg/0,625 mg, comprimidos revestidos por película. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
10. Normas técnicas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt) 2012;
11. Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de Agosto - Estatuto do Medicamento. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
12. Despacho nº 15700/2012, de 30 de novembro - Aprova os modelos de receita médica, no âmbito da regulamentação da Portaria nº 137-A/2012, de 11 de maio. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
13. Portaria nº 137-A/2012, de 11 de maio - Estabelece o regime jurídico a que obedecem as regras de prescrição de medicamentos , os modelos de receita médica e as condições de dispensa de medicamentos , bem como define as obrigações de informação a prestar a. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)

14. Circular Informativa nº166/CD/100.20.200, de 15 de setembro de 2015 - Registos de psicotrópicos e estupefacientes. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
15. GrupoHolon. Manual Do Serviço Cessação Tabágica. 2014;1-19.
16. Reichert J, Araújo AJ De, Gonçalves CMC, et al. Smoking cessation guidelines. J Bras Pneumol publicação Of da Soc Bras Pneumol e Tisiologia 2008;34(10):845-80.
17. Resumo das Características do Medicamento Elontril comprimidos de libertação modificada. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
18. Resumo das Características do Medicamento Champix 0,5 mg comprimidos revestidos por película. Disponível em [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)
19. Resumo das Características do Medicamento Norterol comprimidos revestidos. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
20. Resumo das Características do Medicamento Catapresan, 0,15 mg, comprimido. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
21. GrupoHolon. Manual Do Serviço Respirar Melhor. 2015;1-24.
22. GrupoHolon. Manual Do Serviço Aconselhamento ao Viajante. 2013;1-9.
23. GrupoHolon. Manual do Serviço de Reabilitação Auditiva. 2013;1-7.
24. GrupoHolon. Manual da qualidade. 2014;1-15.

# Capítulo 2- Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

## 1. Introdução

Os Serviços Farmacêuticos hospitalares são uma estrutura importante de prestação de cuidados de saúde a nível hospitalar, assegurando a terapêutica medicamentosa dos doentes com qualidade e segurança. São variadas as funções exercidas pelos Serviços Farmacêuticos hospitalares, desde a seleção, aquisição, produção e distribuição de medicamentos, até à farmacovigilância, farmacocinética e informação relativa a medicamentos e outros produtos farmacêuticos<sup>1</sup>.

O meu estágio em farmácia hospitalar foi realizado no Hospital Pêro da Covilhã, parte integrante do Centro Hospitalar Cova da Beira (CHCB), juntamente com o Hospital do Fundão e o Departamento de Psiquiatria e Saúde Mental da Covilhã.

O serviço de farmácia do Hospital Pêro da Covilhã apresenta-se dividido em várias áreas/sectores:

- Direção do serviço;
- Secretariado;
- Aquisição e logística hospitalar;
- Receção de medicamentos;
- Armazém;
- Distribuição em dose unitária e/ou individual;
- Distribuição em ambulatório;
- Ensaio clínicos;
- Farmacotecnia.

Durante o meu estágio tive oportunidade de acompanhar de perto e participar em algumas das tarefas executadas nas áreas de distribuição em dose unitária e /ou individual, de distribuição em ambulatório, de armazém e de farmacotecnia. Para além disso, foi-me ainda transmitida informação no que diz respeito aos procedimentos das restantes áreas/sectores numerados anteriormente. Importa ainda referir que o período de estágio em cada área foi de aproximadamente 2 semanas e sempre num horário compreendido entre as 9h00 e as 17h00, tendo o estágio completo abrangido o período entre 20 de abril e 13 de junho.

No presente capítulo serão descritos os conhecimentos que me foram transmitidos, bem como algumas das atividades nas quais pude participar ao longo do estágio.

## **2. Organização dos Serviços Farmacêuticos hospitalares**

### **2.1. Recursos Humanos**

Os Serviços Farmacêuticos hospitalares do CHCB encontram-se divididos em várias áreas/sectores mencionados anteriormente, estando associado a cada um destes um ou mais farmacêuticos, existindo assim, para além da farmacêutica diretora do serviço, um farmacêutico responsável pelo setor de aquisição e logística hospitalar, dois farmacêuticos associadas à distribuição em ambulatório, três farmacêuticos na área de distribuição em dose unitária e/ou individual e dois farmacêuticos afetos à farmacotecnia. Alguns destes farmacêuticos podem acumular funções de áreas distintas, como é o caso dos elementos afetos aos ensaios clínicos ou à monitorização farmacocinética, que são também responsáveis por outras áreas. Para auxiliar os farmacêuticos nas suas tarefas, e contribuindo também, para a qualidade dos serviços prestados, fazem parte da equipa vários técnicos de diagnóstico e terapêutica e assistentes operacionais.

### **2.2. Espaço físico**

No que diz respeito ao espaço físico dos Serviços Farmacêuticos do Hospital Pêro da Covilhã, importa realçar a existência de um armazém central, onde estão armazenados a grande maioria dos medicamentos. No entanto, existem medicamentos que estão também armazenados no armazém de distribuição em dose unitária e/ou individual, no armazém de ambulatório, ou ainda na área da farmacotecnia, correspondendo estes medicamentos àqueles que são os mais utilizados em cada uma das áreas referidas. Na área de distribuição em dose unitária e/ou individual, para além do armazém, existe uma sala de validação, onde os farmacêuticos realizam a validação das prescrições médicas, e também das cassetes que contêm a medicação para os doentes, preparadas pelos técnicos de diagnóstico e terapêutica. No Hospital Pêro da Covilhã, há ainda um armazém de quarentena (onde são armazenados produtos que aguardam aprovação para poderem ser utilizados ou produtos cujo prazo de validade expirou), duas câmaras frigoríficas, para armazenar medicamentos ou outros produtos farmacêuticos que necessitam de refrigeração, um laboratório para a preparação de manipulados não estéreis, duas salas limpas (para preparação de citotóxicos, manipulados estéreis e bolsas de nutrição parentérica), entre outros.

## 3. Seleção, aquisição e receção de medicamentos no CHCB

### 3.1. Seleção de medicamentos

A seleção de medicamentos no CHCB é da responsabilidade da Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) em conjunto com o conselho de administração. A CFT é constituída por 3 médicos e 3 farmacêuticos (inclusive o responsável pelo setor de aquisição e logística hospitalar) sendo o seu presidente o diretor clínico ou um dos seus adjuntos. Esta comissão reúne mensalmente, ou sempre que o presidente considere necessário. Os objetivos que esta comissão visa alcançar são diversos:

- Selecionar os medicamentos a utilizar no hospital com base em critérios de eficácia, segurança e custo. Para este ponto importa ter em consideração vários fatores:
  - ✓ Se o medicamento faz parte do Formulário Nacional Hospitalar de Medicamentos (FNHM);
  - ✓ Se existe ou não alternativa (s) terapêutica (s) na instituição e se sim qual apresenta melhor relação benefício/custo;
  - ✓ Possibilidade de exclusão de medicamentos que não apresentam consumo nos últimos dois anos;
  - ✓ Outros.
- Apreciar pedidos de introdução ou exclusão de medicamentos no guia farmacoterapêutico (que contem os medicamentos e outros produtos farmacêuticos prontamente disponíveis para prescrição e uso no CHCB);
- Elaborar e atualizar o guia farmacoterapêutico;
- Estudar a evolução económica;
- Promover o uso adequado dos medicamentos através de uma série de medidas:
  - ✓ Elaboração de normas de prescrição e dispensa de medicamentos;
  - ✓ Promover o uso da denominação comum internacional (DCI) dos medicamentos;
  - ✓ Promover a prescrição médica eletrónica;
  - ✓ Aprovar e implementar o cumprimento da farmacovigilância;
  - ✓ Entre outras.

A CFT é assim indispensável para a elaboração e atualização do guia farmacoterapêutico do CHCB, sendo que esta apresenta adicionalmente outras competências igualmente importantes:

- Atua como órgão de ligação entre os serviços de ação médica e os Serviços Farmacêuticos;

- Emite pareceres e relatórios de todos os medicamentos a incluir ou a excluir no guia farmacoterapêutico. Os pareceres dos medicamentos extra formulário (FNHM) são enviados trimestralmente ao INFARMED;
- Zela pelo cumprimento do FNHM e suas adendas (guia farmacoterapêutico do CHCB);
- Pronuncia-se sobre a correção da terapêutica aos doentes, quando solicitado pelo seu presidente e sem quebra das normas deontológicas;
- Aprecia com cada serviço hospitalar os custos da terapêutica que periodicamente lhe são submetidos;
- Elabora, observando o parecer de custos, a lista de medicamentos de urgência que devem existir nos serviços de ação médica;
- Propõe o que achar oportuno dentro das matérias da sua competência<sup>2</sup>.

### 3.2. Aquisição de medicamentos

A aquisição de fármacos e/ou outros produtos farmacêuticos encontra-se ao encargo do farmacêutico afeto ao setor de aquisição e logística hospitalar e é indispensável para garantir que estes se encontrarão disponíveis quando necessários.

Inicialmente, no processo de aquisição devem ser analisados uma série de parâmetros, tais como os consumos mensais e diários e o ponto de encomenda de cada produto. Este último pode ser considerado o indicador mais relevante, dado que sempre que o *stock* do produto se encontre abaixo deste deverá proceder-se ao pedido de compra, que poderá ser urgente (com entrega nas 48 horas seguintes) ou normal (com entrega dentro de 7 dias). Este pedido é enviado para o aprovisionamento que elabora a respetiva nota de encomenda, que deve ser posteriormente assinada pela administração do hospital, e por fim enviada ao fornecedor. No caso de se tratarem de pedidos de estupefacientes, psicotrópicos ou benzodiazepinas, deve também ser enviado devidamente preenchido o formulário de requisição, isto é, o anexo VII da Portaria nº 981/98 de 8 de junho- “Requisição de substâncias e suas preparações compreendidas nas tabelas I, II, III e IV com exceção da II-A, anexas ao Decreto-Lei 15/93 de 22 de janeiro” (anexo II deste documento) - que será posteriormente devolvido aos Serviços Farmacêuticos (após preenchimento pelo fornecedor) aquando da receção destes medicamentos. Relativamente aos gases medicinais, o seu pedido é feito semanalmente sendo que estes deverão ser entregues nas 48 horas seguintes. No caso de gases armazenados em cisterna existem algumas particularidades, sendo que o pedido é feito apenas após a sua entrega e a imputação do seu consumo aos serviços clínicos é feita em percentagem tendo em conta a movimentação de cada serviço. Quando se tratam de pedidos de medicação urgentes, desde que não sejam de medicamentos de uso exclusivo hospitalar, é possível elaborar-se o pedido de compra a um distribuidor local ou até mesmo a uma farmácia comunitária. É ainda possível recorrer a empréstimos de outros hospitais sempre que necessário, desde que estes sejam futuramente regularizados<sup>3</sup>.

### 3.3. Autorizações de utilização especial

No CHCB, tal como noutros hospitais, é possível a obtenção de medicamentos que não possuem autorização de introdução no mercado (AIM) em Portugal, que por algum motivo não se encontrem de momento a ser comercializados no nosso país (mesmo possuindo AIM) ou que apesar de ainda não terem AIM demonstraram em provas preliminares benefício para uma determinada aplicação clínica.

Para que tal possa acontecer, o hospital, designadamente o diretor clínico, deve efetuar um pedido de autorização de utilização especial (AUE) ao INFARMED. Após avaliação este pode aceitar ou recusar o pedido. Se aprovada a AUE, a comunicação ao hospital desta aprovação deve conter a seguinte informação:

- Identificação do estabelecimento de saúde autorizado a utilizar o medicamento;
- Identificação do medicamento autorizado, incluindo composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas e forma farmacêutica;
- Prazo de validade da autorização:
  - ✓ 1 Ano para medicamentos com benefício clínico bem reconhecido;
  - ✓ Correspondente à duração do tratamento para fármacos com estudos preliminares de benefício clínico (máximo 1 ano);
  - ✓ Para medicamentos destinados a ensaios clínicos terá a validade correspondente ao período necessário para esse processo.
- Número de unidades autorizadas.

É indispensável que o medicamento, se aceite a sua AUE, seja acompanhado de uma série de documentos em língua portuguesa, que permitam conhecer as suas condições de armazenamento, manuseamento, compatibilidades e incompatibilidades e estabilidade. Para além destes, é necessário que seja também enviado uma cópia do RCM ou documento equivalente, a identificação do titular de AIM no país de origem e cópia dessa AIM (quando aplicável) ou o certificado da empresa fabricante (quando se tratam de medicamentos não requeridos ao abrigo de AIM).

Importa ainda referir que, para se realizarem pedidos de AUE de medicamentos não pertencentes ao FNHM para além do requerimento ao INFARMED, deve ser apresentada uma justificação clínica que inclua a seguinte informação:

- Indicações terapêuticas para as quais se pretende o medicamento e sua posologia;
- Estratégias terapêuticas para a situação clínica em causa;
- Listagem de terapêuticas existentes no mercado e motivos da sua inadequação à situação em análise;
- Fundamentação científica da utilização do fármaco<sup>4</sup>.

### **3.4. Receção de encomendas**

Diariamente no CHCB o técnico de diagnóstico e terapêutica do armazém central tem a seu encargo a função de rececionar as encomendas. Este deverá efetuar uma verificação da qualidade dos produtos recebidos, das condições de armazenamento durante o transporte (por exemplo, no caso de se tratarem de medicamentos termolábeis é importante garantir que a cadeia de frio não foi quebrada), se o produto recebido corresponde ao encomendado, a quantidade de cada produto bem como a data de validade e o lote correspondente. Os serviços administrativos devem também conferir se esta informação foi introduzida corretamente no sistema informático.

Na receção de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (que deve ser realizada por um farmacêutico) é importante verificar a presença do anexo VII da Portaria nº 981/98 de 8 de junho (anexo II deste documento) e que este esteja devidamente preenchido pelo laboratório fornecedor. Os medicamentos derivados do plasma têm de possuir o certificado de libertação do lote do INFARMED e as matérias-primas para preparação de medicamentos manipulados devem apresentar um boletim de análise (com o lote respetivo).

Importa ainda referir que durante a conferência e receção de citotóxicos, o manuseamento destes deve ser sempre efetuado com luvas, sendo que existem, na área de receção de encomendas, não só prateleiras reservadas para este tipo de medicação, mas também uma caixa para o seu transporte.

## **4. Sinalética de medicamentos no CHCB**

No CHCB existem uma série de medidas que melhoram a qualidade dos serviços prestados pela farmácia ao reduzirem a probabilidade de ocorrência de erros e ao aumentarem assim segurança no que diz respeito ao uso de medicamentos. De seguida encontram-se descritas com maior detalhe algumas destas medidas.

### **4.1. Medicamentos fotossensíveis**

Os medicamentos fotossensíveis, quando reembalados, são protegidos da luz através de um revestimento adequado e devidamente identificados com um rótulo<sup>5</sup>.

### **4.2. Medicamentos potencialmente perigosos**

Os eletrólitos e as soluções concentradas (Cloreto de Potássio 7,5%, Glucose 20%, Cloreto de Sódio 20%, entre outros) representam um risco significativo para os doentes e por isso, nos serviços clínicos, encontram-se armazenados separadamente dos restantes medicamentos em armário fechado, sendo que apenas o Bloco Operatório, a Unidade de Cuidados Intensivos (UCI), a Unidade de Acidente Vascular Cerebral (AVC), a Unidade de Neonatologia, a Urgência Geral, Obstétrica e Pediátrica possuem estes medicamentos. Os restantes serviços, quando necessário,

devem efetuar um pedido aos Serviços Farmacêuticos do CHCB ou, caso este tipo de medicação seja necessária durante o período compreendido entre as 00h00 e as 9h00, devem então dirigir-se à Urgência Geral.

Estes medicamentos, bem como muitos outros que são considerados potencialmente perigosos (tabela 6), estão identificados nas prateleiras ou gavetas onde se encontram armazenados com uma sinalética adequada, nomeadamente através de um sinal de perigo (sinal triangular com um ponto de exclamação) <sup>5,6</sup>.

Tabela 6- Exemplos de medicamentos ou classe de medicamentos considerados potencialmente perigosos.

<b>Medicamentos Potencialmente Perigosos</b>
Agonistas adrenérgicos intravenosos
Antagonistas adrenérgicos intravenosos
Anestésicos gerais
Antiarrítmicos intravenosos
Agentes antitrombóticos
Citotóxicos
Dextrose hipertónica
Soluções para diálise
Medicamentos de administração epidural ou intratecal
Estupefacientes opióides
Bloqueadores neuromusculares

### **4.3. Medicamentos *look-alike*, *sound-alike***

Os medicamentos *look-alike*, *sound-alike* (LASA) são medicamentos que apresentam escrita ou fonética semelhante (por exemplo, haloperidol e alopurinol) e como tal são identificados através da alteração do grafismo com o uso de maiúsculas e de sublinhado (por exemplo haLOPERIDol e aloPURINol) com o intuito de assim facilitar a sua identificação e reduzir os erros no armazenamento e também na administração destes<sup>5</sup>.

### **4.4. Embalagens idênticas**

Nos armazéns: central, de dose unitária e/ou individual, de ambulatório e de farmacotecnia, os medicamentos que possuem embalagens idênticas encontram-se identificados através de um sinal “STOP”. Este tipo de sinalética permite alertar o profissional de saúde para que este tome mais atenção e assim minimizar a possibilidade de troca da medicação<sup>5</sup>.

## 5. Distribuição

No Hospital Pêro da Covilhã existem diferentes tipos de distribuição:

1. Distribuição em regime de internamento:
  - 1.1. Reposição de *stocks* nivelados;
  - 1.2. Distribuição em dose unitária e/ou individual.
2. Distribuição em ambulatório;
3. Distribuição de medicamentos com legislação restritiva associada, isto é, hemoderivados, estupefacientes e psicotrópicos.

Independentemente do tipo de distribuição é da responsabilidade dos profissionais de saúde afetos a cada área/setor de distribuição que os objetivos centrais desta tarefa sejam cumpridos, designadamente a redução dos erros relacionados com a medicação, a racionalização do uso do medicamento, a garantia do cumprimento da prescrição e a monitorização da terapêutica.

### 5.1. Reposição de *stocks* nivelados: introdução

No Hospital Pêro da Covilhã é, como já referi, no armazém central que se encontram armazenados a grande maioria dos medicamentos e outros produtos farmacêuticos. É da responsabilidade dos técnicos de diagnóstico e terapêutica e dos assistentes operacionais desta área a reposição de *stocks* nivelados nos diferentes serviços clínicos, a reposição de *stock* nas Pyxis® (ver tabela 7 relativa aos sistemas de automatização no CHCB), a reposição de *stock* da farmácia do hospital do Fundão e do ambulatório, quer do hospital da Covilhã quer do Fundão, e ainda a restituição de *stock* do armazém da dose unitária (onde são preparadas as cassetes de dose unitária). Para além disso, os técnicos de diagnóstico e terapêutica, em conjunto com os assistentes operacionais desta área, deverão ainda efetuar o controlo da validade dos produtos existentes na Pyxis®, no armazém central e nos carros de *stock* nivelados.

Tabela 7- Sistemas de automatização existentes no CHCB e respetivas funções.

Sistemas de automatização	Funções
KARDEX®	Fornecimento semiautomático de medicamentos em doses individuais
FDS®	Reembalagem de formas farmacêuticas orais sólidas
Consis®	Armazenamento e dispensa de medicamentos em ambulatório
Pyxis®	Distribuição semiautomática de medicamentos

### 5.1.1. Organização do armazém central

No armazém os medicamentos estão guardados em prateleiras e organizados por ordem alfabética. Os antibióticos, os medicamentos de ambulatório, os hemoderivados, os contraceptivos, os anestésicos, os colírios e os leites encontram-se em prateleiras distintas e separadas dos restantes medicamentos, também ordenados por ordem alfabética. Os medicamentos para administração oral e injetáveis que possuem maior movimentação encontram-se também em gavetas devidamente identificadas e colocadas sobre o balcão do armazém para que o acesso a estes seja mais rápido.

Os citotóxicos encontram-se em prateleiras não só isoladas dos restantes produtos como também devidamente assinaladas com a informação “medicamentos citotóxicos, manusear com cuidado”, existindo junto destes um estojo de emergência que contém todo o equipamento necessário em caso de derrame. Os suplementos alimentares e os produtos destinados à preparação de bolsas parentéricas encontram-se também no armazém em prateleiras e devidamente identificados. Os estupefacientes e psicotrópicos estão armazenados em cofre de dupla fechadura e os injetáveis de grande volume e os desinfetantes encontram-se em salas distintas e à parte do armazém. Os produtos inflamáveis encontram-se numa divisória própria que apresenta as seguintes características, indicadas no manual de farmácia hospitalar disponível no *site* do INFARMED:

- Acesso pelo interior com porta corta-fogo de fecho automático, a abrir para fora;
- Paredes interiores reforçadas e resistentes ao fogo;
- Vão exterior fusível;
- Chão impermeável, inclinado, rebaixado e drenado para bacia coletora, não ligado ao esgoto;
- Detetor de fumo;
- Sistema de ventilação;
- Instalação elétrica do tipo antideflagrante;
- Chuveiro de teto acionado por alarme;
- Sinalética apropriada<sup>1</sup>.

Os produtos que necessitam de refrigeração encontram-se numa câmara frigorífica onde existe um sistema de controlo da temperatura.

### 5.1.2. Reposição de *stocks*: carros de *stocks* nivelados, Pyxis®, farmácia do Hospital do Fundão, armazém de ambulatório e serviços clínicos do CHCB

- Carros de *stocks* nivelados

A reposição de *stock* destes carros é feita segundo uma calendarização semanal. Os carros da Unidade AVC e UCI devem ser entregues na farmácia por um assistente operacional no dia

anterior à data prevista para a reposição de *stock* para que possam também ser preparados de véspera. Esta preparação consiste na verificação do *stock* existente de cada produto e comparação com o seu *stock* máximo com o intuito de restitui-lo. Mensalmente devem ser retirados os produtos cujo prazo de validade tenha expirado. Os carros dos restantes serviços, Neonatologia, Unidade de Cirurgia de Ambulatório, Urgência Obstétrica e Viatura médica de emergência e reanimação (VMER) são entregues pelo assistente operacional na farmácia, preparados e entregues novamente no serviço no próprio dia.

- Pyxis®

Na Pyxis® dos serviços de Urgência Geral, Urgência Pediátrica, Unidade de Cuidados Agudos Diferenciados (UCAD) e Bloco Operatório a reposição de *stock* de medicamentos, exceto estupefacientes, psicotrópicos e hemoderivados, é também do encargo do técnico de diagnóstico e terapêutica responsável pelo armazém central e encontra-se igualmente calendarizada. À segunda-feira são restituídos os *stocks* de todos estes serviços, à quarta-feira e sexta-feira é feita a reposição das Urgências (Geral e Pediátrica) e da UCAD e à quinta-feira é realizada a reposição de *stock* da Pyxis® do Bloco Operatório.

Para que esta restituição possa ocorrer é emitida uma listagem com o nome dos produtos, a quantidade máxima e mínima, a quantidade existente e a quantidade a repor. Posto isto, o técnico deverá preparar a medicação em falta, sendo que a medicação que necessita de refrigeração deve ser mantida na câmara frigorífica até à ida ao serviço, devendo ser transportada num saco térmico de forma a manter as condições de armazenamento destes medicamentos. No serviço, devem ser introduzidos os produtos a repor, verificar se a quantidade existente desse produto coincide com a quantidade indicada no sistema informático e ainda registar a validade do produto. Relativamente a este último aspeto, deverá permanecer registada a validade que expira mais rapidamente.

Mensalmente, tal como para os carros de *stock* nivelados, devem ser removidos os medicamentos ou outros produtos cujo prazo de validade tenha expirado.

Importa ainda referir que aquando da reposição de *stock* na Pyxis® da Urgência Geral, é também verificado e repostado o *stock* máximo da triagem.

- Farmácia do Fundão, armazém do ambulatório e serviços clínicos do CHCB

A reposição de *stock* dos serviços farmacêuticos do hospital do Fundão, do armazém de ambulatório do hospital da Covilhã e do Fundão e a reposição de *stock* dos restantes serviços clínicos do hospital da Covilhã é feita através da realização de um pedido por parte destes serviços. Este pedido é realizado informaticamente, sendo que o técnico ou o assistente operacional deverá proceder à sua impressão para que possa posteriormente reunir toda a medicação ou outros produtos requeridos, incluindo desinfetantes, injetáveis de grande volume e material de penso. Posto isto, o técnico de diagnóstico e terapêutica deverá conferir o pedido

antes de este ser entregue no respetivo serviço. No caso de se tratar de um pedido para os serviços farmacêuticos do hospital do Fundão, é da responsabilidade do motorista do hospital realizar a sua entrega. Tal como para os pontos anteriores, também esta reposição encontra-se calendarizada, devendo-se concretizar apenas os pedidos dos serviços no dia agendado, mesmo que o pedido seja feito previamente. Excecionalmente, se existir uma justificação viável por parte do serviço requerente, o pedido poderá ser executado noutra dia. Estes pedidos para reposição de *stock* dos serviços só podem ser realizados até às 14h00, caso contrário já só serão concretizados no dia útil seguinte.

### 5.1.3. Controlo de *stocks* e validades dos armazéns dos Serviços Farmacêuticos

No armazém central, assim como no armazém da dose unitária, são realizadas diariamente auditorias internas ao *stock* físico. De terça-feira a quinta-feira são feitas contagens que têm em conta a classificação ABC dos produtos (são contados cerca de 40 a 60 artigos, divididos em duas partes, sendo uma delas produtos com classificação A e outra B ou C). Esta contagem é comparada com o *stock* informático dos produtos e caso existam discrepâncias deverá analisar-se cada situação confrontando as diferenças que existem entre os armazéns e posteriormente proceder-se à sua correção. No armazém da dose unitária devem também ser contabilizados os *stocks* dos sistemas automatizados (Kardex® e FDS® - ver tabela 7).

Semanalmente são ainda feitas contagens dos medicamentos termolábeis, dos suplementos alimentares (dietas) e de qualquer outro produto que se considere pertinente, nomeadamente injetáveis de grande volume, material de penso, anestésicos, desinfetantes, produtos inflamáveis, pomadas e colírios.

No que diz respeito ao controlo das validades é impressa mensalmente uma listagem que contém todos os produtos com prazo de validade a terminar nos quatro meses seguintes. Deve ser feita a verificação, contagem e registo das quantidades destes produtos em todos os armazéns do hospital da Covilhã.

Perante esta informação, o farmacêutico responsável pela área de aquisição e logística deve tomar medidas de forma a escoar os produtos que não têm viabilidade de serem consumidos antes do término da sua validade, nomeadamente contactar com o fornecedor ou outros hospitais. No caso de contacto com os fornecedores, estes poderão decidir creditar o hospital com o valor do produto (que é devolvido) ou, alternativamente, trocá-lo por outro produto. Caso isto aconteça estes deverão ser transferidos para o armazém de quarentena e a devolução ao laboratório deve ser registada informaticamente.

No final de cada mês os produtos com prazo de validade expirado e cuja devolução não foi aceite são retirados de todos os armazéns e transferidos para o armazém de quarentena. Posteriormente, até dia 10 do mês, seguinte deve proceder-se ao seu abate informático (bem como dos produtos que foram retirados da Pyxis® ou dos carros de *stock* nivelados devido à

expiração dos seus prazos de validade), sendo que este abate deve ser realizado na presença do administrativo e do farmacêutico responsáveis pela logística hospitalar ou de um técnico delegado para esta função. No final, deve ser enviado um relatório ao conselho de administração relativo ao abate realizado.

Importa ainda referir que quando o técnico se dirige aos serviços com o intuito de repor os *stocks*, deverá também realizar o controlo das validades, de forma a tomar medidas que permitam escoar mais facilmente os produtos com prazo a expirar, por exemplo transferindo-os para outros serviços que consumam mais regularmente esse produto<sup>7</sup>.

## 5.2. Distribuição a doentes em ambulatório

No serviço de ambulatório do CHCB efetua-se a dispensa gratuita de medicamentos, cujo fornecimento se encontra abrangido pela legislação ou que tenham sido aprovados pelo conselho de administração do Hospital (tabelas 8 e 9). Esta dispensa é feita não só a doentes em regime de ambulatório, mas também a doentes provenientes das consultas externas, do hospital de dia ou do internamento (aquando da alta), sendo realizada em instalações adequadas de forma a garantir a confidencialidade e privacidade dos doentes<sup>8</sup>.

Tabela 8- Situações para as quais se efetua a dispensa de medicamentos em ambulatório no CHCB de acordo com a legislação.

Situações para as quais a cedência de medicamentos é abrangida pela legislação
Patologia oncológica
Patologia psiquiátrica
Insuficiência Renal Crónica
Medicamentos de transplantação renal e cardíaca
Seropositivos (HIV/SIDA)
Esclerose Múltipla
Esclerose Lateral Amiotrófica
Hepatite C
Fibrose Quística
Síndrome de <i>Lennox-Gastaut</i>
Doença de <i>Machado Joseph</i>
Acromegália
Hemofilia
Paramiloidose
Planeamento Familiar
Défice de Hormona do Crescimento
Doença de Crohn ou Colite Ulcerosa
Tuberculose
Artrite reumatoide, Espondilite anquilosante, Artrite psoriática, Artrite idiopática juvenil poliarticular e Psoríase em placas
Síndrome de <i>Allagille e Fallot</i>

Tabela 9- Situações cuja dispensa de medicamentos em ambulatório no CHCB foi autorizada pela administração do Hospital.

Situações para as quais a cedência foi autorizada pela administração do Hospital
Hipertensão Pulmonar
Hepatite B
Osteoporose grave
Transplantados hepáticos e do intestino
Terapia imunossupressora e antivírica para transplantados
VIH/SIDA (outros anti-infecciosos)
Medicamentos manipulados (xaropes, colírios fortificados, etc.)

A distribuição de medicamentos em ambulatório é essencial, dado que a grande maioria destes medicamentos apresentam uma janela terapêutica estreita e/ou exigem um controlo mais frequente por parte de um especialista, tornando-se assim indispensável a monitorização para identificação de possíveis interações medicamentosas, reações adversas e controlo da adesão à terapêutica. Para além disso este tipo de distribuição permite também racionalizar o uso do medicamento, reduzindo assim os custos associados.

A dispensa de medicamentos em ambulatório só pode ser feita mediante a apresentação de uma prescrição médica que contenha os seguintes dados: identificação do doente e do prescriptor, data de emissão e validade da prescrição, identificação do medicamento a ceder (DCI, dose, posologia, forma farmacêutica e número de unidades a dispensar/duração do tratamento). Após a validação da prescrição pelo farmacêutico, este deve preparar e conferir a medicação a dispensar, devendo também ceder ao doente a informação quer verbal quer escrita relativa ao seu tratamento. No caso da informação escrita, esta é cedida na forma de folhetos informativos elaborados pelos próprios farmacêuticos do CHCB. No ato da dispensa, tratando-se de uma receita eletrónica em papel esta deve ser assinada pelo farmacêutico e pelo doente ou seu representante, tratando-se de uma receita eletrónica *online* é apenas necessário anotar (no sistema informático) a data da dispensa e o nome do adquirente juntamente com o seu número de identificação. No final de todo o processo é necessário efetuar o registo da saída dos medicamentos no processo informático do doente.

No que diz respeito à quantidade de medicamentos dispensados a cada doente e com o intuito de reduzir o desperdício e promover o uso racional do medicamento, que é um dos principais objetivos desta área, esta deve ser ajustada à duração da terapia. Caso a duração do tratamento seja superior a um mês deve então proceder-se a dispensas parcelares da medicação (exceto doentes com VIH/SIDA em que a cedência da medicação é feita para três meses de tratamento em vez de um). Para doentes que vivam a uma grande distância do hospital e/ou que não possam dirigir-se a este, pode realizar-se o envio da sua medicação para

um período máximo de dois meses via correio. Este último aspeto não se aplica para a talidomida, hemoderivados, contraceptivos, medicamentos que necessitam de refrigeração ou que sejam muito dispendiosos.

É ainda responsabilidade dos farmacêuticos afetos à distribuição em ambulatório conferir as dispensas efetuadas e enviar a faturação de todo o receituário faturável<sup>8</sup>.

Durante o meu estágio na área de ambulatório tive a oportunidade de efetuar dispensa supervisionada de medicação a diversos doentes e assim também conhecer melhor a realidade na qual muitos destes vivem, o que me irá ajudar no futuro não só enquanto profissional de saúde, mas também como Ser Humano em geral.

### **5.3. Circuito de estupefacientes e psicotrópicos**

É também um encargo dos farmacêuticos responsáveis pela área da distribuição em ambulatório a dispensa de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos (contidos nas tabelas I-A, II-C e IV, exceto benzodiazepinas, do Decreto-Lei 15/93 de 22 de janeiro) para os serviços clínicos.

A movimentação destes medicamentos entre os Serviços Farmacêuticos e os restantes serviços clínicos deve ser efetuada recorrendo-se ao uso de um livro de registos adequado e aprovado pelo INFARMED (anexo III deste documento) <sup>9</sup>. Assim, a cedência só pode ser concretizada mediante a apresentação da folha de registo devidamente preenchida com o nome e dose da substância ativa a ceder, a identificação do doente e o número do seu processo clínico, a data da administração e a assinatura de quem administrou a medicação. Para além disso, a folha tem de ser assinada pelo diretor do serviço ou legal substituto a que se destina a medicação. Após a dispensa, o farmacêutico deverá ainda imputar informaticamente os estupefacientes e psicotrópicos dispensados, sendo essencial o registo do respetivo lote. No dia seguinte, o farmacêutico deve conferir as cedências efetuadas para posteriormente a folha de registo ser assinada pelo diretor dos serviços farmacêuticos ou legal substituto.

Para além dos estupefacientes e psicotrópicos que estão armazenados em cofre de dupla fechadura na área de ambulatório, existem ainda os que se encontram armazenados na Pyxis® nos serviços clínicos. Relativamente a este último caso, para se efetuar a reposição de *stocks*, não se recorre ao livro de registos, mas sim a uma listagem que é emitida pelo próprio sistema e que permite ao farmacêutico sempre que necessário concretizar esta tarefa (à semelhança dos restantes medicamentos armazenados na Pyxis® e cuja restituição do *stock* é da responsabilidade dos profissionais afetos à distribuição de *stocks* nivelados). É ainda fundamental que mensalmente o farmacêutico responsável pelo ambulatório se dirija aos serviços clínicos para contagem e verificação dos lotes e validades dos estupefacientes e psicotrópicos aí existentes. Para aumentar o controlo relativo a este tipo de medicação é ainda feita uma contagem semanal dos estupefacientes e psicotrópicos existentes na farmácia<sup>10</sup>.

## 5.4. Circuito de hemoderivados

Para a cedência de hemoderivados é necessária a apresentação da folha de requisição/distribuição/administração de hemoderivados. Esta é constituída por duas vias, a via farmácia e a via serviço (anexo IV e V deste documento respetivamente)<sup>11</sup>. Para que o farmacêutico possa dispensar este tipo de medicação, é necessário que os quadros A e B que constituem a ficha de requisição, e relativos, respetivamente, à identificação do médico e do doente e à justificação clínica para a dispensa, estejam preenchidos pelo prescriptor. Aquando da cedência o farmacêutico deverá preencher o quadro C relativo ao registo da distribuição, sendo neste passo essencial o registo do lote do medicamento bem como do número de libertação desse lote pelo INFARMED. Este passo tem por objetivo facilitar a identificação de doentes que poderão ser afetados pela deteção de qualquer anomalia com um determinado lote (por exemplo uma contaminação, e conseqüente risco de contágio de doença infecciosa). No final, cada unidade dispensada deve ser etiquetada com a identidade do doente e do serviço requisitante, e a via farmácia da folha de requisição deve permanecer na farmácia e a via serviço segue para o serviço, onde depois será preenchido o quadro D relativo à administração do hemoderivado pelo enfermeiro, sendo posteriormente arquivada no processo clínico do doente. Periodicamente o farmacêutico responsável pela área de ambulatório deverá dirigir-se aos serviços clínicos e conferir se este preenchimento foi realizado corretamente<sup>12</sup>.

## 5.5. Distribuição em dose unitária e/ou individual

Este tipo de distribuição consiste na entrega diária de medicamentos em dose individual unitária, isto é, a medicação é preparada individualmente por doente e para um período de 24 horas, exceto ao fim-de-semana em que a medicação é preparada para três dias. Existem, no entanto, alguns medicamentos que não são distribuídos por esta via, como é o caso de soluções injetáveis de grande volume (distribuídos como descrito no ponto 5.1.2.), medicamentos estupefacientes e psicotrópicos e hemoderivados (medicamentos que apresentam um circuito especial de distribuição já descrito nos pontos 5.3. e 5.4.).

Para que este tipo de distribuição tenha início é necessário que o médico avalie o doente e efetue uma prescrição eletrónica. No CHCB estas prescrições são efetuadas *online* e enviadas diretamente para a farmácia. Na UCI e na unidade de AVC o sistema informático difere do dos restantes serviços, o que exige que a prescrição efetuada pelo médico seja transcrita pelo farmacêutico para o sistema informático comum. Posto isto, é da responsabilidade do farmacêutico validar todas as prescrições, isto é, detetar a possível existência de interações medicamentosas, alergias ao medicamento ou duplicação da terapêutica; confirmar se a dose, a via e frequência de administração são corretas; assegurar a existência da justificação no caso de se tratarem de certos medicamentos, como antibióticos de uso exclusivo hospitalar (por exemplo, o Linezolid ou o Colistimetato de sódio) ou medicamentos com um custo elevado

comparativamente às alternativas terapêuticas existentes, como é o caso da Carboximaltose Férrica cujo custo é muito superior ao do Óxido de Ferro, sendo por isso necessária a confirmação desta medicação. Caso exista alguma dúvida relacionada com o tratamento do doente, o farmacêutico deverá contactar o respetivo médico ou, caso não seja possível, deverá fazer uma notificação escrita no processo do doente e alertar os enfermeiros.

Após a validação da prescrição pelo farmacêutico, este emite o mapa de distribuição por cama para que os técnicos de diagnóstico e terapêutica, com a colaboração dos assistentes operacionais, possam preparar a medicação individualizada em gavetas que contêm a identificação do doente através do nome, número de processo, serviço em que está internado, o número da cama e a data da preparação da medicação. Para além disso, o farmacêutico envia também este mapa para os sistemas de automatização utilizados para auxiliar neste processo, designadamente o Kardex® e o FDS®. Para minimizar a possível ocorrência de erros relacionados com a medicação, os doentes com nomes idênticos deverão ser identificados através de uma etiqueta com essa referência, os injetáveis cuja dose a administrar não corresponde à totalidade da ampola devem ser identificados com uma etiqueta com a informação “dose parcial”, e toda a medicação que não pode ser colocada nas gavetas do doente e que, por isso, é transportada em caixa, como é o caso de suplementos alimentares ou medicamentos de maiores dimensões, deve também ser identificada (com o doente a que se destinam), sendo que existem caixas de transporte para os diferentes serviços clínicos.

Depois de a medicação estar preparada, o farmacêutico deve realizar uma conferência aleatória desta e efetuar as alterações nas gavetas dos doentes que sofreram ajustes na sua terapia posteriormente à emissão do mapa de distribuição. No final deve ainda proceder à imputação dos consumos para que o assistente operacional faça a entrega da medicação no serviço respetivo. Esta entrega é feita em horários previamente estabelecidos (compreendidos entre as 14h20 e as 17h00), sendo que primeiramente é entregue a medicação nos serviços de Cirurgia 1 e 2, Ortopedia e especialidades cirúrgicas (Urologia, Oftalmologia, Otorrinolaringologia, Estomatologia, Reumatologia e Cirurgia Estética Reconstructiva), de seguida nos serviços de Pediatria, Obstetrícia, Ginecologia e Unidade de AVC e para finalizar é entregue a medicação na UCI, na UCAD, na Gastrenterologia, na Medicina 1 e 2, nas especialidades médicas (Cardiologia, Neurologia) e ainda no serviço de Pneumologia. O serviço de Psiquiatria apresenta algumas singularidades no que diz respeito à entrega da medicação, dado que é o motorista do hospital quem efetua esta entrega no edifício do Departamento de Psiquiatria e Saúde Mental da Covilhã, sendo esta entrega feita, regra geral, às 17h00, embora o horário não esteja definido. Para garantir o cumprimento destes horários, é essencial que a preparação da medicação seja feita pela mesma ordem.

A medicação que necessita de refrigeração é retirada pelo assistente operacional do frigorífico, já devidamente preparada e identificada (com o serviço respetivo, o doente a que se destina e uma etiqueta referente a esta condição de armazenamento) imediatamente antes da sua

entrega e é transportada com um termoacumulador. Depois de entregue, o enfermeiro deverá armazená-la novamente no frio. É ainda importante que o consumo de certos medicamentos seja registado por lote, nomeadamente antivíricos, anticorpos monoclonais, fatores estimulantes da hematopoiese, antineoplásicos, imunomoduladores e certos medicamentos específicos como o Riluzol, o Sildenafil e o Bosentano. Este registo facilita a rastreabilidade da medicação quando e se necessário.

### 5.5.1. Pedidos urgentes de medicação

Quando existem alterações da medicação nos doentes já internados, nas quais podem ser adicionados ou retirados medicamentos, ou quando são internados novos doentes que necessitam de medicação, e caso estas alterações ocorram após a preparação das cassetes, mas antes da entrega dos medicamentos pelo assistente operacional, o farmacêutico como já referido anteriormente deve concretizar estas alterações e posteriormente esta medicação é entregue com a restante. Caso seja um pedido mais urgente o assistente operacional do serviço requisitante também poderá deslocar-se à farmácia para levantar essa medicação. No caso de estas alterações serem efetuadas após a entrega da medicação, o farmacêutico prepara a medicação adicional em sacos individuais que contêm uma etiqueta identificativa do doente e é da responsabilidade do assistente operacional da farmácia efetuar a entrega desta nos horários estabelecidos, nomeadamente às 9h30, às 12h00, às 16h00 ou às 17h30. Tal como para a situação descrita anteriormente caso se trate de um pedido que necessite de ser satisfeito mais rapidamente o assistente do serviço requerente poderá levantar esta medicação na farmácia.

### 5.5.2. Devolução da medicação não administrada

Aquando da entrega da medicação, o assistente operacional é também responsável pela recolha das cassetes do dia anterior e dos termoacumuladores, sendo que neste último caso a recolha é feita duas vezes por semana. Juntamente com as cassetes é também devolvida à farmácia a medicação que não foi administrada ao doente, seja porque o doente teve alta, ou porque a administração dessa medicação foi suspensa após a entrega dos medicamentos no serviço ou por se tratar de medicação usada apenas em SOS e por isso poder não ter sido necessária. É importante que os medicamentos sejam contados, conferidos e que a devolução seja registada no perfil informático do doente.

### 5.5.3. Preparação da medicação para o fim-de-semana

Como referido previamente, a preparação da medicação para o período de fim-de-semana apresenta algumas particularidades. Desde logo, a preparação pelos técnicos de diagnóstico e terapêutica é feita na sexta-feira para os três dias seguintes, sendo que cada módulo ou cassette é identificada através de duas etiquetas, uma com o dia do mês a que corresponde a cassette e uma outra com uma das seguintes referências: “sexta-feira para sábado”, “sábado para domingo” ou “domingo para segunda-feira”. O assistente operacional da farmácia deve

proceder à entrega das três cassetes na sexta-feira. Assim sendo, sempre que hajam alterações na medicação dos doentes internados ou novos doentes que necessitem de medicação o farmacêutico de serviço deve validar e preparar estas alterações. Por exemplo, caso estas ocorram ao sábado, o farmacêutico deve então proceder à preparação da medicação para um período de dois dias. Por vezes, e quando a situação clínica dos doentes o permita, estes podem passar o período de fim-de-semana nas suas casas, e assim sendo a medicação é preparada para os três dias em sacos que depois serão entregues aos doentes nos respetivos serviços. Nas cassetes, as gavetas correspondentes a estes doentes são também identificadas através de uma etiqueta “fim-de-semana”.

## 6. Farmacêutico clínico

O farmacêutico desempenha um papel que é fundamental para a segurança e eficácia no tratamento dos doentes. Desta forma, este participa nas visitas clínicas que se realizam no CHCB. Estas visitas constituem um dos momentos em que o farmacêutico pode dar o seu parecer no que diz respeito à terapia farmacológica ou não farmacológica instituída a cada doente. Uma vez que os farmacêuticos afetos à área de distribuição em dose unitária e/ou individual são aqueles que apresentam uma maior proximidade com as prescrições e com a situação clínica de cada doente, são estes que participam nestas visitas. Durante o meu estágio tive oportunidade de assistir a algumas visitas clínicas nos serviços de Cirurgia 1 e 2, Gastroenterologia e UCI e, desta forma, comprovar a importância da presença de um farmacêutico, por exemplo em situações em que os doentes têm um regime de antibioterapia instituído, sendo que o farmacêutico deve alertar os médicos quando considera que a escolha do antibiótico ou a duração da terapia não é a mais adequada, podendo também alertar e sugerir que se realize a monitorização sérica de certos medicamentos, entre outras. Para além das intervenções durante as visitas clínicas, o farmacêutico tem também a responsabilidade de responder a questões que lhe são colocadas por outros profissionais de saúde relacionadas com a medicação e realizar intervenções sempre que achar pertinente. O sistema de distribuição da medicação em dose unitária e individual permite ao farmacêutico conhecer melhor o perfil farmacoterapêutico de cada doente, facilitando assim as suas intervenções. Além disso é ainda fundamental que o farmacêutico desempenhe um papel ativo no que diz respeito à farmacovigilância, isto é, que esteja atento para a ocorrência de reações adversas ao medicamento e que realize a notificação destas sempre que se trate de uma reação adversa grave (sendo consideradas graves as reações adversas que levam à morte do doente, colocam a sua vida em risco, causam uma incapacidade significativa, motivam ou prolongam o internamento ou causam anomalias congénitas) ou de uma reação adversa ainda não descrita ou sempre que se suspeite de um aumento da sua frequência. Adicionalmente, no CHCB existe um sistema de farmacovigilância próprio o “farmacovigilância ativo”, onde os farmacêuticos devem questionar os doentes e os médicos sobre a ocorrência ou não de reações adversas a fármacos introduzidos recentemente na instituição e a fármacos sujeitos a monitorização

adicional (identificados através de um triângulo preto invertido), devendo posteriormente notificar o INFARMED pelo menos da ocorrência de reações adversas graves ou ainda não descritas. Este sistema mostra-se assim fundamental para avaliar o perfil de segurança destes medicamentos.

## 7. Farmacocinética clínica

A farmacocinética clínica consiste na monitorização das concentrações séricas de certos fármacos com o objetivo de individualizar o regime posológico de um determinado doente para assim maximizar a eficácia terapêutica e minimizar os efeitos adversos associados ao seu tratamento farmacológico. É também uma ferramenta essencial que procura reduzir a variabilidade interindividual que subsiste na resposta aos fármacos.

Para que se possa realizar esta monitorização é necessário que se proceda à colheita da amostra (soro), sendo crucial a hora a que esta ocorre, uma vez que, dependendo do medicamento a monitorizar, serão necessárias amostras em diferentes tempos, antes ou após a administração. No CHCB realiza-se a monitorização sérica de aminoglicosídeos, nomeadamente da Amicacina e da Gentamicina, e ainda da Vancomicina. Para os primeiros, quando o regime posológico instituído é um regime convencional de 7,5 mg/ Kg de 12 em 12 horas efetua-se a monitorização para concentrações séricas que correspondem ao pico, isto é, pouco tempo após a administração do fármaco, e ao vale, pouco tempo antes da administração seguinte (frequentemente monitoriza-se apenas o vale). Caso se trate de um regime em toma única diária (15 mg/ Kg de 24 em 24 horas), então recorre-se à monitorização sérica usando uma concentração intermédia. Para a Vancomicina, recorre-se a uma concentração correspondente a um vale.

Para além do valor das concentrações séricas obtidas é necessário conhecer alguns dados do doente, como o sexo, o peso e a altura, a história farmacoterapêutica (nomeadamente a data de início e duração do tratamento, a dose e a frequência de administração) e ainda o valor de creatinina sérica obtido nas suas análises. Este último parâmetro representa uma elevada relevância, dado que os fármacos monitorizados apresentam nefrotoxicidade. É ainda importante que advenha ao farmacêutico informação relativa ao diagnóstico, ao local da infeção e ao estado clínico do doente, uma vez que estes são também critérios a ter em conta na escolha do regime posológico mais adequado.

A monitorização é feita pelo farmacêutico recorrendo ao programa informático PKS da Abbott®, que usa não só a informação relativa ao doente, mas também os parâmetros farmacocinéticos médios populacionais.

Após se selecionar o regime posológico mais adequado para cada situação é elaborado um relatório que deve ser entregue ao médico para que este possa, caso aceite a proposta do

farmacêutico, prescrever este regime ao doente em questão. A cópia do relatório deve permanecer na farmácia.

Durante o meu estágio tive a possibilidade de acompanhar o processo de monitorização de alguns fármacos, nomeadamente da Vancomicina e ainda da Amicacina em regime convencional, assistindo também à escolha do regime posológico mais adequado tendo em conta o estado clínico do doente e outros parâmetros mencionados anteriormente, e à posterior comunicação ao prescriptor.

## **8. Farmacotecnia**

A área da farmacotecnia engloba a preparação de citotóxicos, de manipulados estéreis e não estéreis e ainda a reembalagem de medicamentos (usando a FDS®).

### **8.1. Procedimento para a preparação dos citotóxicos**

No CHCB a preparação de citotóxicos destina-se essencialmente para os seguintes serviços clínicos:

- Oncologia/Quimioterapia médica (maioria dos doentes com cancro colorretal);
- Urologia (neoplasia da bexiga);
- Pneumologia;
- Hematologia;
- Reumatologia (doentes com artrite reumatoide que se encontram a receber tratamento imunossupressor com Metotrexato).

Para que esta preparação possa ter início é necessário que haja uma prescrição médica e que esta seja validada pelo farmacêutico (nome, peso, idade, altura e superfície corporal do doente, diagnóstico e esquema terapêutico utilizado, dia do ciclo, posologia, via de administração, tempo de infusão, entre outros).

Tendo em conta estas prescrições, os farmacêuticos afetos à área da farmacotecnia elaboram uma listagem diária com os doentes que poderão, mediante confirmação médica, realizar quimioterapia. Após aprovação médica, o enfermeiro contacta a farmácia com o intuito de confirmar os doentes que de facto vão receber esta medicação. Posto isto, o farmacêutico deverá começar por imprimir (em duplicado) o formulário de citotóxicos de cada doente confirmado, preparar a pré-medicação deste, e imprimir os rótulos com a identificação do doente e do citotóxico respetivo para que depois possa iniciar a sua preparação. É importante também que se registe informaticamente os lotes de toda a matéria-prima usada (incluindo os citotóxicos, os injetáveis de grande volume e a medicação oral).

No final da preparação dos citotóxicos, o farmacêutico deve rotular a medicação preparada para que depois esta possa ser colocada num saco juntamente com a restante medicação e com o duplicado do formulário de citotóxicos do respetivo doente. Posto isto, toda a medicação é colocada num outro saco devidamente assinalado (com a informação de que contém citotóxicos) e numa mala hermética, devidamente identificada com “transporte de citotóxicos”. O assistente operacional deverá proceder à entrega desta nos serviços respetivos devendo registar-se a assinatura quer do assistente operacional que efetua a entrega, quer de quem recebe a medicação, assim como, a hora a que esta entrega ocorreu, para que se possa calcular o tempo demorado durante todo este processo, uma vez que este deverá ser inferior a duas horas para pelo menos 97% dos doentes.

Durante o meu estágio tive oportunidade de observar a preparação de diversos citotóxicos (associados a diferentes protocolos de quimioterapia) e destinados a diferentes serviços clínicos (anexo VI deste documento).

### 8.1.1. Instalações

A preparação de citotóxicos é realizada numa sala limpa, onde existe uma câmara de fluxo laminar vertical de classe II tipo B, sendo que para além desta sala existe ainda uma antecâmara ou pré-sala (onde o operador se prepara para a manipulação), devendo o acesso a estas salas ser limitado. Com o intuito de proteger o operador e de evitar possíveis contaminações, quer do ambiente que o rodeia, quer do produto, a pressão no interior da sala limpa deve ser negativa e a pressão na antecâmara deve ser superior a esta e ligeiramente maior que a das restantes áreas, prevenindo, assim, a passagem de substâncias tóxicas para o exterior da câmara e a passagem de microrganismos das salas vizinhas para a sala de preparação. De forma a garantir que este princípio é cumprido, é feito diariamente um controlo da pressão nestas salas e para além deste é ainda executado o controlo e registo da temperatura (que deve permanecer inferior a 25°C).

Os sistemas de filtração de ar, constituídos por filtros HEPA (filtram 99,99% das partículas com 0,3 micrómetros) ou filtros ULPA (filtram 99,999% das partículas com 0,12 micrómetros) devem assegurar níveis de partículas e contaminantes microbiológicos adequados, sendo que existem três pontos básicos de filtração do ar:

- A pré-filtração do ar externo;
- A filtração secundária do ar com o intuito de proteger os filtros finais;
- A filtração final, antes da insuflação do ar na sala limpa.

Importa ainda referir que todos os sistemas importantes para a segurança do operador (designadamente a câmara de fluxo laminar vertical), estão ligados a um gerador de emergência e a uma UPS que garante a manutenção da proteção do operador durante o tempo necessário para o seu arranque, e que a câmara possui um sistema de alarmes que permite monitorizar os

parâmetros importantes, nomeadamente alterações no fluxo de ar que podem representar perigo para o operador e levar a uma contaminação do produto<sup>13</sup>.

### 8.1.2. Operadores

Os profissionais de saúde que contactam com este tipo de medicamentos devem ser informados relativamente aos riscos associados a uma possível exposição (cutânea, por inalação ou ingestão). Com o objetivo de minimizar estes riscos, são adotadas algumas medidas:

- Utilização de *spikes* em vez de agulhas;
- Utilização de seringas com volume superior ao volume a preparar;
- Abertura de ampolas realizada com auxílio de compressas estéreis;
- Colocação de todo o material descartável numa “*Biobox*” (contentor rígido de pequena dimensão e fecho inviolável colocado dentro da câmara), este material será posteriormente incinerado;
- Citotóxicos são armazenados separadamente dos restantes medicamentos;
- Uso de equipamento de proteção pessoal;
- Rotação do pessoal;
- Correta identificação dos citotóxicos:
  - ✓ Identificação dos citotóxicos de acordo com o seu risco para os tecidos (vesicantes, irritantes ou neutros/não agressivos);
  - ✓ Identificação de citotóxicos que devem ser armazenados no frio;
  - ✓ E quando aplicável a identificação de citotóxicos para administração intratecal.
- Transferência segura deste tipo de medicação (através de conexões *luer-lock*);
- Controlo médico adequado do pessoal que trabalha nesta área (por exemplo, avaliação do historial familiar ou pessoal de doenças oncológicas ou alterações genéticas, exame físico e analítico, etc..) - este controlo pode ser realizado com periodicidade variável dependendo do volume de trabalho, sendo normalmente anualmente ou de dois em dois anos, devendo também ser efetuado em caso de exposição aguda e após o cessar da atividade;
- Formação periódica de todos os profissionais que contactam com os citotóxicos;
- Preenchimento de uma ficha de registo de atividade que permite avaliar o nível de exposição do profissional de saúde e respetivos citotóxicos.

No ponto mencionado acima, relativo à rotação do pessoal, existem dois princípios contraditórios: o de evitar postos de trabalhos fixos na preparação de citotóxicos e o de minimizar o número de indivíduos expostos a estes. Assim, no CHCB existem dois farmacêuticos nesta área que preparam esta medicação em dias alternados, sendo que, se possível, o farmacêutico que se encontra doente, principalmente tratando-se de uma infeção respiratória ou cutânea, deve ser substituído pelo outro colega. O mesmo acontece caso um dos

farmacêuticos se encontre a receber terapia imunossupressora, tenha risco de desenvolvimento de doença oncológica, se encontre grávida ou a amamentar ou caso pretendam ter filhos<sup>13</sup>.

### 8.1.3. Equipamento de proteção pessoal

Como referi anteriormente é necessário que o manipulador tenha um equipamento de proteção pessoal e que este seja adequado e confortável. Este é constituído por bata, luvas, máscara, proteção ocular, protetores de sapatos, touca e farda.

A bata deve ser estéril, impermeável a líquidos, fechada até ao pescoço, de mangas longas e de apertar nas costas. Após a sua utilização deve ser preferencialmente descartada. Por baixo desta bata deve ainda ser usada uma farda apropriada de modo a evitar a contaminação da roupa do operador, e no final de cada dia estas fardas devem ser enviadas para a lavandaria.

No que diz respeito às luvas são relevantes dois fatores: a permeabilidade e a espessura (e consequente sensibilidade do operador), devendo existir um equilíbrio entre ambos. De forma a prevenir possíveis exposições, o operador deve efetuar a troca destas a cada meia hora ou uma hora de preparação e caso ocorra algum derrame ou contaminação a troca deve ser imediata. No caso de se usarem dois pares de luvas (fortemente recomendado), pelo menos as luvas exteriores devem ser estéreis e renovadas com a mesma periodicidade. É igualmente importante que o operador efetue a higienização das mãos com água e sabão líquido e ainda a sua desinfeção com solução alcoólica antes da colocação das luvas.

A máscara usada deve ser do tipo P2 ou P3 (bico de pato) e oferecer proteção contra substâncias sólidas e líquidas, cobrindo a boca, o queixo e o nariz.

As toucas e os protetores de sapatos devem ser descartáveis e os últimos devem ainda ser impermeáveis a líquidos.

Em caso de derrame ou exposição acidental, existe, em todas as áreas em que se manuseiam citotóxicos, um estojo composto por todo o equipamento necessário para assegurar a remoção e eliminação de resíduos de forma segura:

- Material de demarcação - placa de emergência identificadora (sinalética) e/ ou fita para restrição de acesso;
- Equipamento de proteção pessoal;
- Luvas quimicamente resistentes aos agentes detergentes de limpeza e de desinfeção;
- Máscara de proteção respiratória com viseira (P3) ou máscara P3 e óculos;
- Óculos de segurança com proteção lateral (que podem ser usados sobre os óculos pessoais);
- Bata com reforço à frente;
- Proteção para calçado;

- Material absorvente;
- Espátula ou pá;
- Soro fisiológico para irrigação;
- Agente de descontaminação (detergente alcalino);
- Formulário de registo do acidente/ derrame.

É importante ainda que este estojo contenha um manual de instruções de utilização e que seja substituído ou repostado imediatamente após o seu emprego<sup>13</sup>.

## **8.2. Preparação de manipulados estéreis**

Tal como acontece para a preparação de citotóxicos, a preparação de manipulados estéreis (por exemplo colírios) tem início numa prescrição médica que tem de ser validada pelo farmacêutico.

Esta preparação concretiza-se numa sala limpa, onde existe uma câmara de fluxo laminar horizontal com um sistema de filtração de ar (filtros HEPA) que oferecem proteção ao produto preparado prevenindo possíveis contaminações, no entanto esta câmara não oferece proteção ao operador, não devendo, por isso, ser usada para manipular produtos tóxicos. À semelhança do que acontece para a câmara onde se efetua a preparação dos citotóxicos, também para esta câmara é realizado o controlo da temperatura (que deve estar compreendida entre  $21 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ ) e da pressão na pré-sala e na sala limpa (que devem estar entre 1-2 e 3-4 mmH<sub>2</sub>O respetivamente).

Após a preparação do manipulado, o operador deve proceder à validação deste e do rótulo previamente feito. Posteriormente deve rotular o medicamento que será depois entregue por um assistente operacional.

### **8.2.1. Preparação de bolsas de nutrição parentérica**

Para além da preparação de manipulados estéreis, a preparação de bolsas de nutrição parentérica, para doentes incapazes de realizarem alimentação entérica, é também realizada na câmara de fluxo laminar horizontal. O procedimento para a preparação destas é semelhante àquele que é aplicado na produção de manipulados estéreis. No CHCB estão disponíveis diferentes tipos de bolsas, que se encontram resumidos na tabela 10.

Tabela 10- Bolsas de nutrição parentérica disponíveis no CHCB e suas características.

	Smofkabiven®	Nutriflex Lipid®	Nutriflex Lipid®	Smofkabiven®
<b>Administração</b>	Periférica	Central	Central	Central
<b>Composição</b>	Aminoácidos	Aminoácidos	Aminoácidos	Aminoácidos
	Eletrólitos	Eletrólitos	Eletrólitos	Eletrólitos
	Glucose	Glucose	Glucose	Glucose
	Lípidos	Lípidos	Lípidos	Lípidos
<b>Volume total</b>	1206 mL	1250 mL	1875 mL	1477 mL
<b>Total calórico</b>	800 Kcal	1475 Kcal	2215 Kcal	1600 Kcal

A grande diferença entre as bolsas de nutrição parentéricas administradas centralmente e periféricamente reside na osmolaridade que é superior para aquelas que são administradas por via central. Ambos os tipos podem ser aditivados com vitaminas, oligoelementos e eletrólitos devendo-se ter precaução de forma a evitar que se transponha a dose máxima permitida destes. Este aspeto é particularmente relevante no que diz respeito à adição de eletrólitos, uma vez que estes já fazem parte da constituição destas bolsas.

Durante o meu estágio tive oportunidade de preparar diferentes tipos de bolsas de nutrição parentérica que se encontram listadas de seguida:

- 1- Bolsa de nutrição periférica Smofkabiven® aditivada com oligoelementos e multivitaminas;
- 2- Bolsa de nutrição central Nutriflex Lipid® de 1875 mL aditivada com oligoelementos e multivitaminas;
- 3- Bolsa de nutrição central Nutriflex Lipid® de 1250 mL aditivada com oligoelementos e multivitaminas;
- 4- Bolsa de nutrição central Nutriflex Lipid® de 1250 mL aditivada com oligoelementos, multivitaminas e alanina-glutamina.

Em todos os casos é indispensável que a preparação seja efetuada de acordo com as recomendações do fornecedor, sendo que para o ponto 1 deve começar-se pela reconstituição (simultânea) dos lípidos, glucose, eletrólitos e aminoácidos constituintes da bolsa e de seguida proceder-se à adição dos oligoelementos e posteriormente à reconstituição (com água para preparação de injetáveis) e adição das multivitaminas. Para os pontos 2 e 3 primeiro procede-se à mistura da glucose, eletrólitos e aminoácidos, de seguida adicionam-se os oligoelementos, reconstituem-se os lípidos e no final reconstituem-se e adicionam-se as multivitaminas. O procedimento para o ponto 4 é idêntico ao descrito para os pontos anteriores, sendo necessária a adição da alanina-glutamina após as multivitaminas.

### **8.3. Controlo microbiológico**

O controlo microbiológico nas câmaras de preparação de citotóxicos e manipulados estéreis/bolsas de nutrição parentérica é essencial de forma a assegurar uma maior qualidade nestas preparações, comprovando a inexistência de contaminação microbiológica nestas. O controlo microbiológico engloba o controlo do produto, da superfície da câmara, do ar e das luvas.

O controlo do produto na câmara de fluxo laminar vertical é realizado mensalmente e na câmara de fluxo laminar horizontal é feito semanalmente. Este controlo consiste na aspiração com uma seringa do produto a ser testado, sendo que na câmara de preparação de citotóxicos são testados o cloreto de sódio 0,9% e água para preparação de injetáveis, e na câmara de preparação de nutrição parentérica são testados uma solução de glucose e água para preparação de injetáveis. Este controlo deve ser feito em duplicado para pesquisa de bactérias e fungos.

No que diz respeito ao controlo de superfície nestas câmaras, este é feito mensalmente e baseia-se na pesquisa de microrganismos numa zaragatoa que foi passada sobre a superfície da câmara, sendo que são sempre testados dois locais no interior desta: o centro e um outro local, que é rotativo. Este tipo de controlo permite avaliar não só a eficácia dos filtros como também a limpeza das câmaras.

Por fim, o controlo das luvas é também feito mensalmente, e para este o farmacêutico deverá colocar as luvas e realizar dedadas em meio de cultura gelose de sangue que será subsequentemente enviado para o Laboratório de Patologia Clínica do CHCB.

Para além de todos estes controlos microbiológicos é ainda realizado trimestralmente um controlo que consiste na colocação de placas de Petri contendo meios de cultura adequados (para crescimento de bactérias e fungos) abertas durante 24 horas no interior da câmara.

Independentemente do tipo de controlo efetuado, as amostras são sempre enviadas para o Laboratório de Análises Clínicas do CHCB, com o intuito de despistar a existência de microrganismos nas salas limpas e consequentemente nos medicamentos aí preparados.

### **8.4. Manipulados não estéreis**

No CHCB, quando existem prescrições de manipulados não estéreis (por exemplo pomada de ácido salicílico a 5%), estas devem ser validadas pelo farmacêutico, à semelhança do que acontece com as restantes prescrições. A preparação destes é realizada num laboratório concebido para este fim e que se encontra devidamente ventilado e iluminado e que contém dimensões suficientes para prevenir o risco de contaminações cruzadas durante a manipulação.

Os aparelhos de medição aí existentes (por exemplo balanças) devem ser calibrados e aferidos regularmente.

Para iniciar a preparação do manipulado, o farmacêutico deve emitir a ficha de preparação respetiva que se encontra no sistema informático. Nesta ficha encontra-se toda a informação necessária à preparação, nomeadamente as matérias-primas, o procedimento, o material de embalagem, e ainda as condições de conservação e as características finais que o medicamento preparado deve apresentar. Antes de iniciar a preparação, o operador deve verificar a existência de todas as matérias-primas (e efetuar o registo dos lotes, validades e origem destas) e materiais de embalagem necessários, verificar as dosagens, possíveis incompatibilidades e interações, e verificar se a área de trabalho e o material se encontram limpos. Terminada esta verificação, o operador deverá equipar-se para iniciar a manipulação (luvas, touca, máscara e farda). É ainda importante que se registe na ficha de preparação a quantidade de matéria-prima calculada e posteriormente a pesada.

Quando terminada a preparação, o farmacêutico deve validar o manipulado preparado e efetuar o controlo da qualidade deste de acordo com as características organoléticas que deve apresentar, a quantidade ou volume dispensados e ainda, dependendo da forma farmacêutica, podem ser verificados outros aspetos (tabela 11).

Tabela 11- Ensaio que devem ser realizados de acordo com a forma farmacêutica do manipulado preparado<sup>14</sup>.

Forma farmacêutica	Ensaio
Formas farmacêuticas sólidas	Uniformidade de massa
Formas farmacêuticas semi-sólidas	pH
Soluções não-estéreis	Transparência pH
Soluções injetáveis	Partículas em suspensão pH Fecho das ampolas Doseamento Esterilidade

Depois de validado o manipulado deve ser ainda rotulado. O rótulo é emitido informaticamente e deve conter a seguinte informação:

- Nome do doente (quando aplicável);
- Fórmula do medicamento manipulado;
- Número do lote atribuído;
- Prazo de utilização;
- Condições de conservação;
- Instruções especiais, eventualmente indispensáveis para a utilização do medicamento, como, por exemplo, “agite antes de usar” ou “uso externo”;

- Via de administração e posologia quando aplicável<sup>14</sup>.

Durante o meu estágio tive a possibilidade de concretizar a preparação de alguns medicamentos manipulados que se encontram descritos no anexo VII.

## 8.5. Reembalagem de medicamentos

A reembalagem dos medicamentos usando a FDS® é concretizada por um técnico de diagnóstico e terapêutica, e engloba medicamentos para distribuição em ambulatório e para distribuição em dose unitária. O resultado final da reembalagem, bem como o carregamento da FDS® com medicamentos, têm de ser validados por um farmacêutico afeto à área da farmacotecnia.

Inicialmente, o técnico de diagnóstico e terapêutica deve transcrever para o sistema informático a informação relativa aos medicamentos a reembalar ou recarregar, incluindo a substância ativa, a dose, a forma farmacêutica, o laboratório de origem, o lote e a validade. Se os medicamentos a reembalar não forem fracionados, então o técnico deve proceder ao carregamento da FDS® e após validação do carregamento efetuar a reembalagem; se os medicamentos a reembalar forem fracionados então o técnico deverá efetuar o seu fracionamento e posteriormente colocá-los no tambor da FDS®, definir os parâmetros para reembalagem e finalmente emitir um relatório que contem o resumo de todos os medicamentos reembalados, que será posteriormente validado pelo farmacêutico. Nesta validação o farmacêutico deve verificar se o nome do medicamento, a forma farmacêutica, o lote, a validade e a nova validade atribuída (seis meses, ou inferior, caso o prazo de validade original do medicamento seja inferior) foram introduzidos corretamente e, caso os medicamentos sejam fracionados, é importante ainda verificar se o fracionamento foi feito corretamente e se a sinalética disposta na nova embalagem é adequada.

## 9. Ensaio clínicos

Os Serviços Farmacêuticos são, de acordo com o artigo 32º da subseção II da Lei 21/2014 de 16 de abril, alterada pela Lei 73/2015 de 27 de julho, os responsáveis pela receção, armazenamento, preparação, dispensa, recolha e devolução ou destruição dos medicamentos experimentais (medicamentos envolvidos nos ensaios clínicos) <sup>15</sup>.

Assim sendo, no CHCB, e de acordo com a legislação em vigor, são os Serviços Farmacêuticos que efetuam todas as tarefas mencionadas anteriormente, sendo fundamental que estes assegurem que reúnem todas as condições necessárias para determinado ensaio clínico antes que este seja aceite na instituição.

À data do meu estágio encontravam-se a realizar-se no CHCB os seguintes ensaios clínicos (tabela 12):

Tabela 12- Área terapêutica e medicamentos envolvidos nos ensaios clínicos que se encontravam a realizar à data do estágio no CHCB.

Área terapêutica	Fármacos envolvidos
Diabetes Mellitus tipo 2	Linagliptina/Glimepirida (comprimidos)
Dislipidémia	Evolocumab q2w (SC) /Atorvastatina (comprimido)
Insuficiência Cardíaca Aguda	Serelaxina (IV)
Insuficiência Cardíaca Crónica	LCZ696 (comprimido)
Hemorragia com Dabigatrano	Idarucizumab (IV)
Linfoma Folicular	CT-P10/Rituximab (IV)
Insuficiência Cardíaca e Doença Coronária	Rivaroxabano (comprimido)

## 9.1. Instalações e equipamentos

No Hospital Pêro da Covilhã existe um gabinete destinado ao atendimento dos participantes dos ensaios clínicos. É neste mesmo gabinete que se encontra armazenada a medicação que necessita de refrigeração e a medicação devolvida pelo doente para ser recolhida pelo promotor do ensaio. A restante medicação que não exige condições especiais de conservação encontra-se no armazém central num armário fechado à chave. Toda a medicação, independentemente do local de armazenamento, encontra-se identificada. É também neste gabinete que se encontra um armário onde são armazenados todos os documentos relativos aos ensaios clínicos em curso ou encerrados, como é o caso da cópia da brochura do investigador, a cópia do consentimento informado dos participantes, a cópia do protocolo do ensaio e suas emendas, entre outros. De notar que os serviços farmacêuticos devem manter arquivados estes documentos durante um período de 15 anos após o término do ensaio<sup>16</sup>.

## 9.2. Receção da medicação

A receção de qualquer medicação envolvida nos ensaios clínicos é realizada por um farmacêutico afeto a este sector e envolve o registo informático desta. Normalmente a medicação vem acompanhada por um sistema de monitorização contínua da temperatura (que permite avaliar se as condições de conservação foram mantidas durante o transporte). Quando esta é rececionada, o farmacêutico deve também verificar através deste dispositivo se eventualmente ocorreram desvios de temperatura. Em caso afirmativo, o promotor deverá ser contactado e esta medicação não poderá ser dispensada sem a autorização posterior deste<sup>16</sup>.

## 9.3. Prescrição da medicação

A prescrição de qualquer medicamento envolvido no ensaio clínico é feita num formulário próprio criado especificamente para cada protocolo. Nesta devem constar os códigos que identificam a medicação a ceder (cada *kit* de medicação contem um código único)<sup>16</sup>.

## 9.4. Dispensa da medicação

A dispensa da medicação é realizada pelo farmacêutico, que deve dispensar o *Kit* de medicação que corresponde ao código existente na prescrição, devendo ainda efetuar o registo informático desta cedência. Dependendo do ensaio, os fármacos podem ser cedidos diretamente ao doente, ao investigador ou ao enfermeiro. Em qualquer caso, é fundamental lembrar o doente que deve trazer as embalagens, estejam elas vazias ou não, na consulta seguinte (para avaliar a adesão à terapêutica). Os medicamentos devolvidos são posteriormente armazenados num armário próprio até serem recolhidos pelo promotor<sup>16</sup>.

## 10. Sistema de gestão da qualidade

O CHCB é acreditado pela *Joint Commission International (JCI)* e alguns dos serviços, incluindo o Serviço de Farmácia, são certificados pela norma ISO 9001 de 2008. O objetivo desta acreditação, e também da certificação, é demonstrar uma melhoria contínua e sustentada dos cuidados de saúde prestados, através da aplicação de padrões e indicadores internacionais de consenso. Assim sendo, cada área dos Serviços Farmacêuticos do CHCB tem um conjunto de indicadores/objetivos que devem ser assegurados de forma a garantir uma melhoria nos cuidados concedidos. A diferença entre um objetivo e um indicador da qualidade está no facto de que um objetivo apresenta uma meta que, quando ultrapassada, deve conduzir à implementação de medidas corretivas, ao contrário do que acontece com os indicadores. Neste sentido, sempre que um indicador da qualidade esteja abaixo do desejado, pode passar a objetivo com o intuito de assim poder ser melhorado mais eficazmente. De seguida são enumerados os indicadores e os objetivos das diferentes áreas/setores.

### 10.1. Indicadores/objetivos da área de aquisição de medicamentos

1. Monitorizar o número de pedidos urgentes de medicamentos (objetivo é que esse número seja inferior a 30%);
2. Monitorizar o número de ruturas de *stock* de medicamentos.

### 10.2. Indicadores/objetivos da distribuição por níveis

1. Monitorizar o número de intervenções realizadas com o objetivo de controlar o *stock* na distribuição assegurada pelos Serviços Farmacêuticos;
2. Monitorizar o número de visitas dos técnicos de diagnóstico e terapêutica aos serviços clínicos (objetivo é que essa monitorização seja de 100%);
3. Monitorizar a regularização das contagens efetuadas;
4. Monitorizar o número de reclamações na distribuição por níveis.

### **10.3. Indicadores/objetivos da área da conferência e armazenamento de medicamentos**

1. Monitorizar a taxa de abate de medicamentos (objetivo é que esta taxa não ultrapasse um prejuízo de 12 000€/ano);
2. Monitorizar o número de regularizações efetuadas no *stock* do armazém central;
3. Monitorizar em valor as intervenções realizadas para evitar a perda de medicamentos por prazo de validade expirado;
4. Monitorizar o número de artigos detetados em armazém cuja validade termina dentro de 4 meses;
5. Monitorizar o número de não conformidades detetadas na receção de medicamentos e outros produtos farmacêuticos.

### **10.4. Indicadores/objetivos da distribuição em ambulatório**

1. Monitorizar o número de regularizações efetuadas no *stock* deste armazém;
2. Monitorizar o controlo mensal de estupefacientes e psicotrópicos nos serviços clínicos;
3. Monitorizar o envio mensal do mapa de registo de medicamentos biológicos para o INFARMED;
4. Atualizar os folhetos informativos para fornecer ao doente aquando da dispensa de medicamentos (objetivo trimestral);
5. Encerrar 10 circuitos de hemoderivados aleatórios nos serviços clínicos;
6. Monitorizar o número de não conformidades na contagem de estupefacientes e psicotrópicos.

### **10.5. Indicadores/objetivos da distribuição em dose unitária e/ou individual**

1. Monitorizar o número de erros de medicação distribuída em dose unitária (o objetivo é que este erro seja inferior a 0,4% em cada mês);
2. Monitorizar o número de regularizações do *stock* efetuadas no armazém da dose unitária;
3. Monitorizar o número de não conformidades no armazenamento (por exemplo, medicamento guardado no local incorreto);
4. Monitorizar o cumprimento do horário de entrega da medicação nos respetivos serviços.

### **10.6. Indicadores/objetivos da área da farmacotecnia**

1. Monitorizar o tempo de espera pela quimioterapia injetável (objetivo é que não mais de 3% dos doentes espere duas horas ou mais por esta medicação);
2. Monitorizar o número de regularizações do *stock* efetuadas neste armazém;
3. Monitorizar o controlo microbiológico do produto, do ar, da superfície da câmara e das luvas;

4. Monitorizar as discrepâncias no carregamento e reembalagem da FDS® (por exemplo: verificar se os comprimidos estão bem fracionados, se a dosagem no rótulo do medicamento reembalado está indicada corretamente, entre outros);
5. Monitorizar em valor o reaproveitamento de ampolas na preparação de citotóxicos;
6. Monitorizar o controlo da qualidade dos manipulados.

### **10.7. Indicadores/objetivos da área da farmacovigilância e farmácia clínica**

1. Monitorizar o número de visitas aos serviços clínicos;
2. Monitorizar o número de doentes com intervenção farmacêutica nos projetos “reconciliação” e “medicar melhor” (projetos levados a cabo pelos Serviços Farmacêuticos do CHCB);
3. Monitorizar o número de fármacos incluídos no “farmacovigilância ativo”.

### **10.8. Indicadores/objetivos da área da informação**

1. Contabilizar o tempo de resposta às questões levantadas por outros profissionais de saúde;
2. Monitorizar o registo das informações cedidas (reunir todas as respostas às diferentes questões num mesmo documento);
3. Monitorizar o número de publicações da “Newsletter” dos Serviços Farmacêuticos.

### **10.9. Indicadores/objetivos da área da farmacocinética**

1. Monitorizar o número de propostas de monitorização aceites (objetivo é que seja superior a 90%).

### **10.10. Indicadores/objetivos da área dos ensaios clínicos**

1. Monitorizar os registos de cedência da medicação de todos os ensaios clínicos e comparação com o *stock* físico existente;
2. Avaliar a adesão à terapêutica dos doentes.

### **10.11. Indicadores/objetivos da área dos gases medicinais**

1. Monitorizar o número de não conformidades no armazenamento dos gases medicinais;
2. Monitorizar a imputação mensal dos consumos referentes aos gases medicinais.

Um dos objetivos da qualidade é a satisfação do doente, sendo que, para isso, é necessário que os serviços lhe sejam prestados com a maior efetividade possível. Desta forma, existem no CHCB uma grande diversidade de medidas e estratégias que visam contribuir para um aumento da qualidade dos Serviços Farmacêuticos e redução dos erros relacionados com a prescrição, dispensa e administração de medicamentos. Exemplo disso são os sistemas de informatização e automatização (tabela 7), a identificação de medicamentos perigosos, de medicamentos que

devem ser imputados com o registo do respetivo lote, de medicamentos com embalagens semelhantes e de fármacos armazenados no mesmo local e com dosagens diferentes. Neste último caso, os medicamentos são identificados através de um sistema de três cores, o vermelho que corresponde à dose mais elevada, o amarelo à dose intermédia e o verde à mais baixa. Para além de todas estas medidas existem ainda, para facilitar a prescrição e minimizar a possibilidade de erro, alertas que foram elaborados pelos farmacêuticos do CHCB e que dizem respeito às doses máximas de fármacos, a interações medicamentosas ou interações fármaco-alimento e que estão disponíveis no sistema informático e às quais o prescriptor tem fácil acesso. Assim, se todas estas medidas forem cumpridas reduz-se a probabilidade de ocorrência de erros e consequentemente promove-se uma maior qualidade nos serviços prestados.

## **11. Discussão e conclusão**

Durante o meu estágio pude comprovar a importância que os Serviços Farmacêuticos têm na promoção de uma terapia farmacológica segura e eficaz e o impacto que esta traz para qualidade de vida dos doentes. Por exemplo: na validação das prescrições, no esclarecimento de dúvidas e questões pertinentes colocadas por outros profissionais de saúde, na correta preparação de citotóxicos e medicamentos manipulados estéreis ou não, na informação cedida aos doentes em regime de ambulatório, entre outras, é essencial o papel desempenhado pelo farmacêutico. Verifiquei também a importância de certas medidas adotadas no que diz respeito à sinalética de medicamentos, que de facto são uma mais-valia na prevenção de erros de medicação. Testemunhei também o valor que o farmacêutico acrescenta nas visitas clínicas e ainda, o papel indispensável deste na farmacovigilância. Torna-se assim fundamental que o farmacêutico seja de facto um profissional proactivo e em constante formação de forma a estar à altura daquilo que esta profissão exige.

Todas as atividades desenvolvidas por mim ao longo deste período e descritas anteriormente neste capítulo permitiram não só que o meu conhecimento científico pudesse melhorar, mas foi, para além disso, uma experiência que me possibilitou conhecer de perto o funcionamento de uma farmácia hospitalar e desta forma abrir novos horizontes e possibilitar uma entrada no mundo de trabalho com novas competências.

## 12. Referências bibliográficas

1. Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar. Manual da Farmácia Hospitalar. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
2. Procedimento Interno do CHCB: Regulamento Interno da Comissão de Farmácia e Terapêutica.
3. Procedimento Interno do CHCB: Aquisição de medicamentos e outros produtos farmacêuticos.
4. Deliberação nº 105/CA/2007, de 1 de Março. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
5. Procedimento Interno do CHCB: Normas e sinalética de segurança para medicamentos.
6. Procedimento Interno do CHCB: Medicamentos e produtos farmacêuticos perigosos.
7. Procedimento Interno do CHCB: Controlo de stocks e validades dos armazéns dos Serviços Farmacêuticos.
8. Procedimento Interno do CHCB: Dispensa de medicamentos em ambulatório.
9. Portaria n.º 981/98, de 8 de Junho - Execução das medidas de controlo de estupefacientes e psicotrópicos. Disponível em [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu)
10. Procedimento Interno do CHCB: Circuito de estupefacientes e psicotrópicos.
11. Despacho conjunto nº. 1051/2000, de 14 de Setembro - Registo de medicamentos derivados de plasma. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
12. Procedimento Interno do CHCB: Circuito de medicamentos hemoderivados.
13. Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar. Manual Preparação Cítotóxicos. Disponível em [www.ordemfarmaceuticos.pt](http://www.ordemfarmaceuticos.pt) 2013;
14. Portaria nº 594/2004, de 2 de junho - Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
15. Lei nº 21/2014, de 16 de Abril - Aprova a lei da investigação clínica. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
16. Procedimento interno do CHCB: Ensaio clínicos.

# Capítulo 3- Efeito da Adenosina Sobre a Patogenicidade de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Typhimurium*

## 1. Introdução

Uma infecção resulta da invasão e multiplicação de microrganismos num hospedeiro. A capacidade de um microrganismo causar infecção reflete a sua patogenicidade relativa, podendo-se considerar dois tipos de microrganismos patogénicos: primários ou oportunistas, dependendo se são os agentes causais da doença ou se estão associados a infeções em hospedeiros cujo sistema imunitário se encontra comprometido<sup>1</sup>. No entanto, para além dos diferentes tipos de infeções, existem microrganismos produtores de toxinas onde serão estas que conduzirão a patologias sem que o microrganismo alguma vez contacte com o organismo afetado<sup>2</sup>. Estas condições podem por vezes conduzir à necessidade de tratamentos prolongados, à hospitalização ou até mesmo à morte<sup>1</sup>. Assim, e dado que o conhecimento relativo à patogenicidade dos microrganismos pode ser usado de forma a permitir uma melhoria no controlo da mesma, torna-se essencial investigação nesta área, para prevenir infeções evitáveis e controlar aquelas já existentes.

### 1.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é um microrganismo patogénico oportunista,<sup>3</sup> Gram positivo, pertencente à família *Staphylococcaceae*<sup>4</sup> que pode ser responsável por diferentes patologias. De uma forma genérica podem-se considerar três síndromes relacionados com esta bactéria: infeção da pele e tecidos moles (por exemplo abscessos), infeções profundas e sistémicas (osteomielite, pneumonia, endocardite) e síndromes toxémicas (síndrome do choque tóxico, intoxicações alimentares, síndrome da pele escaldada)<sup>5</sup>.

As infeções causadas por *S. aureus*, quer sejam adquiridas na comunidade ou nosocomiais<sup>6</sup>, podem, muitas vezes, conduzir à morte, dada a dificuldade existente no seu tratamento relacionada com o desenvolvimento de resistências a antibióticos associado ao uso excessivo e incorreto destes<sup>7</sup>. A percentagem de *S. aureus* metilina-resistente (MRSA) na Europa tem vindo a diminuir ao longo dos anos, verificando-se uma redução da sua prevalência média de 18,6% para 17,4% em 2014. No entanto, em alguns países, principalmente países do sul e sudeste da Europa, as percentagens mantêm-se elevadas, verificando-se, por exemplo, em Portugal percentagens superiores a 25%<sup>8</sup>. MRSA é considerada a principal causa de infeções relacionadas

com cuidados de saúde na Europa, tendo-se estimado, em 2008, que o número de infeções nosocomiais causadas por esta bactéria, nos estados membros da União Europeia, era de aproximadamente 171 200, e verificando-se mesmo um aumento na mortalidade relacionada com estas infeções. Sabe-se ainda que entre 2005 e 2008, 1,7% dos doentes na UCI desenvolveram pneumonia ou bacteriemia causadas por *S. aureus*, verificando-se um aumento no risco de mortalidade para estes doentes entre 5 a 6 vezes, em comparação com aqueles que não desenvolveram este tipo de complicação<sup>9</sup>. De notar que o termo MRSA refere-se, não só, a *S. aureus* resistente à meticilina e outros  $\beta$ -lactâmicos, mas também, por vezes, a aminoglicosídeos e macrólidos<sup>10</sup>. Torna-se assim fundamental conhecer melhor a patogenicidade deste microrganismo, com o intuito de posteriormente se melhorarem as formas de controlo desta.

### 1.1.1. Fatores de virulência de *S. aureus*

Um dos fatores de virulência que distingue *S. aureus* dos restantes *Staphylococcus* sp. é a produção de coagulase, sendo por isso, muitas vezes usado para a sua distinção laboratorial<sup>4</sup>. A coagulase é uma proteína produzida de duas formas distintas por *S. aureus*, existindo uma forma solúvel que se liga à protrombina formando um produto trombina-like, e outra forma, que se encontra presente na superfície celular, e que se liga ao fibrinogénio, convertendo-o em fibrina insolúvel e permitindo desta forma a agregação da bactéria.<sup>11</sup> Para além deste, existem outros fatores de virulência, também importantes na disseminação no hospedeiro e na evasão ao sistema imunitário<sup>12,13</sup>, de onde se pode salientar a produção de exotoxinas, a formação de biofilmes, a produção de estafiloxantina ou ainda a capacidade de comunicação intra e inter espécies (“*quorum sensing*”) apresentada por este microrganismo<sup>14,15</sup>. Relativamente a este último fator, este mecanismo é utilizado por muitos tipos de bactérias e sabe-se que a comunicação célula-célula é conseguida através da libertação de moléculas sinalizadoras, denominadas auto-indutoras, que interagem com os recetores proteicos respetivos levando a uma alteração na expressão de certos genes bacterianos, e desta forma, aumentando a eficácia da expressão de outros fatores de virulência, incluindo a formação de biofilmes<sup>15,16</sup>.

A produção de exotoxinas, que ocorre maioritariamente na fase estacionária do crescimento, engloba a secreção de enterotoxinas<sup>15</sup>, hemolisinas<sup>13</sup> e lípases<sup>17</sup>. As primeiras encontram-se associadas a casos de intoxicações alimentares que se caracterizam por náuseas, vômitos, dores abdominais com ou sem diarreia e que muitas vezes têm origem em alimentos contaminados, por exemplo, a partir de secreções respiratórias, uma vez que este microrganismo pode ser encontrado na pele e mucosas dos humanos<sup>18</sup>. As hemolisinas produzidas por *S. aureus*, incluem as  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  e  $\gamma$  hemolisinas, que possuem ação citotóxica. A  $\alpha$ -hemolisina é aquela que mais contribui para a patogenicidade da bactéria, sendo tóxica para diferentes células de mamíferos, como os eritrócitos, conduzindo à formação de poros nas suas membranas e levando posteriormente à sua lise, e apresentando também, atividade dermo-necrótica e neurotóxica.

A  $\beta$ -hemolisina, também conhecida por esfingomielinase C, apresenta atividade específica para a esfingomielina e lisofosfatidilcolina, atuando de forma proporcional ao conteúdo de esfingomielina presente nas membranas celulares. A  $\delta$ -hemolisina atua como surfactante promovendo a lise de diversos tipos de células de mamíferos. Finalmente, a  $\gamma$ -hemolisina possui capacidade de lisar não só eritrócitos, mas também neutrófilos e macrófagos, no entanto, o papel desempenhado por esta no estabelecimento e progressão de infecções por *S. aureus* permanece pouco conhecido<sup>2</sup>. Por fim, as lípases produzidas por este microrganismo e capazes de hidrolisar os triglicéridos presentes no sebo Humano demonstram ter um papel importante na sua patogenicidade ao facilitarem a invasão e destruição de tecidos, facilitando assim a propagação do microrganismo no hospedeiro<sup>17,19</sup>. Sabe-se que as lípases são essenciais para a formação de biofilmes, e também, para o estabelecimento de infecções cutâneas, tendo sido demonstrado a sua relevância na formação de abscessos peritoneais em ratos<sup>17</sup>.

Os biofilmes consistem numa comunidade de microrganismos rodeada por uma matriz polimérica complexa, constituída por água, polissacáridos, proteínas, Ácido Desoxirribonucleico (ADN) extracelular, entre outros. No caso de *S. aureus*, esta matriz apresenta na sua composição adesinas intercelulares polissacáridas, que consistem em polímeros de N-acetilglucosamina, que se mostram importantes para a manutenção da integridade estrutural do biofilme. Esta matriz desempenha um papel fundamental na patogenicidade dos microrganismos que constituem o biofilme, protegendo-os quer das defesas do hospedeiro, quer do acesso a antibióticos, contribuindo assim para possíveis resistências<sup>6</sup>. O processo geral de formação de biofilmes (figura 2) envolve três principais etapas: adesão inicial, maturação e dispersão do biofilme. A primeira consiste na adesão dos microrganismos a uma superfície através de proteínas da superfície celular, a maturação ocorre aquando da multiplicação celular e da formação da matriz polimérica extracelular, finalmente, a dispersão ocorre através de enzimas e surfactantes secretados pelos microrganismos que degradam a matriz polimérica. Após esta dispersão os microrganismos voltam ao estado planctónico, podendo posteriormente formar biofilmes noutras locais<sup>6</sup>.

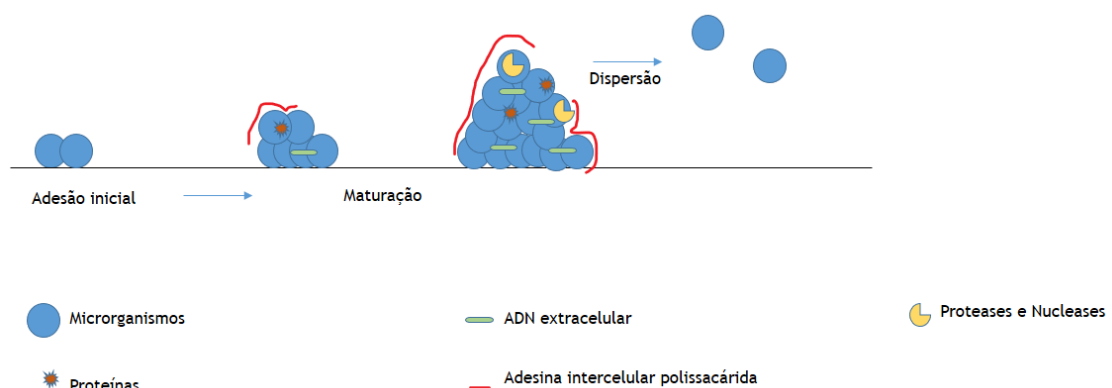


Figura 2- Etapas de formação de um biofilme: adesão, maturação e dispersão. Adaptada de Lister et al. (2014)

Por último, a produção de estafiloxantina, um pigmento carotenoide que confere a cor dourada às colónias de *S. aureus*, mostra ser um importante fator de virulência para a sobrevivência intracelular deste, nomeadamente ao protege-lo contra as espécies reativas de oxigénio (incluindo peróxido de hidrogénio, radical superóxido e radical hidroxilo) e assim contra a fagocitose. A enzima catalase sintetizada por este microrganismo contribui também de forma significativa para esta sobrevivência<sup>20,21</sup>.

## 1.2. *Salmonella Typhimurium*

*Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*) é uma bactéria Gram negativa pertencente à família *Enterobacteriaceae* e muito frequentemente associada a casos de gastroenterite, também designada por salmonelose, em Humanos<sup>22,23</sup>. A salmonelose é a segunda causa mais frequentemente associada a infeções intestinais na Europa, sendo que *S. Typhimurium* é um dos cinco serotipos mais reportados, representando 22% dos casos desta infeção. O número de casos de salmonelose confirmados em 2012 nos países Europeus foi de 21,9 por 100 000 indivíduos, sendo que em Portugal foram reportados menos de 10 casos em 100 000 indivíduos<sup>24</sup>. Este tipo de quadro tem origem na ingestão de alimentos ou água contaminados, sendo geralmente autolimitado em indivíduos imuno-competentes<sup>23</sup>. No entanto, em indivíduos que apresentam certos fatores de risco como: alteração da flora intestinal (por exemplo associada ao uso de antibióticos), idosos ou recém-nascidos, doentes infetados com VIH ou doentes tratados com imunossuppressores, este microrganismo pode ser associado a bacteriemia e a infeções locais (meningite, osteomielite, artrite séptica, colangite e pneumonia) com complicações que envolvem o sistema vascular (endarterite)<sup>25</sup>. Uma das grandes problemáticas associadas a estes quadros críticos é a resistência aos antibióticos e a consequente dificuldade no seu tratamento, sendo por isso, embora raros, por vezes, fatais<sup>25</sup>. Assim, e à semelhança do que acontece com *S. aureus*, torna-se essencial investigação para aumentar o conhecimento relativo à patogenicidade de *S. Typhimurium*.

### 1.2.1. Fatores de virulência de *S. Typhimurium*

São diversos os fatores de virulência de *S. Typhimurium* que contribuem para o desenvolvimento de patologias. Exemplo disso são, a tolerância ao ácido gástrico, a presença de fimbrias que permitem a adesão ao intestino delgado e a subsequente endocitose dos microrganismos aderidos<sup>26</sup>, a motilidade apresentada pela bactéria<sup>27</sup> ou ainda a capacidade de sobrevivência intracelular desta<sup>28</sup>. Neste último aspeto, verifica-se através de estudos *in vitro* que *S. Typhimurium* apresenta não só capacidade de sobrevivência intracelular, como também de manipulação das propriedades migratórias dos fagócitos intestinais<sup>28</sup>.

Relativamente à motilidade exibida por *S. Typhimurium*, esta mostra-se importante na invasão das células do hospedeiro<sup>29</sup>. Os flagelos e o lipopolissacarídeo (LPS), mais concretamente o antigénio O, presentes na superfície da bactéria desempenham um papel fundamental para este processo, ao formarem uma esfera de hidratação em torno do microrganismo (reduzindo

a tensão de superfície), e permitindo assim a rotação do flagelo e a consequente migração do microrganismo<sup>27</sup>.

À semelhança do que acontece com *S. aureus*, *S. Typhimurium* apresenta também capacidade de formação de biofilmes, que se revela um importante fator de virulência na resistência aos antibióticos<sup>6</sup>. A matriz extracelular que rodeia e protege os biofilmes constituídos por bactérias da família *Enterobacteriaceae* apresenta um importante constituinte, as fibras proteicas extracelulares, também denominadas curli, envolvidas no contacto célula-célula e célula-superfície. Adicionalmente estas fibras têm ainda um papel importante na patogenicidade destas bactérias, apresentando capacidade de ligação a diversas proteínas do hospedeiro, tais como o plasminogénio e o fator ativador tecidual do plasminogénio que levam à ativação da plasmina, facilitando, assim, a disseminação da bactéria para tecidos mais profundos, demonstrando, desta forma, ser também um importante fator de virulência para a adesão e invasão das células hospedeiras e ainda na ativação do sistema imunitário<sup>30</sup>. Para além deste componente, a celulose, é também, um constituinte presente em quantidades significativas na matriz extracelular destes biofilmes<sup>30</sup>. Estudos realizados anteriormente mostraram que existe uma correlação entre a capacidade de *S. Typhimurium* formar biofilmes e a capacidade de motilidade de tipo *swarming* desta (translocação do microrganismo em meio sólido ou semi-sólido), indicando que estirpes que apresentam fraca capacidade de *swarming* são mais eficientes na formação de biofilmes<sup>31</sup>.

### 1.3. Adenosina

A adenosina é um nucleósido que atua como molécula sinalizadora do hospedeiro<sup>32</sup> e que desempenha diversas funções fisiológicas importantes, destacando-se a relevância para o balanço energético, principalmente em situações de hipóxia<sup>33,34</sup> e a ação em certos tecidos como o coração e o cérebro<sup>32</sup>. Ao nível cardiovascular, a adenosina promove uma desaceleração na frequência cardíaca e vasodilatação, enquanto que a nível cerebral, esta molécula apresenta importância na regulação do sono, na neuroproteção e em certas patologias como a epilepsia<sup>32</sup>. Esta molécula desempenha também um papel importante ao nível do intestino, onde tanto *S. Typhimurium* como *S. aureus* podem causar infeção, contribuindo para a secreção de eletrólitos, redução da inflamação (associada à redução na produção de citocinas inflamatórias) e proteção em caso de isquemia<sup>35</sup>. Crê-se que ao nível do intestino, após o sinal de lesão ou infeção, as elevadas concentrações de adenosina extracelular promovem a infiltração de neutrófilos e o recrutamento de macrófagos, contribuindo assim para uma resposta imune mais eficaz. Posteriormente, a adenosina contribui para a resolução do processo inflamatório, ao reduzir a atividade dos macrófagos (“*down-regulation*”) e dos neutrófilos, reduzindo a diferenciação, a produção de citocinas (exceto interleucina 10 para a qual se verifica um aumento da sua produção), e inibindo a fagocitose provocada pelos primeiros e diminuindo a adesão, desgranulação e atividade oxidante dos segundos<sup>36,37</sup>. Assim a adenosina revela-se uma molécula essencial para a regulação do processo inflamatório, limitando a

destruição de tecidos associada a este<sup>38</sup>. Sabe-se ainda, relativamente a *S. aureus*, que a adenosina promove a sua sobrevivência à fagocitose<sup>35</sup>.

A adenosina sanguínea desempenha um papel importante no controlo da pressão arterial, ao contribuir para a vasodilatação e ao inibir a libertação de neurotransmissores excitatórios, como a noradrenalina, nos terminais nervosos<sup>39</sup>. A sua concentração em condições de normoxemia é de aproximadamente  $20.7 \pm 2.5$  nM, no entanto, em situações de anoxia ou isquemia os seus níveis encontram-se aumentados, levando a uma redução da procura energética e aumentando a oferta desta e contribuindo assim para uma melhoria no balanço energético<sup>34</sup>. A elevação das concentrações sanguíneas de adenosina pode ocorrer por diferentes mecanismos:

1. Libertação para o espaço extracelular de adenosina trifosfato (ATP) e seus intermediários devido à destruição celular presente nestas situações;
2. Quebra dos nucleótidos de adenina por ectonucleotidases;
3. Secreção da adenosina celular devido a alterações do pH e da pressão arterial de dióxido de carbono<sup>34</sup>.

Para além da hipoxia e da isquemia, outras causas podem, também, conduzir a um aumento das concentrações séricas deste nucleósido, nomeadamente a inflamação, onde esta molécula promove vasodilatação e extravasão de proteínas do plasma para os tecidos afetados. Este nucleósido mostra-se ainda relevante ao nível de doenças respiratórias, como a asma e a DPOC, contribuindo para a patogénese destas (promovendo broncoconstrição)<sup>40,41</sup>.

### 1.3.1. Síntese e metabolismo da adenosina

A formação intracelular de adenosina ocorre maioritariamente a partir do ATP e com intervenção das enzimas adenilato ciclase, que converte o ATP a adenosina monofostato cíclico (AMPc), da fosfodiesterase que converte o AMPc em 5'-adenosina monofosfato (5'-AMP) e da ectonucleotidase citoplasmática que converte o 5'-AMP a adenosina (figura 3). Uma outra via opcional para a síntese de adenosina é a partir da S-adenosilhomocisteína (SAH) pela enzima SAH hidrolase<sup>32</sup>. Adicionalmente a esta síntese de adenosina, este nucleósido pode também ser obtido através da alimentação, sendo depois absorvido a nível intestinal e transportado para as células do organismo<sup>36</sup>. O transporte da adenosina para o interior das células pode ocorrer quer por difusão facilitada, quer por transporte ativo, no entanto, e para promover um equilíbrio das concentrações intracelulares deste nucleósido, sempre que as concentrações intracelulares de adenosina se encontrem elevadas há uma redução nesta recaptação e pode ainda ocorrer um efluxo de adenosina quando as concentrações intracelulares superem as extracelulares<sup>32</sup>.

O metabolismo da adenosina ocorre pela adenosina deaminase (ADA) que converte, de forma irreversível, este nucleósido em inosina<sup>42</sup> e pode ter lugar em diferentes tecidos e células, como é o exemplo dos linfócitos, granulócitos e eritrócitos<sup>43</sup>. Sabe-se que existem duas isoformas

desta enzima, a ADA1 e a ADA2, podendo a primeira ser encontrada em todos os tecidos e estando associada a uma resposta imune eficaz (a sua ausência congênita encontra-se relacionada com quadros de imunodeficiência), a segunda isoforma pode ser encontrada no soro, sendo secretada por monócitos e macrófagos quando da estimulação destes pela presença de microrganismos<sup>43</sup>.

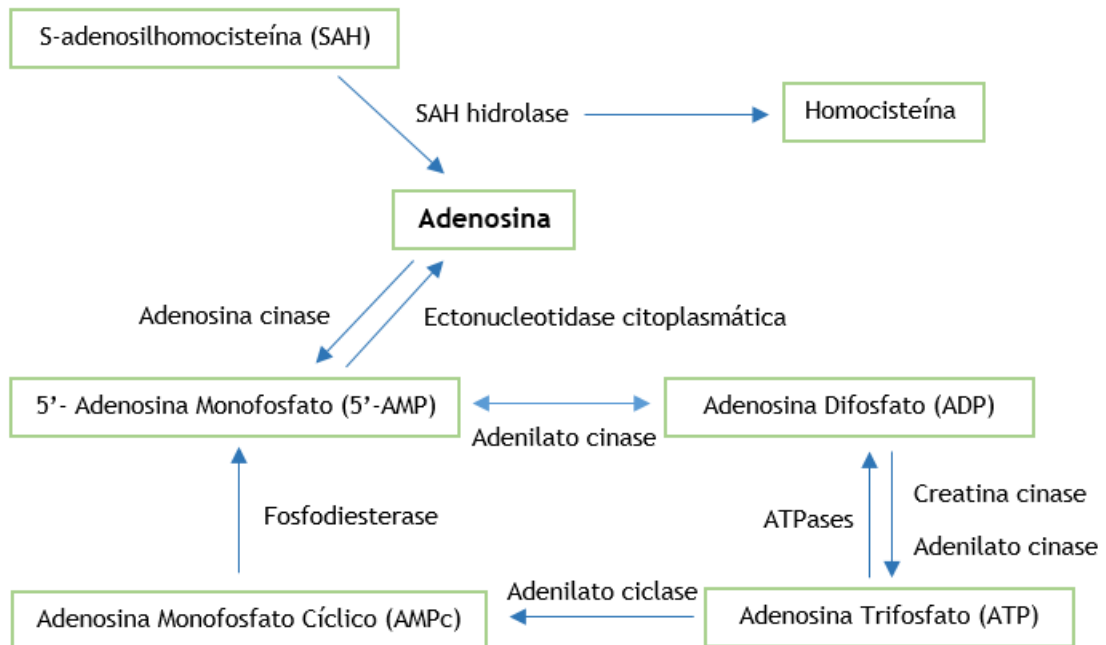


Figura 3- Via intracelular primária de síntese de adenosina a partir de SAH e ATP. Adaptado de Dunwiddie et al. (2001)

### 1.3.2. Recetores de adenosina e ação farmacológica desta

Os recetores de adenosina pertencem à superfamília de recetores acopladas a proteína G tendo sido identificados os subtipos  $A_1$ ,  $A_{2a}$ ,  $A_{2b}$  e  $A_3$  que se encontram espalhados por todo o organismo e desempenhando funções variadas<sup>44</sup>. É devido a estes recetores que este nucleósido é aplicado na prática clínica, nomeadamente, em situações de emergência, como antiarrítmico (em taquicardias supraventriculares paroxísticas) devido ao seu efeito dromotrópico negativo no nódulo aurículo-ventricular<sup>45</sup>.

### 1.3.3. Adenosina e sua ação na patogenicidade de diversos microrganismos

Diversos estudos presentes na literatura têm demonstrado a influência da adenosina sobre a patogenicidade de vários microrganismos. Estudos realizados *in vitro* e *in vivo* com *Escherichia coli* enteropatogénica (EPEC) mostraram evidência de que esta bactéria promove a libertação de ATP a partir das células intestinais do hospedeiro que posteriormente é convertido a ADP, AMP e adenosina por ectonucleotidasas. Esta conversão promove um aumento da adenosina no lúmen intestinal que mostrou: favorecer a secreção de eletrólitos e fluídos, e, desta forma, contribuir para os quadros de diarreia associados a este microrganismo; promover o crescimento

intestinal de EPEC ao ser usada como fonte nutritiva; e eliminar a adesão localizada desta bactéria, ao inibir a síntese de “*bundle-forming pilus*” (BFP) necessários para que essa adesão ocorra. Assim, os autores demonstraram que a adenosina interfere na patogenicidade de EPEC por diferentes mecanismos<sup>35,46</sup>.

Outro estudo, Sheng et al. (2012) descreveu o papel da adenosina na influência sobre diversos fatores de virulência de *Pseudomonas aeruginosa*, verificando-se que esta contribui para a redução da capacidade de formação de biofilmes, eliminação da motilidade de tipo *swarming* (por diminuição da produção de ramnolipídios), redução da produção de piocianina, elastase, polissacáridos extracelulares e de pioverdina (sideróforo). A redução da expressão destes importantes fatores de virulência prende-se com a repressão na expressão de genes, incluindo aqueles relacionados com a aquisição de ferro, a motilidade e a secreção de proteínas. Concluindo assim que a adenosina reduz a patogenicidade de *Pseudomonas aeruginosa*<sup>35</sup>. À semelhança do que acontece com *Pseudomonas aeruginosa*, a adenosina revelou também inibir a formação de biofilmes de *Acidovorax sp. MR-S7*<sup>47</sup>. De notar que em nenhum dos casos a inosina (metabolito da adenosina) demonstrou ter o mesmo efeito sobre a formação dos biofilmes<sup>35,47</sup>.

Estudos realizados relativamente ao papel da adenosina sobre a patogenicidade de *S. aureus* demonstraram que este sintetiza adenosina para escapar à fagocitose por neutrófilos polimorfonucleares. O mecanismo adjacente a este fenómeno está relacionado com a síntese bacteriana de adenosina sintase A, nos estadios iniciais da infeção, mesmo antes de ocorrer a libertação do AMP a partir de células danificadas pelas exotoxinas, como as hemolisinas. Esta enzima, por sua vez, promove o aumento da concentração sanguínea de adenosina que pode, desta forma, contribuir para a sobrevivência do microrganismo ao reduzir a produção de superóxido e óxido nítrico envolvidos na fagocitose<sup>48</sup>. Adicionalmente, sabe-se que a adenosina, através dos seus recetores, leva a uma estimulação dos mastócitos, que consequentemente conduz à libertação de citocinas inflamatórias que podem ter um papel importante no estabelecimento de patologias<sup>40</sup>. Levando assim a crer que *S. aureus* sintetiza adenosina para promover a evasão ao sistema imunitário hospedeiro.

Tendo em consideração estes estudos que demonstram efeitos distintos e opostos da adenosina sobre a patogenicidade de diferentes microrganismos, torna-se fundamental conhecer melhor qual o papel deste nucleósido sobre os fatores de virulência de outros microrganismos, bem como, aprofundar o conhecimento já existente.

## 2. Objetivos

Recentemente, tem sido descrito o papel da adenosina na patogenicidade de alguns microrganismos. Tendo-se demonstrado que este nucleósido promove a sobrevivência intracelular de *S. aureus*, e no caso de bactérias Gram negativas inibe ou potencia alguns dos seus fatores de virulência. No entanto, na literatura não existem dados relativos ao efeito desta molécula em *S. Typhimurium* ou noutros fatores de virulência de *S. aureus*. Desta forma, este trabalho teve como objetivo global esclarecer qual o efeito da adenosina na patogenicidade de *S. aureus* e *S. Typhimurium*, sendo que para tal, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

1. Avaliar o efeito da adenosina no crescimento de *S. aureus* e *S. Typhimurium*;
2. Verificar o efeito da adenosina sobre a capacidade de formação de biofilmes de *S. aureus* e *S. Typhimurium*;
3. Avaliar o efeito da adenosina na atividade lipolítica e hemolítica de *S. aureus*;
4. Determinar a ação da adenosina sobre a produção de estafiloxantina por *S. aureus*;
5. Determinar a ação da adenosina sobre a motilidade de tipo *swarming* e *swimming* de *S. Typhimurium*;
6. Avaliar o efeito da adenosina no mecanismo de “*quorum sensing*”.

### 3. Materiais e métodos

#### 3.1. Microrganismos

O efeito da adenosina na patogenicidade de *S. aureus* e *S. Typhimurium* foi estudado sobre quatro estirpes bacterianas: duas estirpes de referência: *S. aureus* ATCC 25923 e *S. Typhimurium* ATCC 13311, e dois isolados clínicos: *S. aureus* meticilina-suscetível (MSSA) 04/15 e MRSA 05/15. Para avaliação do efeito da adenosina no mecanismo de “quorum sensing” recorreu-se ainda à estirpe *Chromobacterium violaceum* (*C. violaceum*) ATCC 12472.

#### 3.2. Armazenamento e preparação das estirpes

As estirpes bacterianas foram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  em meio *Tryptic Soy Broth* (TSB) com 20% glicerol. Previamente à sua utilização, estas foram descongeladas e cultivadas em meio sólido *Tryptic Soy Agar* (TSA), sendo que para curtos períodos de armazenamento foram conservadas a  $4^{\circ}\text{C}$ . Antes da realização de um ensaio, todos microrganismos em estudo foram primeiro subcultivados em meio sólido TSA a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas e posteriormente em 10 mL de meio líquido TSB, durante 16 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  e com agitação de 250 rotações por minuto (rpm) (figura 4).

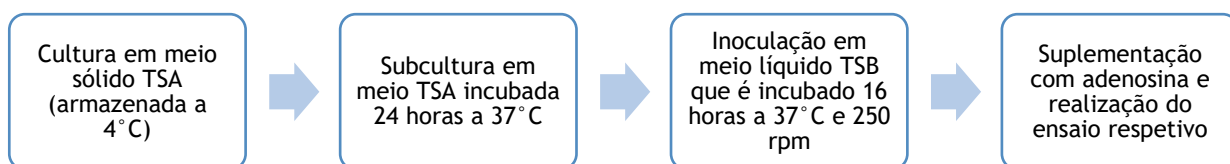


Figura 4- Etapas de preparação das estirpes para posterior realização dos ensaios.

#### 3.3. Reagentes e equipamentos

Para a execução dos objetivos mencionados anteriormente foram necessários diversos reagentes e equipamentos que se encontram enumerados nas tabelas 12 e 13 respetivamente:

##### 3.3.1. Reagentes

Tabela 13- Reagentes e respetivos laboratórios usados para os diversos ensaios realizados.

Reagente	Laboratório de origem
Ácido acético glacial	Chem-lab®
Adenosina	Sigma Aldrich®
Agar bacteriológico	Conda S.A. ®
Cloreto de potássio (KCl)	Panreac®
Cloreto de Sódio (NaCl)	Fisher Chemical®
Dimetilsulfóxido (DMSO)	Fisher Chemical®
Fosfato dipotássico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	Panreac®
Fosfato dissódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	Panreac®

Tabela 13 (continuação) - Reagentes e respetivos laboratórios usados para os diversos ensaios realizados.

Reagente	Laboratório de origem
Fosfato monopotássico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Chem-lab®
Glucose	Fisher Chemical®
Luria Bertani (LB)	Liofilchem®
Metanol	Fisher Chemical®
Nutrient broth	Liofilchem®
p-Nitrofenil palmitato	Sigma Aldrich®
Triton X-100	Fisher Chemical®
Tryptic Soy Broth (TSB)	Merck KGaA®
Violeta de cristal	Amresco®

### 3.3.2. Equipamentos

Tabela 14- Equipamentos e respetivos modelos usados para os diversos ensaios realizados.

Equipamento	Modelo
Agitador magnético	Agimatic-HS da Selecta®
Balança analítica	Sartorius® CP225D e KERN® ABT 100-5M
Balança de precisão	KERN® PLJ 510-3M e Adventurer Pro da OHAUS®
Banho termostático digital	601/12 Nahita®
Bloco de aquecimento	SBH130D da Stuart®
Câmara de fluxo laminar	Aura 2000 M.A.C. da Bioair instruments®
Centrífuga de baixa velocidade	ScanSpeed 416 da Labogene®
Centrífuga de elevada performance	Allegra 25R da Beckman Coulter®
Espetrofotómetro ultravioleta/visível	Ultrospec 3000 da Pharmacia Biotech®
Estufa	Binder®
Incubador orbital	Agitorb 200 ICP e agitorb 200 da Aralab®
Leitor de microplacas	EZ Read 400 da Biochrom®
Medidor de pH	Orion Star A211 da Thermo Scientific®
Microcentrífuga	MIKRO 200R da Hettich®
Sonicador	Transsonic 460/H da Elma®
Vórtex	Labnet international®

### 3.4. Avaliação do efeito da adenosina no crescimento de *S. aureus* e *S. Typhimurium*

Para avaliar o efeito da adenosina no crescimento de *S. aureus* e *S. Typhimurium* os microrganismos provenientes da incubação de 16 horas em meio TSB, a 37°C e com agitação a 250 rpm, foram incubados em microplacas de poliestireno de 96 poços em meio TSB suplementado com adenosina. Para tal, foram realizadas diluições sucessivas de 1:2 do composto, num intervalo de concentrações entre 10 mM e 0,625 mM, num volume final de 200 µL e uma concentração final de células de aproximadamente 2x10<sup>6</sup> unidades formadoras de colónias (UFC) /mL em cada poço. Para este ensaio foi ainda avaliado o crescimento bacteriano

na ausência de adenosina, tendo-se também efetuado o controlo de esterilidade de meio na presença e ausência do nucleósido. Após incubação a 37°C em estufa estática durante 24 horas, procedeu-se à leitura da densidade ótica a 620 nm ( $DO_{620nm}$ ) usando um leitor de microplacas<sup>49</sup>. O ensaio foi realizado em triplicado e em três ensaios independentes.

A percentagem de inibição do crescimento foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Inibição do crescimento(\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Onde A corresponde à média das absorvâncias do ensaio sem adenosina e B à média das absorvâncias para uma determinada concentração de adenosina. Posteriormente determinou-se a média aritmética e o desvio padrão das percentagens de inibição dos três ensaios independentes.

### **3.5. Avaliação do efeito da adenosina sobre a capacidade de formação de biofilmes de *S. aureus* e *S. Typhimurium***

A fim de verificar o efeito da adenosina sobre a capacidade de formação de biofilmes de *S. aureus* e *S. Typhimurium*, o procedimento experimental adotado para formação do biofilme bacteriano foi semelhante ao descrito no ponto 3.4., com exceção da concentração final de células que foi de  $2 \times 10^7$  UFC/mL e do meio de cultura usado para crescimento de *S. aureus*, em que neste caso foi usado o meio TSB suplementado com 0,5% de glucose, tendo sido igualmente realizados os referidos controlos. As microplacas foram incubadas a 37°C durante 24 horas, e após este período de tempo procedeu-se à revelação dos biofilmes. Para tal, removeu-se o conteúdo dos poços que posteriormente foram lavados duas vezes com tampão fosfato salino (PBS), de seguida o biofilme foi fixado com metanol a 100% durante 20 minutos e subsequentemente corado com violeta de cristal a 0,1% por 10 minutos. Posteriormente, os poços foram lavados três vezes com água destilada e por fim foi aplicado ácido acético a 33% para dissolução do corante. Finalmente, transferiram-se 100 µL de cada poço para outra microplaca e mediu-se a absorvância a 595 nm<sup>47,50,51</sup>. O ensaio foi realizado em triplicado e em três ensaios independentes.

Para determinar a percentagem de inibição na formação de biofilme aplicou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Percentagem de inibição (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Onde A corresponde à média das absorvâncias do ensaio sem adenosina e B à média das absorvâncias para uma determinada concentração de adenosina. Por fim, determinou-se a

média aritmética e o desvio padrão das percentagens de inibição dos três ensaios independentes.

### **3.6. Determinação do efeito da adenosina na atividade lipolítica e hemolítica de *S. aureus***

#### **3.6.1. Efeito da adenosina sobre a capacidade lipolítica**

Com o objetivo de avaliar o efeito da adenosina na atividade lipolítica de *S. aureus* procedeu-se como descrito por Kuroda *et al.* (2007) com algumas modificações. Assim, o meio TSB suplementado com adenosina em duas concentrações (5 mM e 20 nM) foi inoculado com as estirpes bacterianas provenientes da incubação de 16 horas em meio TSB a 37°C e com agitação de 250 rpm, tendo-se ajustado a DO<sub>610nm</sub> inicial a 0,03. Posteriormente os tubos foram incubados a 37°C, durante 24 horas e com agitação de 250 rpm. Terminada a incubação, centrifugou-se a cultura a 1 000xg durante 4 minutos e removeu-se uma alíquota de 20 µL do sobrenadante que foi adicionada a 980 µL de tampão do ensaio: tampão fosfato potássico 50 mM pH 7, com 0,5% Triton X-100 e p-nitrofenil palmitato em DMSO numa concentração final de 0,5 mM, correspondendo a 10% (v/v) de DMSO. Esta mistura foi posteriormente incubada a 37°C durante 30 minutos e com agitação de 180 rpm, e a reação foi terminada colocando os tubos a 100°C, durante 5 minutos. No final, mediu-se a absorvência a 410 nm<sup>19,52</sup>. O ensaio foi realizado em duplicado e em pelo menos três ensaios independentes, tendo sido efetuados três controlos, correspondentes à avaliação da atividade lipolítica em sobrenadante proveniente de cultura na ausência do nucleósido e usando meio com e sem adenosina.

#### **3.6.2. Efeito da adenosina na capacidade hemolítica**

Para avaliar o efeito da adenosina na atividade hemolítica de *S. aureus*, o microrganismo foi incubado com adenosina nas condições indicadas para a atividade lipolítica. Após a incubação, 50 µL da cultura foram adicionados a 1 mL de uma solução de eritrócitos previamente preparada, e a mistura foi incubada durante 1 hora, a 37°C, com agitação de 250 rpm. Posteriormente os tubos foram centrifugados a 16 000xg durante 10 minutos, e uma alíquota de 100 µL do sobrenadante foi transferida para uma microplaca de poliestireno de 96 poços, procedendo-se posteriormente à leitura da absorvência dos poços a 562 nm. A solução de eritrócitos foi obtida a partir de sangue Humano que foi centrifugado a 900xg durante 5 minutos, os eritrócitos foram posteriormente lavados 3 vezes com PBS e ressuspensos no mesmo tampão para uma concentração final de 3% em eritrócitos<sup>53-55</sup>. Tal como para o ponto 3.6.1. foram realizados três controlos: determinação da atividade hemolítica usando cultura realizada na ausência de adenosina, e meio com e sem nucleósido, e o ensaio foi efetuado em duplicado e em pelo menos três ensaios independentes.

### **3.7. Avaliação do efeito da adenosina na produção de estafiloxantina por *S. aureus***

A fim de determinar a ação da adenosina sobre a produção de estafiloxantina por *S. aureus*, inicialmente procedeu-se à incubação da bactéria nas condições indicadas nos pontos 3.6.1. e 3.6.2.. De seguida, procedeu-se à extração da estafiloxantina a partir das células incubadas na presença ou ausência do nucleósido, de acordo com o previamente descrito por J. Lee *et al.* (2012), com algumas modificações<sup>53</sup>. Assim, após a incubação, centrifugou-se uma alíquota de 1 mL de cultura a 1 000xg durante 4 minutos e as células foram lavadas com PBS, sendo que o pigmento foi subsequentemente extraído com 1 mL de DMSO. Para finalizar, centrifugaram-se os tubos e mediu-se a absorvência do sobrenadante a 462 nm<sup>56</sup>.

### **3.8. Avaliação do efeito da adenosina sobre a motilidade de tipo *swarming* e *swimming* de *S. Typhimurium***

Para determinar a ação da adenosina sobre a motilidade de tipo *swarming* e *swimming* de *S. Typhimurium*, a bactéria foi incubada em meio TSB suplementado com adenosina (0mM, 20 nM e 5mM), a 37°C, durante 24 horas, com agitação de 250 rpm. Posteriormente, ajustou-se a DO<sub>610nm</sub> a 0,6 com meio TSB num volume final de 500 µL, e aplicou-se 5 µL desta suspensão celular em placas de Petri contendo 20 mL de meio *Nutrient Broth* (NB) suplementado com 0,5% agar (placas para avaliação do *swarming*) ou NB adicionado de 0,25% agar e 0,5% de glucose (para análise do *swimming*). As placas foram incubadas durante 24 horas a 37 °C<sup>27,57</sup>. Por fim, as placas foram fotografadas e o diâmetro de motilidade foi medido em duas direções. O ensaio foi realizado em duplicado e em dois ensaios independentes.

### **3.9. Efeito da adenosina no mecanismo de “*quorum sensing*”**

O efeito da adenosina no processo de “*quorum sensing*” foi avaliado recorrendo-se ao ensaio de difusão em disco, usando a estirpe biossensor *C. violaceum* ATCC 12472, produtora de um pigmento púrpura, a violaceína. Assim, *C. violaceum* foi inoculado em meio Luria-Bertani (LB) agar e incubado por 24 h a 30°C, posteriormente foi usado para preparar uma cultura da bactéria em meio LB que foi incubada por 16 horas a 30°C e 250 rpm. Placas de Petri contendo meio LB agar foram inoculadas com a cultura anterior ajustada com meio LB a uma DO<sub>600nm</sub> de 1, com o auxílio de uma zaragatoa, em três sentidos garantido a inoculação de toda a placa. De seguida, discos estéreis de 6 mm foram carregados com 20 µL de uma solução de adenosina numa concentração de 100 mM em DMSO e aplicados na superfície da placa inoculada. Estas placas foram incubadas a 30°C durante 24 horas. Como controlos foram usados discos que continham DMSO e resveratrol a 64 µg/disco (inibidor conhecido de “*quorum sensing*”)<sup>58,59</sup>.

### **3.10. Análise estatística**

Os resultados obtidos nos ensaios descritos anteriormente foram apresentados como uma média aritmética e respetivo desvio padrão. A análise estatística dos resultados foi efetuada por aplicação de um teste *t-Student*, considerando-se uma diferença estatística significativa para valores de  $p$  inferiores a 0,05.

## 4. Resultados e discussão

*S. aureus* é um patogénico oportunista<sup>3</sup> muito frequentemente associado a infeções nosocomiais<sup>9</sup> e que pode ser responsável por uma grande diversidade de patologias<sup>5</sup>. Esta bactéria pode ser encontrada na pele e mucosa dos humanos (principalmente a nível nasal), no entanto a colonização intestinal por este microrganismo pode também ocorrer, acarretando complicações clínicas, designadamente, o aumento na probabilidade de desenvolvimento de infeções ou diarreia<sup>60</sup>. *S. Typhimurium* é por sua vez uma bactéria Gram negativa, considerada uma das principais causas de gastroenterite em Humanos,<sup>23</sup> podendo ser também a causa de quadros clínicos graves e de difícil resolução em indivíduos vulneráveis<sup>25</sup>. Uma vez que não existiam dados relativos à possível interferência da adenosina ao nível de certos fatores de virulência essenciais para o estabelecimento de infeções por parte de *S. aureus* e *S. Typhimurium*, com este trabalho de investigação, procurou-se avaliar o impacto deste nucleósido em diversos fatores de virulência de ambos os microrganismos. O papel da adenosina no contexto de infeções foi previamente demonstrada, tendo-se verificado que este contribui para a secreção de eletrólitos em casos de diarreia causados por EPEC, para a normalização do processo inflamatório ao nível intestinal e para a sobrevivência intracelular de *S. aureus*, entre outros. As concentrações de adenosina selecionadas para este trabalho, englobaram a concentração intestinal deste nucleósido (5 mM)<sup>35</sup>, uma vez que a adenosina produzida no trato gastrointestinal entra em contacto com estes microrganismos e pode desta forma influenciar a sua patogenicidade. Adicionalmente, para alguns fatores, designadamente, para a atividade lipolítica, hemolítica, para a produção de estafiloxantina e motilidade de tipo *swarming* e *swimming* foi também avaliado o efeito das concentrações sanguíneas de adenosina (20 nM)<sup>34</sup>, dado que ambos os microrganismos podem também estar associadas a bacteriemia<sup>5,25</sup>. De notar que para *S. aureus* foram estudadas as estirpes ATCC 25923 (estirpe de referência), MRSA 05/15 e MSSA 04/15, com o intuito de verificar se, eventualmente, estas exibiam diferentes resultados quando expostas à adenosina.

### 4.1. Efeito da adenosina no crescimento de *S. aureus* e *S. Typhimurium*

O efeito da adenosina no crescimento de *S. aureus* e *S. Typhimurium* foi estudado com o objetivo de avaliar a atividade inibitória do composto sobre estas bactérias. Para além disso, é importante determinar se a adenosina influencia de forma significativa o crescimento destas bactérias, de forma a avaliar se o impacto deste nucleósido nos vários fatores de virulência em estudo é devido a uma atividade antimicrobiana ou à capacidade de inibição ou potenciação destes fatores.

Nos resultados obtidos após incubação de 24 horas dos microrganismos com adenosina, esta demonstrou inibir o crescimento quer de *S. aureus* ou de *S. Typhimurium* (figuras 5 e 6), no entanto esta inibição não ocorreu linearmente com o aumento da concentração, verificando-

se para as todas estirpes testadas uma percentagem de inibição ligeiramente superior para a concentração de 5 mM, correspondente à concentração intestinal deste nucleósido<sup>35</sup>, no entanto sem significado estatístico quando comparado com a concentração mais elevada (10 mM) exceto para o isolado clínico resistente à metilicina. Relativamente a *S. aureus*, as estirpes clínicas apresentam uma tendência de redução da percentagem de inibição do crescimento com a diminuição da concentração de adenosina, já a estirpe de referência para concentrações de 2,5 mM ou inferiores a percentagem de inibição manteve-se praticamente inalterada. Para *S. Typhimurium* verificou-se que o efeito da concentração mais baixa estudada (0,625 mM) sobre o crescimento é menos evidente do que o que se observa para *S. aureus*. Apesar de existirem estudos que indicam que *Salmonella enterica*, à semelhança do que acontece com EPEC, promove a libertação de ATP das células intestinais e posteriormente a adenosina derivada do ATP promove o seu crescimento (entre 20 e 80  $\mu$ M)<sup>46</sup>, neste caso o efeito observado no crescimento de *S. Typhimurium* e *S. aureus* foi contrário ao descrito, indiciando que o efeito da adenosina no crescimento será dependente da concentração. Os resultados obtidos por Sheng *et al.* (2012) relativos à inibição do crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* quando incubada com 10 mM de adenosina<sup>35</sup> são semelhantes aos encontrados para os dois microrganismos em estudo, sendo esta concentração já na ordem de grandeza da usada neste trabalho.

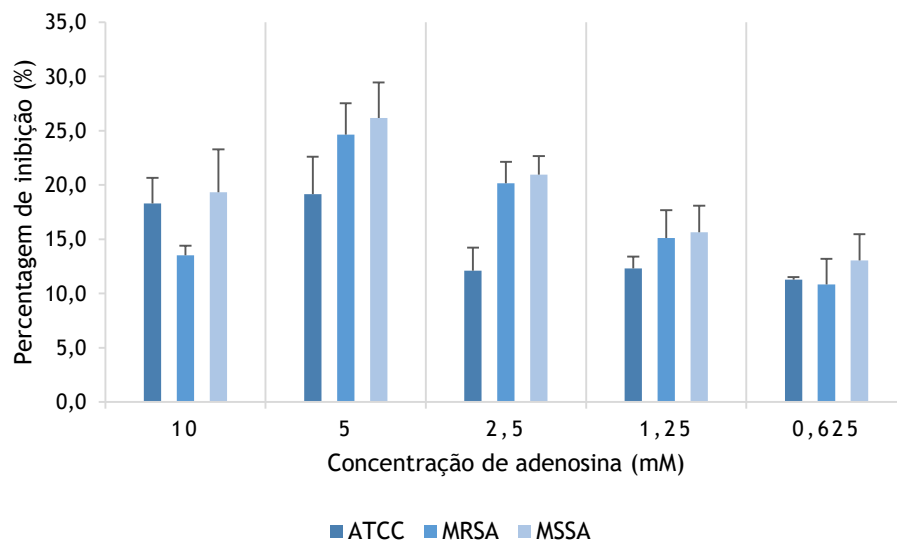


Figura 5- Percentagem de inibição do crescimento de *S. aureus* ATCC 25923, MRSA 05/15 e MSSA 04/15 quando exposto a diferentes concentrações de adenosina em relação ao controlo de crescimento sem composto. Os resultados são apresentados como uma média das percentagens de inibição dos três ensaios independentes, e respetivos desvio padrão.

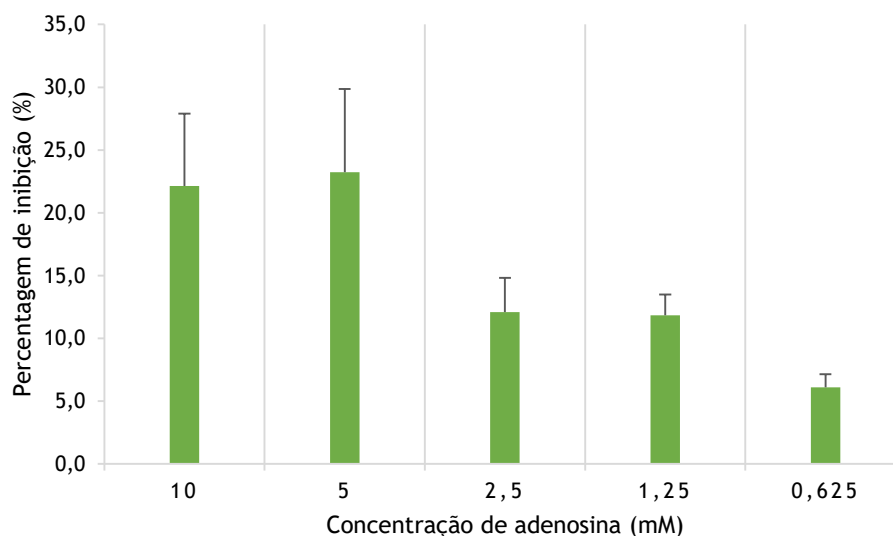


Figura 6- Porcentagem de inibição do crescimento de *S. Typhimurium* quando exposta a diferentes concentrações de adenosina em relação ao controlo de crescimento sem composto. Os resultados são apresentados como uma média das percentagens de inibição dos três ensaios independentes, e respetivos desvio padrão.

#### 4.2. Efeito da adenosina sobre a capacidade de formação de biofilmes de *S. aureus* e *S. Typhimurium*

Os biofilmes são um importante fator de virulência que contribui para a defesa dos microrganismos face ao sistema imunitário hospedeiro e cooperando também para o desenvolvimento de resistências a antibióticos<sup>6</sup>. Assim, a inibição da formação de biofilmes na presença de adenosina foi avaliada, sendo que os resultados alcançados (figuras 7 e 8) se mostraram concordantes com os dados presentes na literatura para outros microrganismos<sup>35,47</sup>, observando-se uma inibição desta capacidade. De forma idêntica ao que se tinha verificado para o crescimento, para *S. aureus* esta inibição não é linear com a concentração, exceto para a estirpe de referência. No entanto, o mesmo não se verifica para *S. Typhimurium*, onde o aumento da percentagem de inibição de formação de biofilmes ocorre com o aumento da concentração de adenosina. Relativamente às diferentes estirpes de *S. aureus* notou-se que a estirpe clínica resistente à meticilina (MRSA 05/15) apresenta, geralmente, percentagens de inibição inferiores, verificando-se assim um efeito menos marcado da adenosina sobre a capacidade de formação de biofilmes desta comparativamente às estirpes de referência e clínica suscetível à meticilina. De notar ainda que apesar desta inibição, nos estudos publicados anteriormente por outros autores, nomeadamente sobre a patogenicidade de *Pseudomonas aeruginosa*<sup>35</sup> e de *Acidovorax sp. MR-S7*<sup>47</sup> a adenosina, na concentração de 10 mM, mostrava praticamente eliminar a formação de biofilmes em placas de poliestireno, o que não se verificou neste estudo. Ainda assim, obteve-se percentagens de inibição próximas de 60%, com exceção da MRSA 05/15, que como já referido mostra ser menos influenciado pela presença de adenosina, apresentando uma inibição de apenas 44,9%.

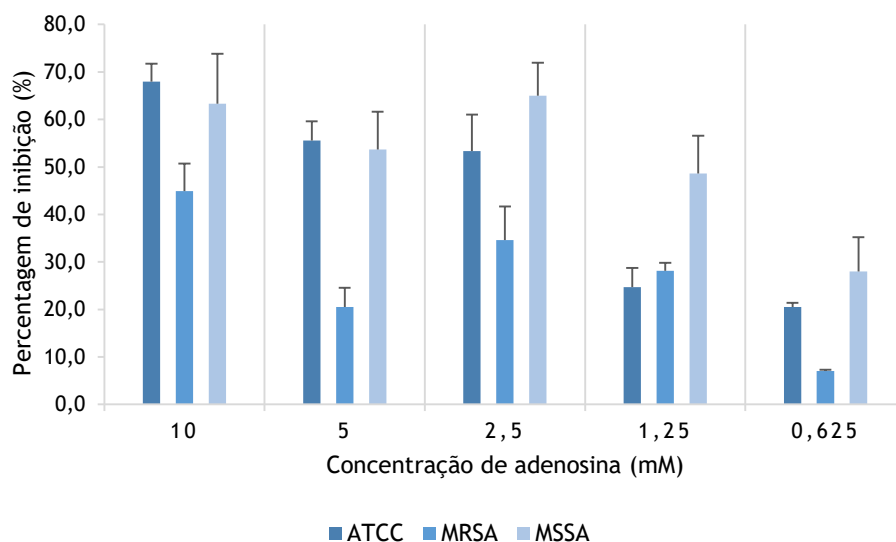


Figura 7- Percentagem de inibição da formação de biofilmes para *S. aureus* ATCC 25923, MRSA 05/15 e MSSA 04/15 para diferentes concentrações de adenosina em relação ao controle de crescimento sem composto. Os resultados são apresentados como uma média das percentagens de inibição dos três ensaios independentes, e respectivos desvio padrão.

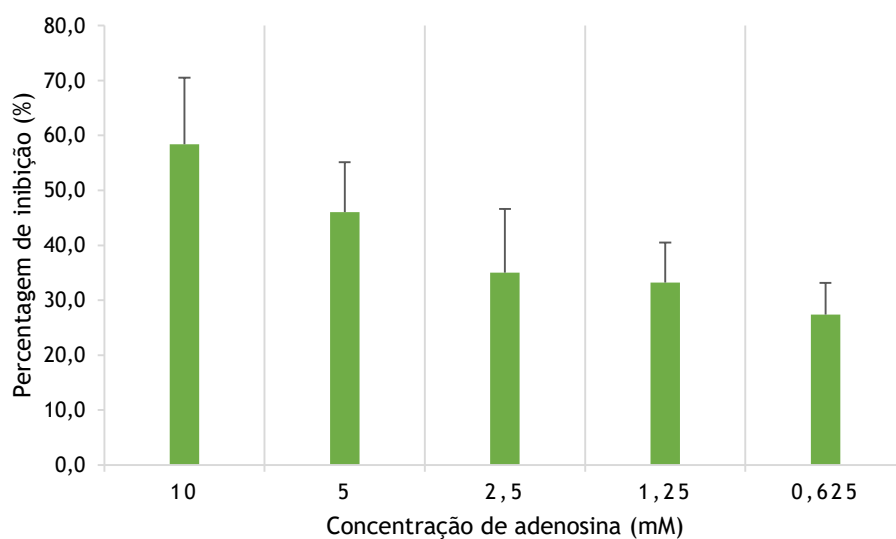


Figura 8- Percentagem de inibição da formação de biofilmes de *S. Typhimurium* para diferentes concentrações de adenosina em relação ao controle de crescimento sem composto. Os resultados são apresentados como uma média das percentagens de inibição dos três ensaios independentes, e respectivos desvio padrão.

### 4.3. Efeito da adenosina na capacidade lipolítica e hemolítica de *S. aureus*

#### 4.3.1. Efeito da adenosina na capacidade lipolítica

Uma vez que as lípases produzidas por *S. aureus* são um importante fator de virulência, tendo um papel na colonização da bactéria em ambientes com fonte de nutrientes limitada, como é

o caso da pele Humana,<sup>19</sup> e que são também essenciais para o estabelecimento de biofilmes<sup>17</sup>, avaliou-se o efeito que a adenosina poderia ter sobre este fator. Assim, a ação da adenosina sobre a capacidade lipolítica de *S. aureus* foi determinada recorrendo-se ao substrato enzimático p-nitrofenil palmitato, que é hidrolisado pelas lípases produzidas pela bactéria, dando origem a uma coloração amarela-esverdeada que foi então medida no espectrofotómetro a 410 nm (figura 10)<sup>19</sup>. Para este ensaio, bem como para os fatores de virulência apresentados futuramente, foram selecionadas duas concentrações de adenosina, nomeadamente 5 mM e 20 nM.

Os resultados obtidos (figura 9) demonstram que a adenosina, não inibiu de forma estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) a atividade lipolítica de *S. aureus*, excetuando a estirpe de referência para a concentração de 5 mM, onde se verifica uma redução da absorvância de 1,68 no controlo para 0,70 (inibição de aproximadamente 60%). Estudos anteriores mostraram que a inibição da atividade lipolítica de *S. aureus* ATCC 25923, usada neste trabalho de investigação, está relacionada com a inibição da formação de biofilmes<sup>61</sup>. Assim, os resultados obtidos para uma concentração de 5 mM onde se verificou uma inibição significativa quer da atividade lipolítica, quer da capacidade de formação de biofilmes estão de acordo com o que se encontra descrito na literatura para esta estirpe<sup>61</sup>. O mesmo não se verifica para as restantes estirpes estudadas, onde não ocorreu uma inibição estatisticamente significativa na atividade lipolítica quando expostas à adenosina, apesar de esta ter mostrado inibir a formação de biofilme, indicando desta forma, que outros fatores igualmente importantes na formação de biofilme podem ter sido inibidos pelo nucleósido.

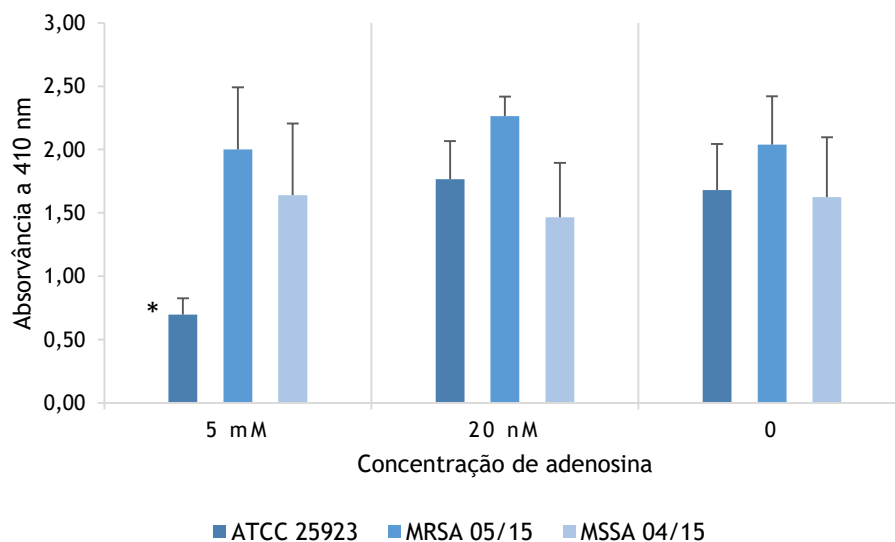


Figura 9- Efeito da adenosina sobre a atividade lipolítica de *S. aureus* na presença de adenosina em concentrações de 5 mM e 20 nM ou na sua ausência. Os resultados são apresentados como uma média de pelo menos três ensaios independentes e respetivos desvio padrão. O símbolo \* indica que existe uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos resultados em relação ao controlo.

#### 4.3.2. Efeito da adenosina na capacidade hemolítica

Dado que *S. aureus* produz hemolisinas, com ação citotóxica, recorreu-se a eritrócitos humanos, para assim determinar o efeito da adenosina na capacidade hemolítica da bactéria. Para tal, os eritrócitos foram incubados com cada uma das três estirpes em estudo, após estas terem sido incubadas na presença ou ausência do nucleósido. Como pode ser observado na figura 10, a adenosina não demonstrou influenciar de forma estatisticamente significativa este fator de virulência. É possível verificar, de uma maneira genérica, uma ligeira inibição da hemólise para as três estirpes avaliadas, exceto para a de referência na concentração de 20 nM onde a adenosina promoveu ligeiramente um aumento desta. À semelhança do que acontece com outros fatores de virulência, nomeadamente formação de biofilmes, a estirpe *S. aureus* MRSA 05/15 foi aquela em que o efeito da adenosina foi inferior. No entanto, para nenhuma das estirpes foi observado um efeito significativo da adenosina sobre a capacidade hemolítica dos microrganismos.

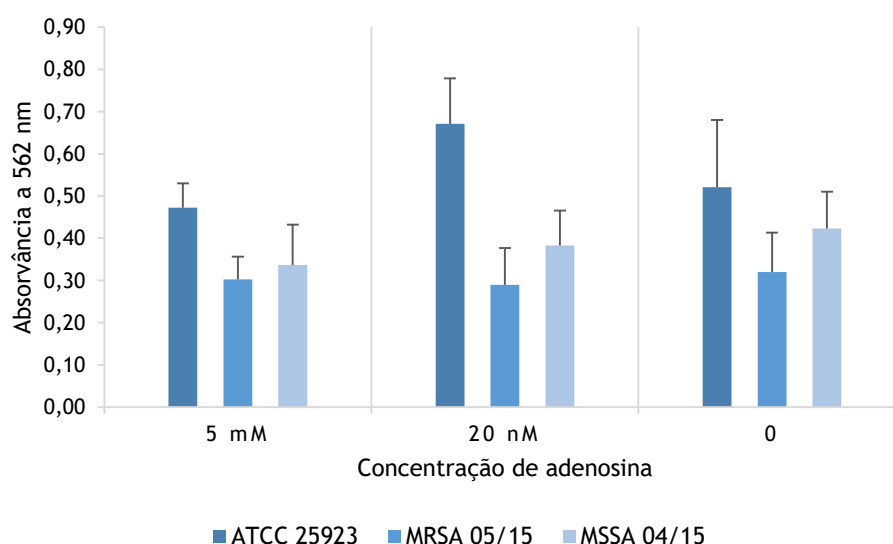


Figura 10- Efeito da adenosina sobre a atividade hemolítica de *S. aureus* na presença de adenosina em concentrações de 5 mM e 20 nM ou na sua ausência. Os resultados são apresentados como uma média de pelo menos três ensaios independentes e respetivos desvio padrão.

#### 4.4. Efeito da adenosina na produção de estafiloxantina por *S. aureus*

A ação da adenosina sobre a produção de estafiloxantina foi avaliada pela medição da coloração amarela por espectrofotometria a 462 nm após extração deste pigmento com DMSO. A alteração ao protocolo, nomeadamente a substituição do metanol ou da acetona, usados usualmente para a extração do pigmento<sup>53,62</sup> por DMSO foi realizada devido à dificuldade de extração completa do pigmento, dado que estes compostos promoviam a fixação das células impedindo uma completa extração da estafiloxantina. Os resultados obtidos relativos ao efeito da adenosina na produção de estafiloxantina (figura 11) demonstraram que este nucleósido induziu um

aumento significativo da produção do pigmento para a estirpe de referência, no entanto sem alteração significativa para a produção de estafiloξανtina no caso das estirpes de *S. aureus* de origem clínica. O aumento da produção de estafiloξανtina observado é compatível com os estudos que revelam a promoção da sobrevivência intracelular de *S. aureus* associada à síntese de adenosina pelo microrganismo<sup>48</sup>, dado que a estafiloξανtina é um pigmento, que auxilia, também, na sobrevivência intracelular de *S. aureus*. Podendo-se desta forma presumir que a sobrevivência intracelular do microrganismo e consequente evasão ao sistema imunitário,<sup>20</sup> ocorrem não só pelo aumento da síntese de adenosina, mas também pelo consequente aumento na produção de estafiloξανtina.

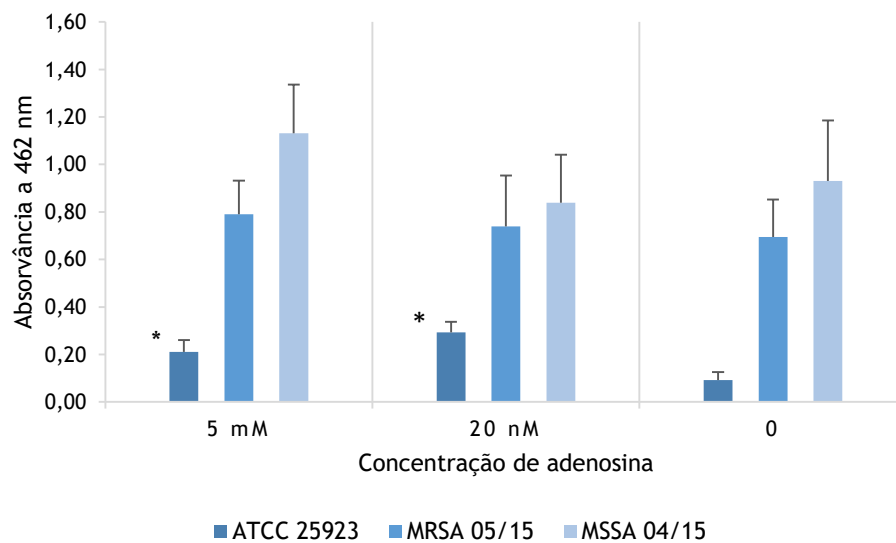


Figura 11- Efeito da adenosina sobre a produção de estafiloξανtina por *S. aureus* na presença de adenosina em concentrações de 5 mM e 20 nM ou na sua ausência. Os resultados são apresentados como uma média de pelo menos três ensaios independentes e respectivos desvio padrão. O símbolo \* significa que existe uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos resultados obtidos em relação ao controle.

#### 4.5. Efeito da adenosina sobre a capacidade de motilidade de tipo *swarming* e *swimming* de *S. Typhimurium*

Uma vez que a motilidade é um importante fator de virulência de *S. Typhimurium* relacionado diretamente com o estabelecimento de infecções e com a formação de biofilmes,<sup>35</sup> este fator de virulência foi igualmente estudado para avaliar se a adenosina exibia alguma influência nele. Assim, o efeito da adenosina sobre a capacidade de motilidade do tipo *swarming* e *swimming* de *S. Typhimurium* foi avaliado pela incubação do microrganismo em meio *Nutrient* agar durante 24 horas a 37 °C e subsequente medição do diâmetro médio de crescimento. Os resultados obtidos nas placas de *swarming* (figura 12) demonstraram que a adenosina reduziu a motilidade do microrganismo em ambas as concentrações estudadas, verificando-se uma redução do diâmetro de crescimento de 0,65 cm no controle para 0,54 cm na concentração de

5 mM e 0,55 cm na concentração de 20 nM, o que corresponde a uma percentagem de inibição de aproximadamente 16% e 15% respetivamente.

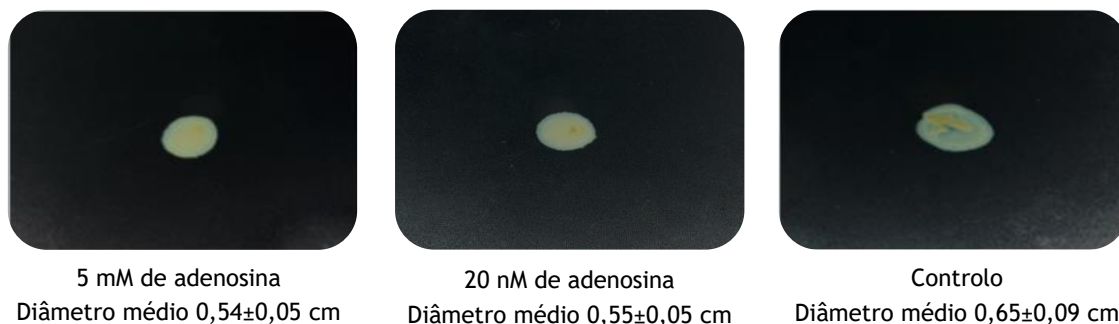


Figura 12- Ensaio de avaliação de motilidade de tipo *swarming* de *S. Typhimurium* após 24 horas de incubação com adenosina a 5 mM e 20 nM, ou na sua ausência (controlo). Os resultados são apresentados como uma média  $\pm$  desvio padrão dos dois ensaios independentes realizados.

Nas placas correspondentes ao ensaio de *swimming* (figura 13) é possível observar que ocorreu motilidade da bactéria ao longo de toda a placa, não existindo diferenciação entre o controlo sem adenosina e as restantes placas. Assim, não foi possível avaliar o efeito da adenosina sobre este fator, dada a impossibilidade de determinar o diâmetro de crescimento. Os resultados encontrados por Sheng *et al.* (2012), relativos ao efeito da adenosina sobre a patogenicidade de *Pseudomonas aeruginosa*, não demonstraram qualquer diferença na motilidade de tipo *swimming* quando o microrganismo foi incubado com adenosina, no entanto para *Pseudomonas aeruginosa* a adenosina numa concentração de 1 mM suprimiu a motilidade de tipo *swarming*<sup>35</sup>, o que não se verificou para *S. Typhimurium* verificando-se no entanto uma tendência semelhante.

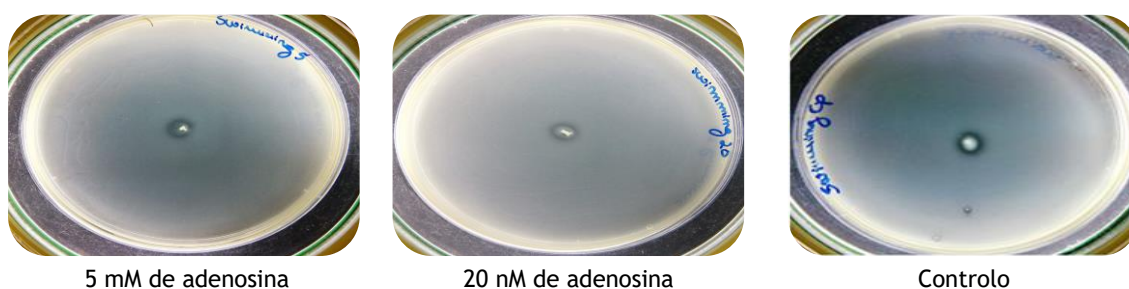


Figura 13- Ensaio de avaliação de motilidade de tipo *swimming* de *S. Typhimurium* após 24 horas de incubação com adenosina a 5 mM e 20 nM, ou na sua ausência (controlo).

#### 4.6. Efeito da adenosina no mecanismo de “*quorum sensing*”

Para avaliar a ação da adenosina no “*quorum sensing*”, um importante mecanismo com papel na regulação da formação de biofilmes, na resistência a antibióticos, na motilidade dos microrganismos, entre outros<sup>58</sup>, recorreu-se ao método de difusão em disco com a bactéria *C.*

*violaceum*. Este método baseia-se no facto da produção do pigmento púrpura, violaceína, ser dependente do “*quorum sensing*” bacteriano<sup>59</sup>. Os resultados demonstraram que a adenosina não produziu nenhum efeito no “*quorum sensing*” (figura 15), dado que não ocorreu inibição da produção do pigmento pelo microrganismo, quando o disco foi suplementado com o nucleósido. É possível observar, que não existe diferença entre o controlo de solvente e o disco de adenosina, contrariamente ao controlo de resveratrol, com atividade anti-“*quorum sensing*” descrita<sup>58</sup>. Crane e Shulgina (2009) tinham anteriormente demonstrado que o papel da adenosina na expressão de genes de virulência em EPEC não ocorria através de vias de “*quorum signaling*”, suportando assim os resultados obtidos<sup>46</sup>. Assim, apesar do mecanismo de “*quorum sensing*” ser importante na regulação da expressão e secreção de diversos fatores de virulência, incluindo a formação de biofilmes, a motilidade e a produção de toxinas<sup>58,63</sup>, o efeito revelado pela adenosina nos vários fatores de virulência estudados, poderá ocorrer por mecanismos diferentes que não a via “*quorum sensing*”, demonstrando que poderá existir uma via alternativa que justifique os resultados obtidos.

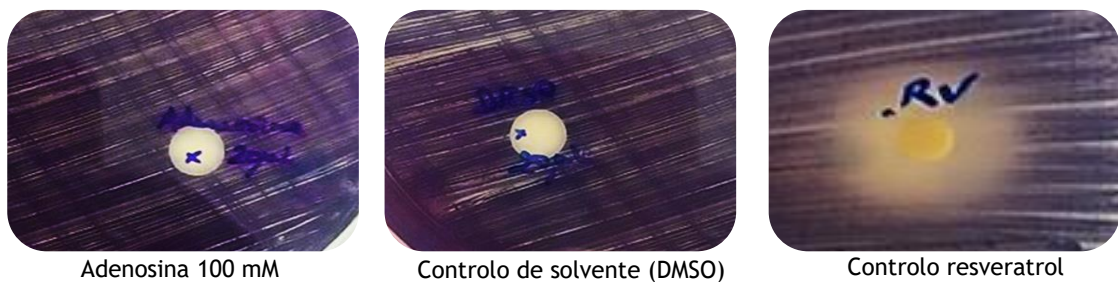


Figura 14- Efeito na adenosina no “*quorum sensing*” pelo método de difusão em disco com a bactéria *C. violaceum*.

## 5. Conclusão

Considerando o papel da adenosina na patogenicidade de múltiplos microrganismos, o objetivo deste trabalho visava conhecer qual o efeito deste composto em diversos fatores de virulência de duas bactérias, *S. aureus* e *S. Typhimurium*. Para tal, inicialmente, foi usado, para determinar o efeito desta no crescimento e biofilmes, um intervalo de concentrações que abrangia a concentração intestinal deste nucleósido e as concentrações que tinham sido anteriormente avaliadas noutros estudos<sup>35</sup>. Posteriormente selecionou-se a concentração intestinal e adicionou-se, também, a concentração sanguínea, para avaliação dos restantes fatores de virulência, uma vez que ambos os microrganismos podem ser responsáveis por quadros de bacteriemia<sup>5,25</sup>.

Os resultados obtidos demonstraram que a adenosina inibe, no intervalo de concentrações avaliado, o crescimento bacteriano e a capacidade de formação de biofilmes de ambos os microrganismos, reduz a atividade lipolítica de *S. aureus* ATCC 25923 na concentração intestinal de adenosina e promove um aumento da produção de estafiloxantina também nesta estirpe, quer na concentração intestinal, quer na sanguínea. Relativamente a *S. Typhimurium*, a adenosina reduziu a capacidade de *swarming* da bactéria, em ambas as concentrações estudadas. Genericamente, a adenosina mostrou não influenciar, de forma estatisticamente significativa, a atividade hemolítica de *S. aureus*, nem afetar o mecanismo de “*quorum sensing*” bacteriano. É também possível verificar, pelos resultados obtidos, que os fatores de virulência de *S. aureus* MRSA 05/15 foram os menos afetados pela adenosina. Tendo-se verificado percentagens de inibição da formação de biofilme inferiores quando comparadas com as restantes estirpes estudadas, e não tendo, também, influenciado de forma estatisticamente significativa nenhum dos restantes fatores de virulência avaliados. Assim, e apesar de *S. aureus* sintetizar adenosina para escapar ao sistema imunitário hospedeiro, este nucleósido apresenta um efeito distinto nos vários fatores de virulência testados, podendo diminuir a sua patogenicidade, no que diz respeito ao crescimento e de forma mais significativa, na capacidade de formação de biofilmes. Neste último aspeto verificou-se uma inibição para todas as concentrações testadas, sendo os resultados obtidos diferentes dependendo da estirpe avaliada: a estirpe de referência apresentou percentagens de inibição lineares com a concentração, enquanto que os isolados clínicos demonstraram percentagens de inibição menores para a concentração intestinal (5 mM) do que para concentração 2,5 mM. No que diz respeito a *S. Typhimurium*, a adenosina mostrou diminuir a sua patogenicidade, ao diminuir, embora não tão significativamente como o que se encontra descrito para outras bactérias Gram negativas, designadamente *Pseudomonas aeruginosa*<sup>35</sup> e *Acidovorax sp.* MR-S7<sup>47</sup>, o crescimento, a capacidade de formação de biofilmes e ainda a motilidade de tipo *swarming*.

Um possível mecanismo pelo qual a adenosina poderia influenciar os vários fatores de virulência testados seria pela interferência no mecanismo de “*quorum sensing*”, uma vez que este é essencial para a formação de biofilmes, para a motilidade de tipo *swarming*, para a produção

de toxinas e de pigmentos (como a estafiloxantina)<sup>59,63</sup>, no entanto, considerando a metodologia usada, esta não mostrou nenhuma influência sobre este mecanismo, o que indica que poderá existir outro mecanismo alternativo que permita explicar o efeito deste nucleósido nos fatores de virulência estudados.

Este trabalho de investigação onde se avaliou o efeito da adenosina na patogenicidade de *S. aureus* e *S. Typhimurium* é fundamental dada a relevância destes microrganismos, que têm em comum a particularidade de poderem ser patogênicos intestinais, no entanto, podem estar também associados a outros quadros clínicos, muitas vezes graves e difíceis de tratar, principalmente devido à resistência aos antibióticos que se tem vindo a verificar<sup>8,25</sup>. É possível concluir-se que a adenosina interfere, na patogenicidade dos microrganismos estudados, demonstrando uma dependência da concentração deste composto, mas também das estirpes avaliadas. Os resultados obtidos comprovam assim a importância deste nucleósido em infeções do trato gastrointestinal,<sup>35,46</sup> e mostram ainda a sua relevância em casos de bacteriemia causados por *S. aureus* ou *S. Typhimurium*. A partir do conhecimento adquirido relativo à patogenicidade destes microrganismos, poderá ser possível, com investigação adicional, melhorar as formas de controlo da mesma.

Assim, em estudos futuros considera-se que seria importante proceder à avaliação do papel da adenosina num maior número de estirpes, bem como avaliar de que forma este composto pode influenciar outros fatores de virulência.

## 6. Referências bibliográficas

1. Peterson JW. Bacterial Pathogenesis. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
2. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev 2000;13(1):16-34.
3. Brown SP, Cornforth DM, Mideo N. Evolution of virulence in opportunistic pathogens: generalism, plasticity, and control. Trends Microbiol 2012;20:336-42.
4. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-Negative *Staphylococci*. Clin Microbiol Rev 2014;27(4):870-926.
5. Jarraud S, Mougél C, Thioulouse J, et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* Genetic Background , Virulence Factors , agr Groups (Alleles), and Human Disease. Infect Immun 2002;70(2):631-41.
6. Lister J, Horswill A. *Staphylococcus aureus* biofilms: recent developments in biofilm dispersal. Front Cell Infect Microbiol 2014;4(December):178.
7. Suriyasathaporn W, Chupia V, Sing-Lah T, Wongsawan K, Mektrirat R, Chaisri W. Increases of Antibiotic Resistance in Excessive Use of Antibiotics in Smallholder Dairy Farms in Northern Thailand. Asian-Australasian J Anim Sci 2012;25(9):1322-8.
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Stockholm: ECDC; 2015.
9. Köck R, Becker K, Cookson B, et al. Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Euro Surveill 2014;19(29).
10. You Y-O, Choi N-Y, Kang S-Y, Kim K-J. Antibacterial Activity of *Rhus javanica* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Evid Based Complement Alternat Med 2013;2013:549207.
11. Duthie ES. Evidence for Two Forms of *Staphylococcal* Coagulase. J Gen Microbiol 1954;10(3):427-36.
12. Archer GL. *Staphylococcus aureus*: a well-armed pathogen. Clin Infect Dis 1998;26(5):1179-81.

13. Vandenesch F, Lina G, Henry T. *Staphylococcus aureus* hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors? *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:12.
14. Bassler BL. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr Opin Microbiol* 1999;2(6):582-7.
15. Bernardo K, Pakulat N, Fleeer S, et al. Subinhibitory Concentrations of Linezolid Reduce *Staphylococcus aureus* Virulence Factor Expression. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(2):546-55.
16. Khmel IA. Quorum-Sensing Regulation of Gene Expression: Fundamental and Applied Aspects and the Role in Bacterial Communication. *Microbiology* 2006;75(4):390-7.
17. Hu C, Xiong N, Zhang Y, Rayner S, Chen S. Functional characterization of lipase in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;419(4):617-20.
18. Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR. Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins (Basel)* 2010;2(7):1751-73.
19. Kuroda M, Nagasaki S, Ito R, Ohta T. Sesquiterpene farnesol as a competitive inhibitor of lipase activity of *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 2007;273:28-34.
20. Holt DC, Holden MTG, Tong SYC, et al. A Very Early-Branching *Staphylococcus aureus* Lineage Lacking the Carotenoid Pigment Staphyloxanthin. *Genome Biol Evol* 2011;3:881-95.
21. Clauditz A, Resch A, Wieland KP, Peschel A, Götz F. Staphyloxanthin Plays a Role in the Fitness of *Staphylococcus aureus* and Its Ability to Cope With Oxidative Stress. *Infect Immun* 2006;74(8):4950-3.
22. Dieckmann R, Helmuth R, Erhard M, Malorny B. Rapid Classification and Identification of *Salmonellae* at the Species and Subspecies Levels by Whole-Cell Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Appl Environ Microbiol* 2008;74(24):7767-78.
23. Bula-Rudas FJ, Rathore MH, Maraqa NF. *Salmonella* Infections in Childhood. *Adv Pediatr* 2015;62(1):29-58.
24. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2014- food and waterborne diseases and zoonoses. Stockholm: ECDC; 2014.
25. Acheson D, Hohmann EL. Nontyphoidal *Salmonellosis*. *Clin Infect Dis* 2001;32(2):263-9.

26. Ohl ME, Miller SI. *Salmonella*: a Model for Bacterial Pathogenesis. *Annu Rev Med* 2001;52:259-74.
27. Kim W, Surette MG. Prevalence of Surface Swarming Behavior in *Salmonella*. *J Bacteriol* 2005;187(18):6580-3.
28. Worley MJ, Nieman GS, Geddes K, Heffron F. *Salmonella* Typhimurium disseminates within its host by manipulating the motility of infected cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(47):17915-20.
29. Jones BD, Lee CA, Falkow S. Invasion by *Salmonella* Typhimurium Is Affected by the Direction of Flagellar Rotation. *Infect Immun* 1992;60(6):2475-80.
30. Barnhart MM, Chapman MR. Curli Biogenesis and Function. *Annu Rev Microbiol* 2006;60:131-47.
31. Robert JMI, Toguchi A, Harshey RM. *Salmonella* enterica Serovar Typhimurium Swarming Mutants with Altered Biofilm-Forming Abilities : Surfactin Inhibits Biofilm Formation. *J Bacteriol* 2001;83(20):5848-54.
32. Dunwiddie T V, Masino S a. The Role and Regulation of Adenosine in the Central Nervous System. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41(1):145-74.
33. Bruns RF. Role of Adenosine in Energy Supply/Demand Balance. *Nucleosides and Nucleotides* 1991;10(5):931-43.
34. Saito H, Nishimura M, Shinano H, et al. Plasma Concentration of Adenosine during Normoxia and Moderate Hypoxia in Humans. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(3):1014-8.
35. Sheng L, Pu M, Hegde M, Zhang Y, Jayaraman A, Wood TK. Interkingdom adenosine signal reduces *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity. *Microb Biotechnol* 2012;5(4):560-72.
36. Ye JH, Rajendran VM, Com WW, Andoh A. Adenosine: An immune modulator of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2009;15:4491-8.
37. Haskó G, Cronstein B. Regulation of Inflammation by Adenosine. *Front Immunol* 2013;4(April):1-8.
38. Haskó G, Cronstein BN. Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity. *Trends Immunol* 2004;25(1):33-9.
39. Burnstock G. Local Control of Blood Pressure by Purines. *J Vasc Res* 1987;24(3):156-60.

40. Ma YJ, Kim C-H, Ryu K-H, et al. Adenosine derived from *Staphylococcus aureus*-engulfed macrophages functions as a potent stimulant for the induction of inflammatory cytokines in mast cells. *BMB Rep* 2011;44(5):335-40.
41. Wyss D, Bonneau O, Trifilieff A. Mast cell involvement in the adenosine mediated airway hyper-reactivity in a murine model of ovalbumin-induced lung inflammation. *Br J Pharmacol* 2005;145(7):845-52.
42. Cristalli G, Costanzi S, Lambertucci C, et al. Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors. *Med Res Rev* 2001;21(2):105-28.
43. Erel O, Kocyigit A, Gurel MS, Bulut V, Seyrek A, Ozdemir Y. Adenosine Deaminase Activities in Sera, Lymphocytes and Granulocytes in Patients with Cutaneous Leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998;93(4):491-4.
44. Trincavelli ML, Daniele S, Martini C. Adenosine receptors: what we know and what we are learning. *Curr Top Med Chem* 2010;10(9):860-77.
45. Resumo das Características do Medicamento Adenocor 6mg/mL solução injetável. Disponível em [www.infarmed.pt](http://www.infarmed.pt)
46. Crane J, Shulgina I. Feedback Effects of Host-Derived Adenosine on Enteropathogenic *Escherichia coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009;57:214-28.
47. Kusada H, Hanada S, Kamagata Y, Kimura N. The effects of N-acylhomoserine lactones, Beta-lactam antibiotics and adenosine on biofilm formation in the multi-beta-lactam antibiotic-resistant bacterium *Acidovorax* sp. strain MR-S7. *J Biosci Bioeng* 2014;118(1):14-9.
48. Thammavongsa V, Kern JW, Missiakas DM, Schneewind O. *Staphylococcus aureus* synthesizes adenosine to escape host immune responses. *JExpMed* 2009;206(1540-9538 (Electronic)):2417-27.
49. Ochoa-Zarzosa A, Villarreal-Fernández E, Cano-Camacho H, López-Meza JE. Sodium butyrate inhibits *Staphylococcus aureus* internalization in bovine mammary epithelial cells and induces the expression of antimicrobial peptide genes. *Microb Pathog* 2009;47(1):1-7.
50. Fabres-klein M, Santos M, Klein R, Souza G, Ribon A. An association between milk and slime increases biofilm production by bovine *Staphylococcus aureus*. *BMC Vet Res* 2015;1-8.
51. Rodrigues LB, Santos LR Dos, Rizzo NN, et al. Avaliação da hidrofobicidade e da formação

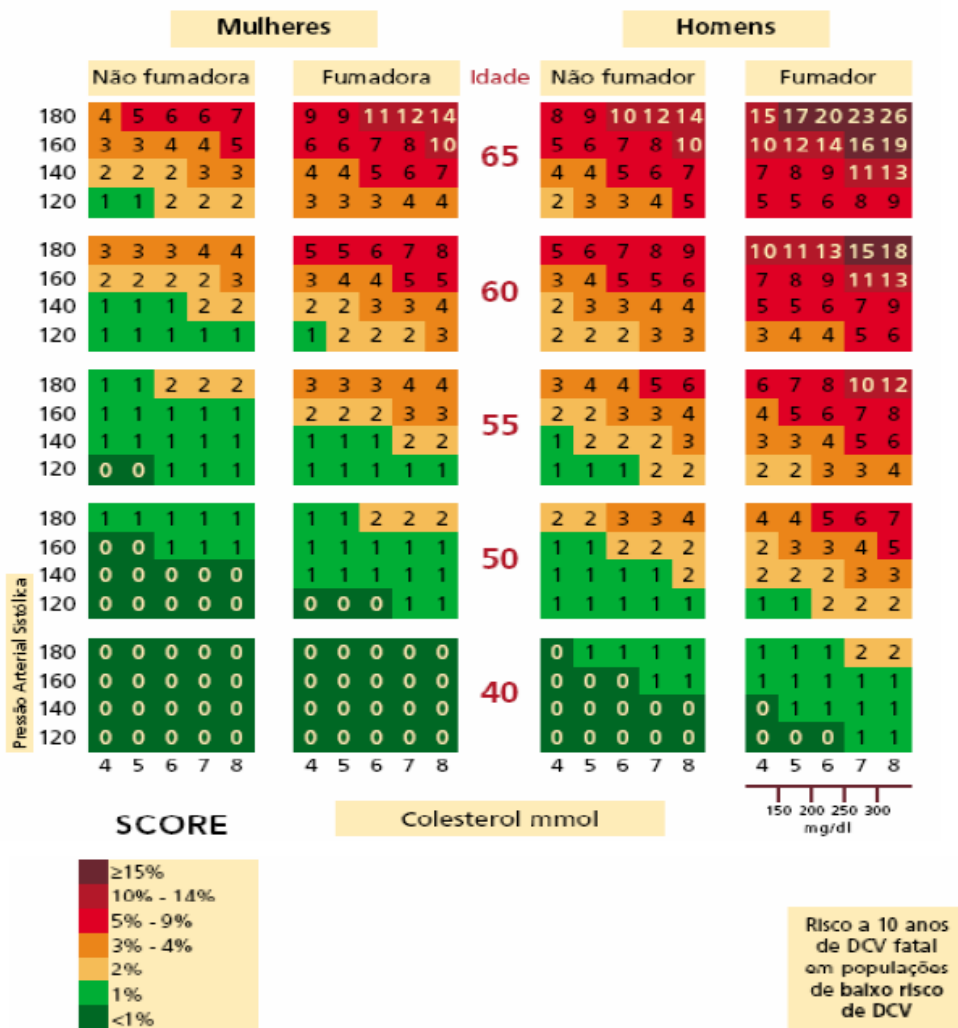
- de biofilme em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. *Acta Sci Vet* 2009;37(3):225-30.
52. Eby JM, Peretti SW. Characterization, performance, and applications of a yeast surface display-based biocatalyst. *RSC Adv* 2015;5(25):19166-75.
  53. Lee J-H, Park J-H, Cho MH, Lee J. Flavone Reduces the Production of Virulence Factors, Staphyloxanthin and  $\alpha$ -Hemolysin, in *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol* 2012;65(6):726-32.
  54. Liu W, Chen Y, Ming X, Kong Y. Design and Synthesis of a Novel Cationic Peptide with Potent and Broad-Spectrum Antimicrobial Activity. *Hindawi Publ Corp BioMed Res Int* 2015;2015:1-6.
  55. Mona H. Virulence characters of some methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Arch Clin Microbiol* 2014;5(4):1-14.
  56. Marshall JH, Wilmoth GJ. Pigments of *Staphylococcus aureus*, a Series of Triterpenoid Carotenoids. *J Bacteriol* 1981;147(3):900-13.
  57. O'May C, Tufenkji N. The Swarming Motility of *Pseudomonas aeruginosa* Is Blocked by Cranberry Proanthocyanidins and Other Tannin-Containing Materials. *Appl Environ Microbiol* 2011;77(9):3061-7.
  58. Duarte A, Alves AC, Ferreira S, Silva F, Domingues FC. Resveratrol inclusion complexes: Antibacterial and anti-biofilm activity against *Campylobacter* spp. and *Arcobacter butzleri*. *Food Res Int* 2015;77:244-50.
  59. Halkare V, Arun AB, Devasya P. Inhibition of quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* by *Syzygium cumini* L. and *Pimenta dioica* L. *Asian Pac J Trop Biomed* 2013;3(12):954-9.
  60. Acton DS, Tempelmans Plat-Sinnige MJ, Van Wamel W, De Groot N, Van Belkum a. Intestinal carriage of *Staphylococcus aureus*: How does its frequency compare with that of nasal carriage and what is its clinical impact? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28(2):115-27.
  61. Xiong N, Hu C, Zhang Y, Chen S. Interaction of sortase A and lipase 2 in the inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Arch Microbiol* 2009;191(12):879-84.
  62. Kurjogi M, Sanakal RD, Kaliwal B. Antibiotic susceptibility and antioxidant activity of *Staphylococcus aureus* pigment staphyloxanthin on carbon tetrachloride (ccl4) induced stress in swiss albino mice. *Int J Biotechnol Appl* 2010;2(2):33-40.

63. Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial Quorum Sensing: Its Role in Virulence and Possibilities for Its Control. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:1-26.
64. Direção Geral da Saúde. Norma da Direção Geral da Saúde: Avaliação do Risco Cardiovascular SCORE. Disponível em [www.dgs.pt](http://www.dgs.pt) 2015;

# Anexos

## Anexo I

Risco cardiovascular para adultos com idade superior a 40 e igual ou inferior a 65 anos. Tabela anexa à norma da Direção Geral da Saúde “Avaliação do Risco Cardiovascular SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*)<sup>64</sup>



## Anexo II

Requisição de substâncias e suas preparações compreendidas nas tabelas I, II, III e IV, com exceção da II-A, anexas ao Decreto-Lei nº 15/93, de 22 de janeiro, com retificação de 20 de fevereiro. Modelo retirado do anexo VII da Portaria nº 981/98 de 8 de junho.

REQUISICÃO DE SUBSTÂNCIAS E SUAS PREPARAÇÕES  
COMPREENDIDAS NAS TABELAS I, II, III E IV, COM EXCEPCÃO DA II-A,  
ANEXAS AO DECRETO-LEI N.º 15/93, DE 22 DE JANEIRO, COM  
RECTIFICAÇÃO DE 20 DE FEVEREIRO

N.º \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
Nota de encomenda N.º \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

(Nos termos do art.º 18.º do Decreto Regulamentar n.º 61/94, de 12 de outubro)

Requisita-se a \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

SUBSTÂNCIAS ACTIVAS E SUAS PREPARAÇÕES				QUANTIDADE	
N.º de Código	Designação	Forma Farmac.	Dosagem	Pedida	Fornecida
Carimbo da entidade requisitante			D.T. ou Farmac. Responsável _____		
			N.º de insc na O. F.    _/_/_/_/_/_		
			Data    _/_/_		
			Ass. legível _____		
Carimbo da entidade fornecedora			Director Técnico _____		
			N.º de insc na O. F.    _/_/_/_/_/_		
			Data    _/_/_		
			Ass. legível _____		

## Anexo III

Requisição de substâncias e suas preparações compreendidas nas tabelas I, II, III e IV, com exceção da II-A, anexas ao Decreto-Lei nº 15/93, de 22 de janeiro, com retificação de 20 de fevereiro. Modelo retirado do anexo X da Portaria nº 981/98 de 8 de junho.

REQUISIÇÃO DE SUBSTÂNCIAS SUAS PREPARAÇÕES COMPREENDIDAS NAS TABELAS I, II, III E IV, COM EXCEÇÃO DA II-A,  
ANEXAS AO DECRETO-LEI N.º 15/93, DE 22 DE JANEIRO, COM RECTIFICAÇÃO DE 20 DE FEVEREIRO N.º

Serviços Farmacêuticos  
do

Código   
SERVIÇO   
SALA

Medicamento (D.C.I.)	Forma Farmacêutica	Dosagem	Código

Nome do Doente	Cama/ Processo	Quantidade Pedida Ou Prescrita	Enfermeiro que administra o Medicamento		Quantidade Fornecida	Observações
			Rubrica	Data		
		Total			Total	

Assinatura legível do director de serviço ou legal substituto Data ___/___/___ N.º Mec. _____	Assinatura legível do director do serviço farmacêutico ou legal substituto. Data ___/___/___ N.º Mec. _____	Entregue por (ass. Legível) _____ N.º Mec. _____ Data ___/___/___ Recebido por (ass. Legível) _____ N.º Mec. _____ Data ___/___/___
---	---	--

## Anexo IV

Folha de requisição/distribuição/administração de hemoderivados - via farmácia. Modelo retirado do Despacho conjunto nº 1051/2000, 14 de setembro.

Número de série \_\_\_\_\_

VIAFARMÁCIA

### MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS REQUISIÇÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO *(Arquivar pelos Serviços Farmacêuticos <sup>(\*)</sup>)*

HOSPITAL \_\_\_\_\_ SERVIÇO \_\_\_\_\_ | | | | |

Médico _____ <i>(Nome legível)</i>	Identificação do doente <i>(nome, B.I., n.º do processo, n.º de utente do SNS)</i>	<b>Quadro A</b>
N.º Mec. _____ ou Vinheta		
Assinatura _____		
Data ___/___/___		
<i>Apor etiqueta autocolante cisógrafa ou outro. Enviar tantos autocolantes, com a identificação do doente, quantas as unidades requisitadas</i>		
<b>REQUISIÇÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA</b> <i>(A preencher pelo médico)</i>		
Hemoderivado _____ <i>(Nome, forma farmacêutica, via de administração)</i>	<b>Quadro B</b>	
Dose/Frequência _____	Duração do tratamento _____	
Diagnóstico/Justificação Clínica _____	_____	
_____	_____	

REGISTO de DISTRIBUIÇÃO N.º ____/____/____ (*) (A preencher pelos Serviços Farmacêuticos)				Quadro C
Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. Origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED
Enviado ____/____/____ Farmacêutico _____ N.º Mec. _____				

(\*) Excepcionalmente o Plasma Fresco Congelado Inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo no serviço de Imunohemoterapia

Recebido \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Serviço requisitante \_\_\_\_\_ N.º Mec. \_\_\_\_\_  
(Assinatura)

**I. Instruções relativas à documentação:**

A requisição, constituída por 2 vias (*VIAFARMÁCIA E VIASERVIÇO*), é enviada aos Serviços Farmacêuticos após preenchimento dos Quadros A e B pelo serviço requisitante. O quadro C é preenchido pelos Serviços Farmacêuticos.

VIASERVIÇO – A preencher pelo serviço requisitante e arquivar no processo clínico do doente.

VIAFARMÁCIA – Permanece em arquivo nos Serviços Farmacêuticos. Excepcionalmente, a distribuição e registo do plasma fresco congelado inativado, bem como o arquivo da *viafarmácia*, poderá ser feito pelos serviços de imunohemoterapia.

**II. Instruções relativas ao produto medicamentoso:**

a) Cada unidade medicamentosa fornecida será etiquetada pelos Serviços Farmacêuticos com as respectivas condições de conservação e identificação do doente e do serviço requisitante.

b) Os produtos não administrados no prazo de 24 horas e atendendo às condições de conservação do rótulo, serão obrigatoriamente devolvidos aos Serviços Farmacêuticos. No quadro D será lavrada a devolução, datada e assinada (n.º mecanográfico).

## Anexo V

Folha de requisição/distribuição/administração de hemoderivados - via serviço. Modelo retirado do Despacho conjunto nº 1051/2000, 14 de setembro.

Número de série \_\_\_\_\_

VIASERVIÇO

### MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS REQUISIÇÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO *(Arquivar no processo clínico do doente)*

HOSPITAL \_\_\_\_\_ SERVIÇO \_\_\_\_\_

Médico <i>(Nome legível)</i>	Identificação do doente <i>(nome, B.I., n.º do processo, n.º de utente do SNS)</i>	<b>Quadro A</b>
N.º Mec. _____ ou Vinheta		
Assinatura _____		
Data ____/____/____		
<b>REQUISIÇÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA</b> <i>(A preencher pelo médico)</i>		
Hemoderivado _____ <i>(Nome, forma farmacêutica, via de administração)</i>	Duração do tratamento _____	<b>Quadro B</b>
Dose/Frequência _____ Diagnóstico/Justificação Clínica _____		

REGISTO de DISTRIBUIÇÃO N.º ____/____/____ (*) <i>(A preencher pelos Serviços Farmacêuticos)</i>				<b>Quadro C</b>
Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. Origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED
Enviado ____/____/____ Farmacêutico _____ N.º Mec. _____				

*(\*) Excepcionalmente o Plasma Fresco Congelado Inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo no serviço de Imunohemoterapia*

Recebido \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Serviço requisitante \_\_\_\_\_ N.º Mec. \_\_\_\_\_  
*(Assinatura)*



## Anexo VI

Resumo das preparações de citotóxicos que observei durante o meu período de estágio na área da farmacotecnia.

Serviço Clínico	Protocolo	Quimioterapia	Pré-medicação
Reumatologia	Metotrexato - artrite reumatoide	Metotrexato	
Hematologia	Azacitidina 75 mg/m <sup>2</sup>	Azacitidina	Ondansetrom
Hematologia	VMP	Bortezomib + Melfalano	Prednisolona
Hematologia	CYBORD	Bortezomib + Ciclofosfamida	Dexametasona
Pneumologia	Pemetrexedo/Carboplatina	Pemetrexedo + Carboplatina	Dexametasona Ondansetrom
Quimioterapia média	Cetuximab Folfiri Na	Cetuximab + Fluorouracilo + Irinotecano	Ondansetrom Clemastina Dexametasona Atropina
Quimioterapia médica	ECF	Epirrubicina + Cisplatina + Fluorouracilo	Dexametasona Ondansetrom (Pós quimioterapia: Cloreto de potássio + Sulfato de magnésio)
Quimioterapia médica	Folfox 4 Na	Fluorouracilo (+ Levofolinato dissódico) + Oxaliplatina	Dexametasona Metoclopramida Ondansetrom
Urologia	Mitomicina-C-Urologia	Mitomicina	
Hematologia	ABVD	Doxorrubicina + Vinblastina + Dacarbazina	Ondansetrom Dexametasona
Pneumologia	Carboplatina/Vinorelbina oral	Carboplatina + Vinorelbina	Dexametasona Ondansetrom
Pneumologia	Pemetrexedo	Pemetrexedo	Dexametasona Ondansetrom

## Anexo VII

Medicamentos manipulados que preparei durante o meu estágio em farmácia hospitalar e resumo da sua preparação

Manipulado/serviço requerente	Preparação*	Verificação/prazo de utilização
Pomada de ácido salicílico a 5%/serviços farmacêuticos do hospital do Fundão	<p>Pesar as matérias-primas;</p> <p>Adicionar o ácido salicílico à vaselina líquida e misturar;</p> <p>Adicionar a vaselina sólida e misturar (mistura foi efetuada recorrendo a um agitador mecânico);</p> <p>Fechar convenientemente o recipiente de plástico e rotular (colocar a informação “uso externo”).</p>	<p>Características organoléticas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Aspeto: homogéneo</li> <li>✓ Quantidade a preparar <math>\pm</math> 5%</li> <li>✓ Cor: branco</li> <li>✓ Odor: inodoro</li> </ul> <p>Prazo de utilização: 90 dias conservado à temperatura ambiente e ao abrigo da luz.</p>
Xarope de hidrato de cloral a 10% (m/V) /neonatologia	<p>Pesar e pulverizar em almofariz de porcelana o hidrato de cloral;</p> <p>Adicionar água para preparação de injetáveis e misturar até dissolução;</p> <p>Colocar cerca de metade do volume a preparar de xarope simples numa proveta graduada;</p> <p>Adicionar a solução de hidrato de cloral agitando;</p> <p>Completar o volume com xarope;</p> <p>Agitar manualmente;</p> <p>Acondicionar em frasco de vidro âmbar e rotular o manipulado preparado.</p>	<p>Características organoléticas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Aspeto: homogéneo</li> <li>✓ Quantidade a preparar <math>\pm</math> 5%</li> <li>✓ Cor: Incolor</li> <li>✓ Odor: inodoro</li> <li>✓ pH: desconhecido</li> </ul> <p>Prazo de utilização: 14 dias armazenado no frigorífico (entre 2-8°C) e ao abrigo da luz.</p>
Solução aquosa de ácido acético a 3%/serviços farmacêuticos do hospital do Fundão	<p>Colocar num balão volumétrico com capacidade adequada metade da água purificada necessária;</p> <p>Medir o volume de ácido acético glacial e adicionar ao balão;</p> <p>Completar o volume com água purificada;</p> <p>Homogeneizar, acondicionar em frasco de vidro âmbar e rotular (colocar a informação “uso externo”).</p>	<p>Características organoléticas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Aspeto: homogéneo</li> <li>✓ Quantidade: conforme</li> <li>✓ Cor: Incolor</li> <li>✓ Odor: característico</li> </ul> <p>Prazo de utilização: 14 dias conservado à temperatura ambiente e ao abrigo da luz.</p>

\*Antes de iniciar qualquer preparação é necessário verificar o estado de limpeza do laboratório e do material a usar