



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

Otimização de uma metodologia analítica para a determinação de pregabalina em plasma com recurso à microextração em seringa

Experiência Profissionalizante na Vertente de Farmácia

Comunitária e Investigação

Victor Barros Almeida

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em

Ciências Farmacêuticas

(Ciclo de estudos Integrado)

Orientador: Prof^a. Doutora María Eugenia Gallardo Alba

Co- orientador: Mestre David Jerónimo Oppolzer

Covilhã, Outubro de 2014

Dedicatória

Aos meus pais Basílio e Olga por todo o apoio dado, por sempre me incentivarem a seguir em frente, ajudando a superar todo e qualquer obstáculo. Por fazerem de mim o Homem que sou hoje, deixando-me traçar o meu próprio caminho e mostrando-me o rumo nas alturas em que me poderia perder.

Ao meu irmão Artur por ser sempre o “irmão mais velho”. Por me proteger e alertar para que não cometesse os mesmos erros.

Aos meus avós António e Amândia, por serem uns “segundos” pais para mim, por estarem sempre presentes quando necessário, nunca deixando que nada me faltasse.

Agradecimentos

Os meus sinceros agradecimentos à Professora Doutora Eugenia Gallardo e ao quase Doutor David Oppolzer, por toda a orientação, paciência, disponibilidade demonstrada por ambos para que o trabalho levasse sempre o melhor rumo. Esclarecendo todas as minhas dúvidas e abrindo-me portas a novos conhecimentos.

À Dr.^a Alcina Leal um enorme obrigado por toda a dedicação, conhecimento e amizade prestada durante o meu estágio. Por acreditar em mim e dar sempre o seu melhor. Por ser o melhor exemplo, que um futuro farmacêutico pode ter, de profissionalismo e dedicação.

Aos meus amigos. André Agostinho, André Cardoso, João Andrade, Paulo Duarte, Diogo Oliveira, Eva Carvalho, Frederico Logarinho, Miguel Ângelo, pelo apoio permanente nos incontáveis períodos de estudo e trabalho. Ao Emanuel Santos, Wilson Teixeira, André Nunes, Joni Mota, Diogo Nunes, Andreia Simões, Marta Gaio por caminharem a meu lado, pelas gargalhadas, desabafos... Por me darem todos os dias um pouco deles.

Ao meu grande amigo Davide Esteves...

“A gratidão é a memória do coração!”

Resumo

Na sociedade atual, o farmacêutico é um profissional de saúde qualificado na área do medicamento. Embora a sua principal função seja contribuir para a melhoria da qualidade de vida dos seus utentes, ao administrar-lhes os medicamentos adequados, também pode, na área da investigação, participar na descoberta de novos medicamentos, quer no controlo dos fármacos já existentes, quer proporcionando novos métodos e abordagens no mundo farmacêutico, como por exemplo no âmbito da clínica e da toxicologia.

O presente relatório encontra-se dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo encontra-se descrito o estágio realizado em farmácia comunitária. São referidas as principais atividades desenvolvidas e funções assumidas na Farmácia Vitória Fundanense, com destaque para as funções realizadas durante o tempo de estágio, desde o circuito do medicamento, dispensa de produtos de saúde, passando pela gestão da farmácia, até ao aconselhamento e seguimento farmacoterapêuticos.

O segundo capítulo deste documento descreve o trabalho de investigação desenvolvido no Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior. O principal objetivo do trabalho de investigação foi o desenvolvimento e otimização de uma metodologia analítica para a determinação de pregabalina em amostras de plasma com recurso à microextração em seringa empacotada e a cromatografia de ultra *performance* acoplada a um detetor de fluorescência. Como padrão interno foi utilizada a norvalina. É de salientar que, é o primeiro estudo onde é utilizada a microextração em seringa empacotada para a deteção de pregabalina.

A elevada quantidade de interferentes biológicos existentes na matriz faz com que a preparação da amostra seja um passo fundamental no processo analítico. Posto isto, procedeu-se à otimização da técnica extrativa utilizando o planeamento fatorial fracionado, uma ferramenta estatística aplicada ao processo de decisão e que avalia de forma multivariada os fatores intervenientes na extração. O uso do desenho experimental (DOE) fracionado demonstrou ser uma ferramenta útil para a otimização do método de extração, ao reduzir o número de experiências, minimizar o tempo de processamento da amostra e diminuir o gasto dos reagentes. As condições finais otimizadas foram o número de aspirações pelo dispositivo (uma aspiração), a quantidade de hidróxido de amónio na solução de eluição (2%) e o número de eluições (18 eluições). No que se refere à lavagem, concluiu-se que esta não era necessária.

Para além da técnica de extração diversos parâmetros relacionados com a metodologia analítica foram igualmente otimizadas O método proposto no presente relatório permite a

deteção de pregabalina em amostras de plasma de forma simples e rápida podendo vir a ser implementado para a determinação deste composto quer em contexto clínico, forense ou industrial para o controlo deste fármaco com vista a melhorar a qualidade de vida da população.

Palavras-chave

Farmácia comunitária; Microextração em seringa empacotada; Pregabalina; UHPLC-FLD.

Abstract

Nowadays, a pharmacist is a qualified health professional in the field of medication. Although its main duty is to contribute to the improvement of the users' quality of life, by providing them with the appropriate medications, he can also, in the area of research, participate in the discovery of new medicines, whether in monitoring existing drugs or providing new methods and approaches in the pharmaceutical world, as for example in the context of clinics and toxicology.

This report is divided in two chapters. In the first one, the training course that took place in a community pharmacy is described. This chapter refers the main activities developed and the duties performed in the Vitória pharmacy. Taking into account, in the first place, the duties performed during the time of the training course, beginning with the circuit of the drug, the dispensing of health products, the management of the pharmacy and ending with the pharmacotherapeutic advising and following-up.

The second chapter of this document describes the research work developed in the Research Center for Health Sciences, of the University of Beira Interior. The main purpose of the research work was the development and optimization of an analytical method for the detection of pregabalin in plasma samples using microextraction in packaged syringe (MEPS) and ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) coupled to a fluorescence detector. Norvaline was used as internal standard. It is very important to refer that, it is the first time that pregabalin is extracted using MEPS.

The large amount of existing biological interferences in the matrix makes the sample preparation a critical step in the analytical process. So, we proceeded with the optimization of the extractive technique, using the fractional factorial planning, a statistical tool applied to the decision process, which evaluates the factors involved in the extraction in a multivariate form. The use of the fractional experimental design (DOE) proved to be a useful tool for the optimization of the method of extraction, by reducing the number of experiences, minimizing the processing time of the sample and minimize the expense of the reagents. The final optimized conditions were the number of strokes by the device (one stroke), the percentage of ammonium hydroxide in the elution solution (2%) and the number of elutions (18 elutions). In terms of the washing step, it was found that it was not necessary.

The chromatographic conditions were also subject to optimization. The proposed method in this report allows for the quick and easy detection of pregabalin in plasma samples, which might be implemented to detect this compound in a clinical, forensic or industrial scenario, for controlling this drug in order to improve the population's quality of life.

Keywords

Community pharmacy; Microextraction in packed syringe; pregabalin; UHPLC-FLD.

Índice

Capítulo I - Farmácia Comunitária	1
1.Introdução	1
2.Organização da Farmácia	1
2.1 Recursos Humanos	1
2.2 Instalações e equipamento	3
2.2.1 Espaço Exterior	3
2.2.2 Espaço interior	3
2.2.3 Equipamentos gerais e específicos	6
2.2.4 Recursos informáticos	6
3.Informação e documentação científica.....	7
4.Aprovisionamento e armazenamento	8
4.1 Critérios de seleção de um fornecedor	8
4.2 Sifarma 2000 na gestão de medicamentos e produtos farmacêuticos	9
4.2.1 Elaboração de uma encomenda.....	9
4.2.2 Receção de encomendas	10
4.2.3 Ficha do produto	11
4.3 Reclamações e devoluções	11
4.4 Marcação de preços.....	12
4.5 Armazenamento	12
4.6 Gestão dos prazos de validade	13

5. Interação utente-farmacêutico-medicamento	13
5.1 Farmacovigilância.....	14
5.2 VALORMED.....	15
6. Dispensa de medicamentos.....	16
6.1 Prescrição médica	16
6.1.1 Validação da receita médica	16
6.1.2 Avaliação farmacoterapêutica da prescrição	17
6.1.3 Processamento da receita	17
6.1.4 Conferência do receituário	18
6.1.5 Regimes de participação.....	18
6.1.6 Medicamentos sujeitos a legislação especial: Psicotrópicos e Estupefacientes.....	19
6.1.7 Medicamentos genéricos	20
6.2 Automedicação.....	21
6.3 Indicação farmacêutica.....	22
6.4 Medicamentos Manipulados	24
7. Aconselhamento e dispensa	29
7.1 Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene	29
7.2 Produtos dietéticos para alimentação especial	30
7.3 Fitoterapia e suplementos nutricionais (nutracêuticos)	31
7.4 Produtos farmacêuticos homeopáticos.....	32
7.5 Medicamentos de uso veterinário	32
7.6 Dispositivos médicos.....	32

8. Outros cuidados de saúde prestados na farmácia	34
8.1 Medição da pressão arterial.....	34
8.2 Medição da glicemia capilar	34
8.3 Medição do colesterol total e triglicéridos	35
9. Contabilidade e Gestão	36
9.1 Gestão e formação dos recursos humanos.....	36
9.2 Receituário e faturação.....	36
9.3 Aspetos fiscais relativos ao IRS, IVA, IRC	37
10. Conclusão.....	39
11. Bibliografia	40
Capítulo II - Otimização de uma metodologia analítica para a determinação de pregabalina em plasma com recurso a microextração em seringa.....	43
1. Introdução	43
1.1 Epilepsia	43
1.1.1 Crises Epiléticas	44
1.1.2 Medidas não farmacológicas para evitar ataques epiléticos.....	47
1.1.3 Tratamento farmacológico na epilepsia.....	48
1.2 Pregabalina.....	50
1.2.1 Dose.....	50
1.2.2 Farmacodinâmica.....	51
1.2.3 Farmacocinética	51
1.2.4 Interações Farmacológicas.....	52

1.2.5 Efeitos Secundários	53
1.2.6 Toxicidade	54
2.Deteção de pregabalina em matrizes biológicas.....	57
2.1 Matriz biológica	57
2.2 Microextração em seringa empacotada	57
2.3 Técnicas de separação e deteção.....	59
2.4 Desenho experimental (DOE)	60
2.4.1. Porquê a utilização do Desenho Experimental?	62
2.4.2 Questões que necessitam do desenho experimental.....	62
2.4.3 Estudos de triagem e robustez.....	62
2.4.4 Escolha da resposta	63
2.4.5 Otimização de respostas	63
2.4.6 Codificação dos níveis de um fator.....	64
2.4.7 Replicação e randomização.....	64
3.Justificação do tema	65
4.Objetivo.....	66
5.Materiais e Métodos.....	67
5.1 Padrões e Reagentes	67
5.2Instrumentação.....	67
5.3 Preparação de soluções.....	68
5.4 Matriz biológica	69
5.5 Sistema cromatográfico e de deteção.....	69

5.6 Condições cromatográficas.....	69
6.Resultados e discussão	71
6.1 Otimização dos parâmetros cromatográficos	71
6.2 Otimização das condições de derivatização.....	73
6.3 Otimização do processo de extração	75
6.4 Desenho experimental	79
6.5 Superfície de resposta	82
7.Perspetivas futuras e conclusões	89
8.Bibliografia	90
Anexo 1	93
Anexo 2	95
Anexo 3	96

Lista de Figuras

Figura 1 - Crise tônico-clônica.....	45
Figura 2 - Crise de ausência	46
Figura 3 - Estrutura química da pregabalina.....	50
Figura 4 - Estrutura química do GABA.....	50
Figura 5 - Seringa MEPS (250µL) e BIN da SGE. Representação esquemática da coluna de extração	58
Figura 6 - Representação da superfície de resposta.....	63
Figura 7 - Cromatograma relativo à pregabalina à concentração de 100 µg/mL (tempo de retenção de 9 minutos).....	72
Figura 8 - Cromatograma relativo à norvalina à concentração de 10 µg/mL (tempo de retenção de 4 minutos).....	73
Figura 9 - Cromatograma relativo à norvalina e pregabalina às concentrações de 10 e 100 µg/mL respectivamente após derivatização a 70 °C.....	74
Figura 10 - Cromatograma relativo à norvalina e pregabalina às concentrações de 10 e 100 µg/mL respectivamente após derivatização a a 75 °C.....	74
Figura 11 - Cromatograma relativo à pregabalina à concentração de 10 µg/mL após derivatização a 75 °C e posterior extração com 5 mL de clorofórmio	75
Figura 12 - Cromatograma relativo à pregabalina à concentração de 10 µg/mL após derivatização a 75 °C e posterior extração com 2,5 mL de clorofórmio	75
Figura 13 - Diagrama de Pareto ilustrando os fatores que influenciam o processo de extração para a pregabalina.....	80
Figura 14 - Gráfico dos efeitos principais para a pregabalina	81
Figura 15 - Gráfico representativo das interações entre os vários parâmetros para a pregabalina	82

Figura 16 - Countour Plot da pregabalina	84
Figura 17 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição, vs. número de eluições.....	84
Figura 18 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição vs- percentagem de ácido fórmico na lavagem.....	84
Figura 19 - Gráfico de Superfície - Número de eluições vs. percentagem de ácido fórmico na lavagem.....	84
Figura 20 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição vs. volume de lavagem	84
Figura 21 - Gráfico de Superfície - Número de eluições vs. volume de lavagem	85
Figura 22 - Gráfico de Superfície - Percentagem de ácido fórmico na lavagem vs. volume de lavagem.....	85
Figura 23 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição vs. número de aspirações.....	85
Figura 24 - Gráfico de Superfície - Número de eluições vs. número de aspirações.....	85
Figura 25 - Gráfico de Superfície - Percentagem de ácido fórmico na lavagem vs. número de aspirações.....	85
Figura 26 - Gráfico de Superfície - Volume de lavagem vs. número de aspirações	85
Figura 27 - Gráfico da solução compromisso ótima para a pregabalina (y, resposta esperada; cur, condição otimizada).....	86
Figura 28 - Cromatograma obtido para a pregabalina a 100 µg/mL e a norvalina a 10 µg/mL usando as condições finais de extração.....	87

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Requisitos de envio obrigatório ao INFARMED	20
Tabela 2 - Valores de referência para a glicemia (mg/dl)	35
Tabela 3 - Fármacos utilizados em diferentes tipos de crises epiléticas	49
Tabela 4 - Características farmacocinéticas da pregabalina administrada por via oral (15)...	52
Tabela 5 - Principais interações farmacocinéticas da pregabalina com fármacos utilizados em terapias concomitantes	53
Tabela 6 - Métodos de extração para determinação de pregabalina em amostras biológicas .	60
Tabela 7 - Protocolos de extração utilizados para otimização da técnica MEPS com as colunas M1 (n=3)	77
Tabela 8 - Protocolos de extração utilizados para otimização da técnica MEPS com colunas C ₁₈ (n=3)	78
Tabela 9 - Matriz experimental e resultados das extrações do DOE.....	80
Tabela 10 - Matriz experimental e resultados das extrações do RSM.....	83
Tabela 11 - Inexatidão ou erro relativo médio da área esperada e obtida para a solução compromisso ótima da extração da pregabalina	86

Lista de Acrónimos

AIM	Autorização de introdução no mercado
ANF	Associação nacional de farmácias
ATC	<i>Anatomical Therapeutic Chemical Classification</i>
ATP	Trifosfato de adenosina
AUC	Área sob a curva
BIN	Barrel insert and needle assembly
BPF	Boas práticas farmacêuticas
C18	Octadecilsilano
C2	Etilsilano
C8	Octilsilano
CEDIME	Centro de divulgação do medicamento
CIM	Centro de informação do medicamento
CTT	Correios de Portugal
DAD	Detetor de fotodiodos
DCI	Denominação comum internacional
DL	Decreto de lei
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
DOE	Desenho experimental
EEG	Eletroencefalografia
ESI	Ionização com eletrospray
FDA	Food and Drug Administration
FLD	Detetor de fluorescência
FSA	Faça segundo a arte
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GC	Cromatografia gasosa
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
INFARMED	Autoridade nacional do medicamento e produtos de saúde
IRC	Imposto de rendimento de pessoas coletivas
IRS	Imposto de rendimento de pessoas singulares
IVA	Imposto de valor acrescentado
LC	Cromatografia líquida
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LEF	Laboratórios de estudos farmacêuticos
LLE	Extração líquido-líquido
LLOQ	Limite inferior de quantificação
LOD	Limite de detecção
M1	Modo misto octilsilano - troca catiónica forte

MEPS	Microextração em seringa empacotada
MNSRM	Medicamentos não sujeitos a receita médica
MS	Espetrometria de massa
MS/MS	Espetrometria de massa em tandem
MSRM	Medicamentos sujeitos a receita médica
NBD-Cl	4-cloro-7-nitro-1,2,3-benzoxadiazol
NMDA	N-metil-D-aspartato
OPA	Orto-ftalaldeído
PGB	Pregabalina
PIC	Preço impresso na cartonagem
PSA	Antigénio prostático específico
PTFE	Politetrafluoroetileno
PVP	Preço de venda ao público
RAM	Reação adversa ao medicamento
RSM	Metodologia da superfície de resposta
SAMS	Sindicato dos bancários sul e ilhas
SCX	Troca catiónica forte
Sifarma	Sistema informático da associação nacional de farmácias
SIL	Sílica
SNS	Serviço nacional de saúde
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Microextração em fase sólida
UPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência
VALORMED	Sociedade gestora de resíduos, de embalagens e medicamentos

Capítulo I - Farmácia Comunitária

1. Introdução

O estágio é o primeiro contacto de qualquer profissão com a realidade e o início de uma etapa contínua de formação, a qual proporciona uma ligação entre os conhecimentos teóricos adquiridos e a sua respetiva aplicação prática. É sem dúvida um desafio aliciante devido a toda a complexidade e responsabilidade que tem subjacente.

O papel do farmacêutico comunitário, no sistema de saúde e na sociedade, é reconhecido à priori por todos aqueles a quem se destina, ou seja, os utentes, já que estes confiam plenamente nestes profissionais de saúde. De facto, na farmácia comunitária, o farmacêutico deixou de ser apenas o profissional do medicamento, para incluir na sua prática o doente. As funções assumidas pelo farmacêutico, enquanto profissional de saúde altamente qualificado, traduzem-se na prevenção, aconselhamento e acompanhamento, desde as interações medicamentosas, contraindicações e reações adversas, à seleção do fármaco mais adequado, monitorizando assim o doente. Todas estas práticas promovem a saúde da população e encaminham para um uso racional dos medicamentos.

O Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior culmina com o estágio final, o qual neste caso, foi realizado entre os dias 3 de fevereiro e 20 de junho de 2014, com uma duração de 800 horas, na Farmácia Vitória, sendo a responsável pelo estágio a Dr.^a Alcina Leal.

Este relatório tem como principal objetivo a caracterização do funcionamento da farmácia comunitária e do papel do farmacêutico, como **especialista do medicamento** e como **agente de saúde pública**.

2. Organização da Farmácia

2.1 Recursos Humanos

É nos recursos humanos que assenta a base do bom funcionamento de qualquer farmácia, sendo de extrema importância que estes se encontrem ajustados à realidade da mesma, quer em número, quer em conhecimentos. Os colaboradores da Farmácia Vitória são profissionais de extrema competência, que colocam toda a sua experiência e profissionalismo em qualquer tarefa diária, para conseguirem assim assegurar o melhor atendimento a todo o tipo de utentes.

Esta equipa é constituída pelos seguintes elementos:

- Diretor técnico (Dr.^a Isabel Maia)
- Farmacêutico adjunto/substituto (Dr.^a Alcina Leal)
- Farmacêutico substituto (Dr.^a Catarina Elias)
- Técnico de Farmácia (Sr. António Gomes)
- Técnico de Farmácia (Sr. Henrique Liberal)
- Técnico de Farmácia (Sr. José Afonso)
- Técnico Auxiliar (Sr.^a Patrícia Martins)
- Responsável Financeiro (Dr. Bartolomeu Cerdeira)
- Responsável pelos serviços de limpeza (Sr.^a Natália Gonçalves)

A direção técnica da farmácia, é assegurada em permanência e exclusividade, pelo diretor técnico, durante o horário de funcionamento desta, como é descrito no Regime Jurídico das Farmácias de Oficina, sendo da sua responsabilidade, manter um correto e adequado funcionamento da farmácia. Também fazem parte das competências específicas do diretor técnico:

- a) Assumir a responsabilidade pelos atos farmacêuticos praticados na farmácia;
- b) Garantir a prestação de esclarecimentos aos utentes sobre o modo de utilização dos medicamentos;
- c) Promover o uso racional do medicamento;
- d) Assegurar que os medicamentos sujeitos a receita médica só são dispensados aos utentes que a não apresentem, em casos de força maior e devidamente justificados;
- e) Garantir que os medicamentos e demais produtos são fornecidos em bom estado de conservação;
- f) Garantir que a farmácia se encontra em condições de adequada higiene e segurança;
- g) Assegurar que a farmácia dispõe de um aprovisionamento suficiente de medicamentos;
- h) Zelar para que o pessoal que trabalha na farmácia mantenha o asseio e a higiene permanentemente;
- i) Verificar o cumprimento das regras deontológicas da atividade farmacêutica;

j) Assegurar o cumprimento dos princípios e deveres previstos neste diploma e na demais legislação reguladora da atividade farmacêutica. ⁽¹⁾

O diretor técnico pode ser coadjuvado por farmacêuticos e por pessoal devidamente habilitado, sob a sua direção e responsabilidade. Na sua ausência, o farmacêutico substituto assume as suas tarefas e compromissos. ⁽¹⁾

2.2 Instalações e equipamento

2.2.1 Espaço Exterior

Relativamente ao exterior da Farmácia Vitória, esta encontra-se identificada por uma “cruz verde” luminosa e perpendicular à fachada da farmácia, a placa que pretende informar o público da existência da farmácia, assim como o símbolo das farmácias portuguesas. No exterior encontra-se a identificação da propriedade e do diretor técnico, a existência de livro de reclamações e as farmácias do município em regime de serviço. A farmácia dispõe de uma montra, que tem como objetivo divulgar vários produtos, sendo renovada consoante as campanhas existentes.

Na porta exterior, existe indicação do horário de funcionamento, sendo este de segunda a sexta-feira, das 8:30 às 20:00 horas e aos sábados das 8:30 às 13:00 horas. Cumpre assim, o período de funcionamento semanal mínimo das farmácias comunitárias exposto no Artigo 2º da Portaria n.º 277/2012, de 12 de setembro, emitido pelo Ministério da Saúde. ⁽²⁾ A farmácia, no que diz respeito ao serviço permanente, funciona em regime de rotatividade com as outras farmácias da cidade do Fundão, pelo que se encontra aberta ininterruptamente de quinta a quinta-feira, durante 24 horas.

A entrada é acessível a todos os utentes, e tem uma rampa para garantir facilmente a acessibilidade a todo o tipo de pessoas, estando assim de acordo com o referido nas Boas Práticas Farmacêuticas (BPF) para Farmácia Comunitária: “Deverá ser garantida a acessibilidade à farmácia de todos os potenciais utentes, incluindo crianças, idosos e cidadãos portadores de deficiência.” ⁽³⁾

2.2.2 Espaço interior

Segundo a deliberação n.º 2473/2007, de 28 de novembro, as farmácias devem ter uma área mínima, da área útil total de 95 m² e possuir, obrigatória e separadamente, as seguintes divisões:

a) Sala de atendimento ao público com, pelo menos, 50 m²;

b) Armazém com, pelo menos, 25 m²;

c) Laboratório com, pelo menos, 8 m²;

d) Instalações sanitárias com, pelo menos, 5 m²;

e) Gabinete de atendimento personalizado, exclusivamente para a prestação dos serviços farmacêuticos.

A Farmácia Vitória não cumpre com estas áreas obrigatórias pois a sua construção remonta a uma data anterior à deliberação que as divulga. No entanto, apresenta todas as instalações necessárias e o seu espaço físico é abrangido por 2 andares e ainda uma zona de armazém, externa à farmácia.

2.2.2.1 Rés do chão

O rés do chão comporta, a área de atendimento, uma casa de banho adaptada para pessoas com deficiência, uma área de armazém (gavetas/prateleiras), uma secretária que serve não só para a conferência de receituário, mas também para a consulta de manuais de apoio à dispensa, assim como, dois gabinetes de atendimento personalizado e ainda uma área de repouso.

A área de atendimento é uma zona bem cuidada, com um sistema de luminosidade enriquecido e ventilação adequada. Neste espaço também se encontra identificado o nome da farmácia e do respetivo diretor técnico. Esta área compreende 6 balcões com a respetiva identificação dos profissionais de saúde e cuja disposição privilegia a privacidade no atendimento. Cada balcão tem ao seu dispor software, impressora, computador, sistema de leitura ótica e terminal multibanco, contribuindo assim para a qualidade do atendimento. Nesta zona, o utente encontra ainda vários lineares correspondentes às diferentes gamas de cosmética e dermocosmética, puericultura, produtos para os pés, higiene corporal e capilar, diversos produtos de emagrecimento e produtos de veterinária. Possui ainda uma balança para determinação do peso corporal e altura, um serviço *self-service* de água, um ecrã, onde passa a informação das farmácias portuguesas, cadeiras onde os utentes podem descansar, assim como um expositor de sapatos ortopédicos.

As salas de atendimento personalizado garantem as condições de privacidade necessárias. Uma das salas é utilizada para a determinação de parâmetros bioquímicos como: glicémia capilar, colesterol, triglicéridos, PSA (Antígeno Prostático Específico), pressão arterial, ácido úrico e testes de gravidez. Aqui são prestadas todas as informações e esclarecimentos que o profissional de saúde entenda necessárias e oportunas. O segundo gabinete é utilizado para a

prestação de cuidados farmacêuticos que necessitem de especial atenção por parte do profissional. É também nesta sala, que o utente pode usufruir de consultas de podologia, sendo estas prestadas por uma especialista.

Na zona interior da farmácia, restrita ao público, encontra-se a área de armazenamento. Os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) estão divididos em módulos de gavetas deslizantes de madeira, organizados por ordem alfabética e dosagem. Os supositórios, injetáveis, pomadas, colírios e granulados, estão separados em gavetas deslizantes de metal, organizados também pela mesma ordem dos anteriores. Do mesmo modo, se encontram dispostas as soluções orais, produtos de higiene feminina e ampolas bebíveis. Devidamente ordenados em prateleiras estão os produtos de uso externo e produtos de higiene capilar. Noutra secção estão os suplementos vitamínicos, produtos usados para as vias respiratórias e produtos homeopáticos. Este tipo de organização serve para auxiliar a prestação de cuidados de saúde, conseguindo assim um atendimento rápido e de grande qualidade. Existe também um frigorífico para a medicação que necessite de uma armazenagem no frio.

2.2.2.2 Primeiro andar

O primeiro andar abrange a área de receção de encomendas, duas áreas de armazenamento, um laboratório, um escritório, instalações sanitárias para os funcionários e uma divisão, onde se encontra o servidor e a central telefónica.

A zona de receção de encomendas é composta por dois computadores equipados com o programa Sifarma 2000 (Sistema Informático da Associação Nacional de Farmácias), nos quais, foram instalados um modem e um leitor ótico como periféricos, para auxiliar toda a gestão de produtos e medicamentos existentes na farmácia.

O laboratório está equipado com todo o material obrigatório exigido nas farmácias. É o espaço onde são preparados todo o tipo de manipulados, seguindo sempre os procedimentos legais das boas práticas de fabrico dos mesmos. Aqui também são feitas pesagens de produtos para conservação do vinho e testes para revelar a acidez do azeite. Esta área é composta por uma bancada branca, um exaustor, uma zona de lavagem de material, armários para conservação de matérias-primas e armazenamento de material. É de salientar que todas estas superfícies são lisas, para uma fácil limpeza e desinfeção. O laboratório está equipado com um aparelho de marca *unguator*, o qual auxilia na elaboração de preparações líquidas e semi-sólidas. Tem também duas balanças (analítica e manual), para além de todo o material necessário à realização das preparações.

Na Farmácia Vitória os psicotrópicos estão guardados num local seguro e isolados dos restantes medicamentos.

De salientar que, logo no primeiro dia de estágio, tomei conhecimento do espaço físico da Farmácia Vitória, com a supervisão da Dr.^a Alcina Leal, ficando assim a conhecer todas as divisões referidas anteriormente.

2.2.3 Equipamentos gerais e específicos

A farmácia deve ter todo o equipamento indispensável ao correto funcionamento da mesma, o qual deve estar em boas condições para garantir o fim pretendido.

Relativamente a equipamentos gerais, a farmácia comporta computadores, sistemas de leitura ótica, caixas registadoras, impressoras, cofre, fax, modem e telefones.

Quanto a equipamentos específicos, pode-se destacar balança digital e manual, *unguator*, balança para determinação da composição corporal, tensiómetro manual, *accutrend plus*, *freestyle precision* e *multisure* (testes bioquímicos e fisiológicos) e termohigrómetros.

Apresentando também documentação específica como é o caso de documentação oficial, farmacopeias e formulários.

2.2.4 Recursos informáticos

A Farmácia Vitória dispõe de dez computadores ligados em rede. Seis destes computadores estão disponíveis para atendimento ao público e acoplados individualmente, a um dispositivo de leitura ótica de códigos de barras e a uma impressora, a qual permite a impressão no verso da receita (no caso dos MSRM participados) e também a fatura comprovativo de pagamento. Dois computadores encontram-se na área de receção das encomendas, para proceder a esta função bem como à execução de notas de devolução, estando acoplados a um dispositivo de leitura ótica de códigos de barras, a uma impressora laser e a outra de códigos de barras; existe um outro computador no rés-do-chão, também acoplado a um dispositivo de leitura ótica para conferência de receituário e pesquisas e um outro, no escritório.

Todos os computadores estão ligados à Internet, permitindo à farmácia estar em permanente atualização, em relação ao sector da saúde e a tudo o que pode chegar aos utentes, pessoas cada vez mais informadas. Deste modo, a farmácia recebe frequentemente alertas de segurança, nomeadamente do INFARMED, para poder esclarecer convenientemente os utentes.

O *software* adotado é o Sifarma 2000, da ANF, o qual está permanentemente atualizado via *modem*. Este sistema informático aumenta a qualidade do atendimento, permitindo ainda a consulta de informação sobre os medicamentos, no que se refere a contraindicações,

dosagem, intervalo terapêutico, efeitos secundários e interações farmacológicas (leves, moderadas e graves). A reter que, caso se verifique esta última situação (interação grave), o programa alerta e disponibiliza a respetiva justificação científica, sendo necessário confirmar junto do médico prescritor, a medicação em causa, para que o atendimento possa ser continuado. É exequível com este programa, aceder às vendas de cada operador, fazer a gestão e regularização de devoluções de produtos e medicamentos e impressão de lotes e consulta da classificação ATC (*Anatomical Therapeutic Chemical Classification*).

O Sifarma 2000 proporciona também, informação sobre o número de unidades existentes em *stock* e os medicamentos que fazem parte do grupo homogéneo. Permite a elaboração, transferência e receção de encomendas, assim como o controlo da movimentação dos medicamentos e produtos existentes na farmácia, atribuição de níveis de *stock*, controlo dos prazos de validade, leitura dos códigos de barras dos produtos e informação científica do produto. Quando a farmácia não tem um determinado medicamento em *stock*, caso esteja definido na ficha do produto que existe um *stock* mínimo, permite a sua encomenda automaticamente, garantindo assim um melhor atendimento ao doente.

Este é um programa que domino, depois de concluído o estágio na Farmácia Vitória, graças à total disponibilidade dos seus profissionais, que sempre estiveram prontos a ajudar-me e a esclarecer qualquer tipo de dúvida.

3. Informação e documentação científica

O conhecimento científico cresce a um nível exponencial o que obriga o farmacêutico a um “estudo” constante, de forma a ser um profissional atualizado e competente, no exercício das suas funções. Daí, a existência de uma biblioteca básica, dentro da própria farmácia, ser de extrema importância, para garantir o esclarecimento de qualquer dúvida, que surja durante a prática farmacêutica, seja ela suscitada pelo utente, pelo próprio farmacêutico ou pelo médico. A biblioteca da Farmácia Vitória Fundanense é composta por livros, publicações e revistas, que vão sendo atualizadas de forma contínua, através de folhetos e boletins provenientes dos laboratórios, bem como da aquisição das mais recentes publicações, estando tudo disposto e organizado, por ordem cronológica. Por questões de espaço, os documentos mais antigos estão arquivados no armazém.

No processo de cedência de medicamentos, o farmacêutico deve obrigatoriamente dispor de acesso físico ou eletrónico, a informação que contenha indicações, contraindicações, interações, posologia e precauções a ter em conta, com a utilização dos medicamentos.⁽⁴⁾

As fontes consideradas de acesso obrigatório, no momento da cedência de medicamentos são o Prontuário Terapêutico (PT) e o resumo das Características dos Medicamentos (RCM).⁽³⁾

Fontes complementares recomendadas para consulta em farmacoterapia são o *Martindale*, *The Extra Pharmacopeia*; a *British National Formulary* e a *Epocrates online*.

Quando surgem dúvidas relacionadas com os medicamentos e produtos de saúde, podem ser consultados recursos externos à farmácia como é o caso do CEDIME (Centro de Divulgação do Medicamento), CIM (Centro de Informação do Medicamento da OF) e LEF (Laboratórios de Estudos Farmacêuticos) que são centros especializados no tratamento de informação pública.

A minha experiência em farmácia comunitária permitiu-me ter contacto com estes centros de informação. Destaco, por exemplo, o meu contacto com o CIM, onde coloquei a seguinte questão: “Já que a amiodarona e a digoxina apresentam interação farmacológica grave, podendo aumentar o intervalo QT, causando arritmias graves, qual é a razão para que os médicos as continuem a prescrever concomitantemente? E quais as possíveis alternativas?”. Após ter colocado esta questão, obtive resposta via *email*, no dia seguinte. Esta consistiu na apresentação de um artigo científico sobre a insuficiência cardíaca, mas sem fazer qualquer referência a este tipo de interação. Devido à resposta incompleta, fiquei um pouco desapontado com o CIM, pois não fui devidamente esclarecido.

4. Aprovisionamento e armazenamento

4.1 Critérios de seleção de um fornecedor

As farmácias podem adquirir produtos junto de diferentes entidades, designadamente Armazéns de Distribuição Grossista de medicamentos e produtos sanitários, ou diretamente ao Laboratório responsável pelo fabrico ou importação dos mesmos.

Uma tarefa crucial na gestão de *stocks* é a escolha dos fornecedores, visto que, não é necessária a existência de grandes quantidades de produtos em armazém, em virtude de os armazenistas garantirem uma rápida resposta às encomendas diárias, evitando assim rutura de fornecimento e descontentamento por parte dos utentes. Esta escolha também tem que ser feita tendo em conta descontos ou condições especiais, já que, nos dias de hoje, uma farmácia que não consiga uma boa gestão com as margens de lucro aplicadas, não consegue “sobreviver”.

A farmácia Vitória trabalha diariamente com 3 armazenistas, nomeadamente: a Udifar, a Plural-Cooperativa Farmacêutica e a Alliance Healthcare, mas por vezes recorre diretamente aos laboratórios e ainda outros fornecedores, para casos mais específicos. A escolha dos seus fornecedores baseia-se na proximidade, na qualidade dos serviços prestados (várias entregas diárias, menor número de erros, facilidade no contacto para resolução de problemas) e na oferta de melhores condições de negociação (datas limite de pagamento mais propícias,

eventuais descontos ou bônus para grupos de farmácias, dado que a farmácia está inserida num grupo de compras).

4.2 Sifarma 2000 na gestão de medicamentos e produtos farmacêuticos

4.2.1 Elaboração de uma encomenda

As encomendas aos fornecedores podem ser feitas de diversas formas. As **encomendas diárias**, são elaboradas com recurso ao Sifarma 2000, que gera uma proposta de encomenda, de acordo com os níveis de *stock* definidos na ficha do produto. Esta proposta é analisada e validada pelo Sr. Henrique Liberal, de acordo com as necessidades da farmácia, antes de ser enviada para o fornecedor. A Farmácia Vitória é fornecida por três armazenistas, para os quais são feitas diariamente duas destas encomendas para cada um. Estas são feitas em momentos diferentes para que as faltas de um fornecedor, juntamente com as faltas geradas pelo sistema transitem de fornecedor para fornecedor.

Existe também a modalidade de **encomenda instantânea**, via online (através da ficha do produto ou site disponibilizado pelo fornecedor, como é o caso do medicamento innohep®).

Também podem ser feitas pelo **telefone** ou **diretamente aos delegados** dos laboratórios que visitam a Farmácia.

A rutura de *stock* de um determinado produto deve-se ao facto do fornecedor não o ter ou se encontrar esgotado a nível nacional, situação que se tem verificado cada vez mais. Nesses casos, a Farmácia Vitória tenta sempre verificar, se as farmácias mais próximas têm o produto, para poder dispensá-lo ao utente, não o deixando sem medicação.

Neste âmbito, aproveito para reportar um caso de rutura de *stock* que houve na Farmácia, enquanto estava a estagiar, e que se prendeu com as canetas de adrenalina, as quais esgotaram e tiveram de vir de França, para atenuar a situação.

Durante o meu estágio fiz encomendas, quer por telefone, para poder dar uma correta informação ao utente, sobre a data e hora de entrega, como também encomendas instantâneas; desloquei-me algumas vezes às farmácias mais próximas, para adquirir produtos esgotados e urgentes para o doente, também tive a oportunidade de visualizar, em algumas ocasiões, como é que o Sr. Henrique Liberal fazia as encomendas diárias e participei nas compras diretas feitas aos delegados dos laboratórios.

4.2.2 Receção de encomendas

A Receção das encomendas, é a primeira etapa com a qual qualquer estagiário contacta logo que chega à farmácia, permitindo-nos a familiarização com os nomes comerciais, (que durante o percurso académico não são muito abordados). As formas farmacêuticas, dosagens e tamanhos existentes no mercado. Uma correta receção de encomendas é fundamental para assegurar uma boa gestão dos *stocks* de qualquer farmácia. Inicialmente é necessário confirmar se a encomenda é acompanhada pela respetiva fatura ou guia de remessa em duplicado e, se o número dos contentores que é entregue na farmácia corresponde ao que está indicado na guia.

Para dar entrada da encomenda utilizando o Sifarma 2000 é necessário escolher o módulo “receção de encomendas” e posteriormente fazer o cruzamento do registo informático com o número da fatura da encomenda que se pretende rececionar, introduzindo o número de identificação do documento e o respetivo valor monetário da encomenda. Depois, inicia-se a leitura ótica dos produtos, dando prioridade aos medicamentos e produtos termolábeis, que necessitam de voltar o mais rapidamente para o “frio”.

Durante a receção é necessário avaliar o produto qualitativamente (estado de conservação, prazo de validade) e quantitativamente (número de embalagens, preço faturado e preço de venda ao público), conferindo com a guia/fatura. Quando o preço de venda ao público (PVP) não corresponde ao último introduzido no sistema, é fundamental atualizá-lo, mas caso existam ainda outros exemplares com o preço antigo em *stock*, esta atualização não se pode realizar. Na Farmácia Vitória, quando esta situação ocorria, a embalagem era envolvida com um papel que alertava para o preço atual do medicamento.

Após a receção, faz-se uma verificação, de modo a que, o valor obtido pelo sistema corresponda ao valor existente na guia/fatura, assim como o número de unidades, para que a receção da encomenda fique concluída. Para finalizar, os produtos em falta são transferidos para outro fornecedor e são impressos, se necessário, os códigos de barras dos produtos cujo preço é marcado na farmácia. De seguida, é de extrema importância aprovar a encomenda, para que os produtos em falta “caiam” na encomenda diária, não alterando assim o bom funcionamento da farmácia. Por último, as guias/faturas são assinadas pelo colaborador que realizou a receção das encomendas e posteriormente arquivadas.

Caso a encomenda contenha psicotrópicos e/ou benzodiazepinas, o próprio sistema gera um número que fica automaticamente gravado, assim caso seja necessário é mais fácil saber quando é que chegaram à farmácia e através de que fornecedor.

Na eventualidade da encomenda ter sido feita via telefone ou diretamente ao fornecedor é necessário criar manualmente uma proposta de encomenda e neste caso, recorreremos ao menu *Gestão de Encomendas - Manual* onde inserimos o fornecedor, o código do produto e as respetivas quantidades. A proposta é enviada para o sistema por *modem* escolhendo o item *em papel*, podendo assim ser rececionada como se fosse uma encomenda diária.

Tal como referi no início deste tópico, esta foi a primeira fase do meu estágio. No qual estive em contacto com a receção durante duas semanas. Durante esse tempo, pude familiarizar-me com os medicamentos e com o sistema informático, graças à colaboração incansável da Sr.^a Patrícia Martins, que fez questão de me explicar tudo ao pormenor, para que não surgissem dúvidas, no futuro.

4.2.3 Ficha do produto

Sempre que se dá entrada de um novo produto, é obrigatório criar uma ficha do mesmo, onde pode ser necessário introduzir algumas informações, como por exemplo o PVP ou colocar um visto no ítem *introdução de etiqueta na entrada*. A ficha do produto permite-nos um acesso fácil e simples, a diversas informações relevantes, como é o caso da informação dos lotes/*stocks*, nome e código do produto, forma farmacêutica, PVP, preço de custo, prazo de validade, stock atual e histórico de compras e vendas.

4.3 Reclamações e devoluções

Há várias não conformidades nos produtos que levam a que façamos reclamações e devoluções dos mesmos aos fornecedores.

As Devoluções são sempre efetuadas mediante uma Nota de Devolução, embora os motivos possam ser variadíssimos. Como:

- O preço do produto não está de acordo com o debitado;
- Não corresponde ao produto solicitado;
- Tem um preço que não está disponível no mercado;
- O produto está danificado;
- O produto tem uma validade expirada ou a expirar;
- Foi pedido por engano;
- Foi mandado recolher pela Infarmed.

Quando se verifica uma situação destas, é gerada uma nota de devolução onde é incluído o fornecedor, o número da guia, a validade, o motivo da devolução e respetiva observação. É emitida de seguida, a nota de devolução em triplicado. Uma das cópias fica arquivada na farmácia e as outras duas, são devidamente carimbadas e rubricadas, e anexadas à cópia da fatura com a qual o produto deu entrada na farmácia.

De acordo com este último ponto, existem algumas particularidades a ter em conta, como sejam: estupefacientes (devolvidos em separado de outros produtos) e produtos que requerem controlo de temperatura (devolvidos separadamente e devidamente acondicionados, de forma a garantir a manutenção da cadeia de frio).

4.4 Marcação de preços

Segundo o estatuto do medicamento, constante no DL n.º 176/2006 de 30 de agosto, e no Artigo 103º, “O regime de preços dos medicamentos sujeitos a receita médica e dos medicamentos não sujeitos a receita médica comparticipados é fixado por decreto-lei”⁽⁵⁾, pelo que estes possuem um Preço Impresso na Cartonagem (PIC). No entanto, os produtos que não possuem PIC e que estão sujeitos a Imposto de Valor Acrescentado (IVA) de 6% ou 23% devem ser marcados na farmácia de acordo com a margem de lucro estabelecida pela mesma, consoante o IVA e o tipo de produto.⁽⁶⁾

4.5 Armazenamento

Após a receção dos medicamentos é necessário garantir a sua eficaz conservação e armazenamento. Entre os vários aspetos a ter em conta, é de realçar as características físico-químicas do produto, para que possam ser cumpridos os seus critérios de estabilidade, de acordo com as condições de luz, humidade e temperatura. Para garantir a segurança dos produtos em termos de condições de armazenamento, procede-se ao controlo da temperatura e humidade através de três termohigrómetros. O intervalo dos valores da temperatura e da humidade situam-se entre os 15-25°C e os 30-60%, respetivamente, no que concerne às zonas de armazenamento. Relativamente ao frigorífico, a temperatura tem de oscilar entre os 2-8°C.

O armazenamento foi também uma das minhas primeiras tarefas na Farmácia Vitória, visto que, para poder realizar atendimento ao balcão primeiro teria de saber onde se encontravam arrumados os medicamentos e produtos de saúde, conseguindo assim ser o mais eficaz possível, no atendimento. Neste âmbito, agradeço especialmente ao Sr. Henrique Liberal que me deu todo o apoio necessário.

4.6 Gestão dos prazos de validade

A correta gestão dos prazos de validade é uma tarefa fundamental para uma organização adequada dos produtos da farmácia (os que têm menor validade estão à frente), garantindo assim que são os primeiros a sair, a segurança dos utentes e evitando perdas monetárias para a farmácia.

Mensalmente é emitida uma listagem, onde são verificados todos os medicamentos que vão expirar nos próximos 2 meses e os produtos de cosmética e dermocosmética que vão expirar nos 3 meses seguintes. Daqui resulta a sua exclusão de venda, sendo que os produtos de cosmética e dermocosmética, são enviados ao fornecedor com a respetiva nota de devolução e os medicamentos são enviados para o armazém que os forneceu.

Os prazos de validade são conferidos no momento da receção das encomendas, como também no ato da dispensa. Neste último caso, é gerado um alerta por parte do sistema informático, que assinala o facto de poder haver um produto a atingir o seu prazo de validade.

5. Interação utente-farmacêutico-medicamento

A farmácia é muitas vezes, o último local onde os cuidados de saúde são prestados ao utente. Sendo por isso de extrema importância que o farmacêutico preste a melhor indicação terapêutica possível e incentive o uso correto e racional da medicação, fazendo determinadas perguntas ao utente, para perceber se este está familiarizado com o medicamento e escrevendo-lhe nas embalagens, as indicações necessárias, para que a informação não seja apenas oral.

O farmacêutico deve ter sempre em conta não só o conhecimento técnico e científico mas também a moral necessária para uma boa prática farmacêutica. De acordo com o Artigo 10º, do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, “ a primeira e principal responsabilidade do farmacêutico é para com a saúde e o bem-estar do doente e do cidadão em geral, devendo pôr o bem dos indivíduos à frente dos seus interesses pessoais ou comerciais e promover o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança”.⁽⁷⁾

A forma como se direcciona o atendimento ao utente, vai influenciar a sua adesão à terapêutica. Tendo em conta as boas práticas de farmácia, é da responsabilidade do farmacêutico a dispensa de medicamentos e outros produtos e cuidados de saúde, o fornecimento de informação adequada, o aconselhamento do utente, a monitorização do resultado terapêutico e o sigilo profissional.⁽³⁾

É fundamental que durante o atendimento, o farmacêutico tenha atenção às características de cada utente, utilizando uma linguagem clara, de forma a garantir que, toda a informação é percebida corretamente e reforçado com informação escrita. Deve durante o ato da dispensa, assegurar que o utente está totalmente esclarecido, registando as informações pertinentes na embalagem, sendo que o aconselhamento farmacêutico é especialmente importante em grupos de risco. De acordo com o Artigo 36º, do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, “nas relações com os utentes, o farmacêutico deve observar a mais rigorosa correção, cumprindo escrupulosamente o seu dever profissional e tendo sempre presente que se encontra ao serviço da saúde pública e dos doentes”.⁽⁷⁾

5.1 Farmacovigilância

Segundo as boas práticas da farmácia, a farmacovigilância é a “atividade de saúde pública que tem por objetivo a identificação, quantificação, avaliação e prevenção de riscos associados ao uso dos medicamentos em comercialização, permitindo o seguimento dos possíveis efeitos adversos dos medicamentos”⁽³⁾

Os organismos que fazem parte deste sistema são: o serviço responsável pelo sistema de farmacovigilância do INFARMED; unidades de farmacovigilância, profissionais de saúde e os titulares de AIM (Autorização de Introdução no Mercado). Ao sistema compete, nomeadamente: recolher, avaliar e divulgar toda a informação útil sobre as suspeitas de reações adversas dos medicamentos; identificar, o mais precocemente possível, as reações adversas que ocorram em consequência da utilização dos medicamentos; examinar e analisar, mediante o processamento da informação e dos dados recolhidos, a possível existência de uma relação de causalidade entre a utilização de medicamentos e a ocorrência de reações adversas; estabelecer os métodos mais adequados de obtenção de dados sobre as reações adversas; avaliar sistematicamente o perfil de segurança dos medicamentos comercializados; participar na elaboração de normas técnico-científicas de utilização de medicamentos e desencadear ações para reduzir os seus riscos; corrigir e analisar dados sobre o consumo de medicamentos, tendo em vista a identificação de situações de utilização inadequada ou abusiva, com possível impacto na avaliação dos respetivos riscos e benefícios. O sistema tem ainda como função recolher, avaliar e divulgar a informação sobre as suspeitas de reações adversas que lhe são dadas a conhecer, nos termos previstos no regime jurídico dos ensaios clínicos realizados com medicamentos em seres humanos, bem como as relativas aos medicamentos objeto de autorização de utilização especial ou excecional.

Os objetivos específicos da Farmacovigilância são: melhorar os cuidados para o doente e a segurança em relação ao uso de medicamentos e todas as intervenções médicas e paramédicas; melhorar a saúde pública; contribuir para a avaliação dos benefícios, danos, efetividade e risco dos medicamentos e incentivar o seu uso seguro, racional e mais eficaz

(incluindo custo-eficácia) e promover a compreensão, educação e treino clínico na farmacovigilância e a comunicação efetiva para o público. ⁽⁸⁾

O farmacêutico tem o dever de notificar todas as suspeitas de reações adversas ao medicamento (RAMs). A notificação é simples, sendo realizada através do preenchimento de um boletim de notificação, que depois é enviado ao Departamento de farmacovigilância do INFARMED, onde os dados são processados. ⁽⁸⁾

No decorrer do estágio, uma utente notificou o aparecimento de uma pilha dentro do blister de comprimidos efervescentes de Fluimucil[®] e um outro utente reportou um “sabor a plástico” do xarope Laevolac[®] 500mL. Notifiquei estas duas situações ao Núcleo de Farmacovigilância por email, estando estes representados no Anexo 1.

5.2 VALORMED

A VALORMED, Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos, LDA, criada em 1999, é uma sociedade sem fins lucrativos que tem a responsabilidade de gerir os resíduos de embalagens vazias, medicamentos fora de uso e fora de validade. A VALORMED procura informar a população em geral sobre o percurso que é dado aos resíduos farmacêuticos, desde o momento da sua entrega na farmácia até ao destino final, inceneração com aproveitamento energético. Para além da inceneração também reutiliza alguns materiais, nomeadamente frascos que conseguem ser descontaminados.

Neste âmbito, o farmacêutico tem de ser proactivo, ao incentivar os seus utentes para trazerem à farmácia, medicamentos fora de prazo e/ou fora de uso, assim como embalagens e *blisters* vazios. Este material é recolhido em caixas específicas para o efeito e, quando estas estão cheias, são fechadas e pesadas. Para finalizar este processo, é preenchido o boletim que acompanha a caixa com o peso, o nome da farmácia e o seu código ANF. Estas caixas são depois recolhidas pelos armazenistas, ficando arquivada na farmácia, uma cópia da ficha do contentor, devidamente rubricada pelo operador e pelo transportador. É de salientar que, a Farmácia Vitória Fundanense foi distinguida com um prémio, por ter sido a farmácia da zona que mais contribuiu para esta ação de sensibilização e recolha de medicamentos.

Durante o meu estágio curricular, foi-me proposto pela Dr.^a Alcina Leal ser orador numa palestra sobre a importância do VALORMED, juntamente com outros colaboradores da farmácia. Essa palestra foi destinada a quatro turmas de alunos do 1º e 2º anos da Escola Primária Santa Teresinha, no Fundão. Foi uma experiência bastante enriquecedora, tanto para mim, como para aquelas crianças, pois ficaram a saber que a reciclagem também se aplica aos medicamentos, algo que eles desconheciam. Como incentivo, propusemos-lhes a realização de desenhos, alusivos ao tema, os quais foram colocados posteriormente, na

montra da farmácia. Esta informação pode ser comprovada com o diploma apresentado no Anexo 2.

6. Dispensa de medicamentos

A dispensa de medicamentos é o principal serviço prestado pelo farmacêutico na farmácia comunitária. Este serviço é um ato de grande responsabilidade, até porque normalmente o farmacêutico é o último profissional de saúde a contactar com o utente.

No ato de dispensa, que pode ser através de receita médica ou por aconselhamento ou por automedicação, o farmacêutico deve assegurar a máxima qualidade dos serviços que presta, direcionando o utente para um uso racional, seguro e correto, tendo sempre em atenção a relação benefício/risco. Mais ainda, outro papel fundamental do farmacêutico é promover a *compliance*, para que o medicamento seja eficaz na sua utilização.

6.1 Prescrição médica

Aquando da dispensa de medicamentos com receita médica, o farmacêutico, tal como me foi ensinado na Farmácia Vitória, deve ter em atenção se a receita está conforme. A prescrição informatizada aumenta a qualidade da mesma, facilitando a comunicação entre o médico e o farmacêutico, algo que constatei durante o meu estágio, visto que, não era capaz de interpretar a maioria das receitas manuais. Este tipo de prescrição aumenta também a segurança do circuito do medicamento e diminui o risco de erro na prescrição.

A prescrição de um medicamento inclui obrigatoriamente a respetiva denominação comum internacional do princípio ativo, a forma farmacêutica, a dosagem, a dimensão da embalagem e a posologia. Em cada receita médica só podem ser prescritas até quatro embalagens, sendo que o limite de embalagens não pode ultrapassar as duas, por medicamento, exceto nas embalagens individuais onde é permitida a dispensa de quatro embalagens. Os medicamentos classificados como psicotrópicos, estupefacientes e os manipulados têm que ser prescritos em separado, pois não podem constar na receita onde estejam presentes outros medicamentos.

6.1.1 Validação da receita médica

Quando o utente se apresenta na farmácia com uma receita médica, o farmacêutico deve ser exigente na interpretação e avaliação da mesma. As receitas, tal como está indicado na Portaria n.º 137-A/2012 de 11 de maio, do Ministério da Saúde devem respeitar os seguintes requisitos: número da receita; local de prescrição; identificação do médico prescriptor; nome e número do cartão de utente ou de beneficiário de um subsistema de saúde (no caso das receitas informatizadas este número pode não aparecer mas desde que tenha o nome, o

sistema informático já assumiu o número); entidade financeira responsável; referência ao regime especial de comparticipação de medicamentos, se aplicável; denominação comum internacional da substância ativa; dosagem, forma farmacêutica, dimensão da embalagem, número de embalagens; designação comercial do medicamento, se aplicável; identificação do despacho que estabelece o regime especial de comparticipação de medicamentos, se aplicável; data de prescrição e assinatura do prescriptor. ⁽⁹⁾

As receitas informatizadas têm prazo de 30 dias, a contar da data da sua emissão. No caso das receitas renováveis podem ter até três vias, e neste caso o prazo de validade de cada via é de seis meses, a partir da data de prescrição, sendo visível em cada receita a indicação de 1.^a via, 2.^a via e 3.^a via.

6.1.2 Avaliação farmacoterapêutica da prescrição

Após a avaliação inicial o farmacêutico deverá sempre interpretar e fazer a avaliação farmacoterapêutica da prescrição com base na:

- Necessidade do medicamento;
- Adequação ao doente - contraindicações, interações, alergias, intolerâncias;
- Adequação da posologia - dose, frequência e duração do tratamento;
- Condições do doente/sistema para administrar o medicamento (aspetos legais, sociais e económicos).

6.1.3 Processamento da receita

O processamento da receita é feito pelo SIFARMA 2000 selecionando o menu *Atendimento e posteriormente Com comparticipação*. Depois do farmacêutico ter feito a validação da receita e a avaliação farmacoterapêutica da prescrição, procede à recolha dos medicamentos onde estes estão armazenados e de imediato, deve conferir a dosagem, o número de embalagens, o prazo de validade e o código da embalagem, para que este seja coincidente com o da receita, o que nem sempre é possível devido à existência de genéricos. Posterior à recolha, o utente deve ser informado em relação à posologia, duração do tratamento, cuidados a ter com o armazenamento da substância, caso existam, precauções com a administração e possíveis interações, caso seja a primeira vez que o utente vá tomar a medicação em questão, ou apresente dúvidas em relação à medicação que toma.

O processamento da receita é feito através da leitura ótica dos códigos de barras, onde se procede à verificação dos preços e se existe alguma indicação em relação a possíveis interações medicamentosas. É aplicado o regime de comparticipação indicado na receita, selecionando o ítem *Planos* assim como portarias/despachos que possam existir na receita.

Posteriormente procede-se à impressão do documento de faturação no verso da receita. Caso haja complementaridade entre os subsistemas, é necessário uma fotocópia da receita original, de forma a imprimir ambos os organismos, para que numa fase seguinte sejam enviados para a conferência, o utente rubrica a receita, a qual é posteriormente rubricada pelo farmacêutico juntamente com a data e carimbo da farmácia. Finalizando o atendimento é impressa uma fatura com o nome do utente que lhe é entregue mediante o pagamento.

Em relação aos produtos e medicamentos prescritos pelo médico, mas sem participação o processo é similar, sem que haja impressão no verso da receita.

O sistema informático permite ainda realizar vendas a crédito, uma política existente na Farmácia Vitória, com vista a que os seus utentes não deixem de ter acesso à medicação que lhes é prescrita. Nestes casos é criada uma ficha cliente para posterior regularização.

Quando no aviamento da receita a farmácia não tem em stock todos os medicamentos prescritos é feita uma venda suspensa, que é regularizada aquando da chegada dos mesmos.

6.1.4 Conferência do receituário

Após o atendimento é realizada a conferência do receituário, onde deve ser confirmada a validade, se o número de utente/beneficiário está presente, se foi autenticada pelo utente, médico e farmacêutico, se os códigos dos produtos apresentados na receita coincidem com os que foram dispensados ao utente, o número de embalagens, marca e se o organismo foi processado corretamente.

Em relação às receitas manuais, estas só são válidas se preencherem os seguintes requisitos: vinheta identificativa do local de prescrição, se aplicável; vinheta identificativa do médico prescriptor; identificação da especialidade médica, se aplicável, e contacto telefónico do prescriptor; nome e número de utente e, sempre que aplicável, de beneficiário de subsistema; entidade financeira responsável; denominação comum internacional da substância ativa; dosagem, forma farmacêutica, dimensão da embalagem, número de embalagens; designação comercial do medicamento, se aplicável; identificação do despacho que estabelece o regime especial de participação de medicamentos, se aplicável; data de prescrição e assinatura do prescriptor.⁽⁹⁾

6.1.5 Regimes de participação

Os regimes de participação de medicamentos aplicáveis no nosso país são vários, estando os medicamentos dos utentes, que frequentam a farmácia, sujeitos a diferentes participações. O Sifarma 2000 possui a lista de regimes existentes em Portugal, onde cada

entidade tem um código informático diferente, introduzido pelo farmacêutico durante o processamento da receita. Perante uma receita, conseguimos concluir qual o regime a aplicar consoante a informação inscrita na receita ou através do cartão de utente ou cartão de beneficiário apresentado pelo utente. O sistema nacional de saúde (SNS) é a entidade de participação mais comum e apresenta diferentes regimes de participação. Os subsistemas que mais surgiam na Farmácia Vitória eram do Sindicato dos bancários sul e ilhas (SAMS) e CTT, sendo neste casos necessário proceder à fotocópia da receita, com o cartão respeitante ao subsistema, no verso da mesma.

6.1.6 Medicamentos sujeitos a legislação especial: Psicotrópicos e Estupefacientes

Medicamentos psicotrópicos e estupefacientes são uma classe de medicamentos que se encontram associados ao sistema nervoso central, podendo provocar alterações no comportamento, na consciência, na perceção da realidade e no humor. Como tal, recebem especial atenção por parte das autoridades competentes.

Apesar das suas propriedades benéficas, a ética relativa ao uso destes medicamentos é bastante controversa, devido ao facto de poderem induzir dependência física e psíquica.

Em cada receita podem ser prescritos até 4 medicamentos distintos, não podendo o número total de embalagens prescritas, em caso algum, ultrapassar o limite de duas por medicamento, nem o total de 4 embalagens, tal como a prescrição efetuada para qualquer outra receita.

Na Farmácia Vitória, no decorrer da minha formação/aprendizagem, tive oportunidade de realizar a venda de vários medicamentos que estão incluídos nesta classe, como por exemplo Ritalina LA[®] 40mg (metilfenidato), Concerta[®] 18mg (metilfenidato), Abstral[®] 100 µg, comprimido sublingual (fentanilo), entre outros. Constatei que são medicamentos com uma legislação especial, onde no ato de dispensa o farmacêutico tem que recolher dados exigidos automaticamente pelo sistema informático como, o nome e morada do doente, nome do médico prescriptor, número da receita médica, nome, morada, idade, número e data de validade do bilhete de identidade/cartão de cidadão do adquirente. No final do ato de dispensa é emitido um talão com os dados solicitados (documento de psicotrópicos) e é feita uma fotocópia da receita original à qual se anexa o referido talão, para ser guardada na farmácia durante três anos. A receita original é utilizada para efeitos de participação.

No final de cada mês, os fornecedores enviam à farmácia um resumo dos medicamentos que foram encomendados durante esse mês e esse documento é comparado com a lista de

entradas de psicotrópicos e estupefacientes, que é gerada automaticamente pelo Sifarma 2000.

Aquando desta verificação, também se imprime a **lista de saídas** da farmácia, deste tipo de medicamentos e junta-se às cópias das receitas, com os respetivos documentos de psicotrópicos anexados. Em março e abril tive oportunidade de ser eu a analisar estes documentos, com a ajuda da Dr.^a Alcina Leal, para ver se não haviam inconformidades e como se procederia à verificação.

Como este tipo de medicamentos está sujeito a um maior controlo, a farmácia é obrigada a enviar documentação ao INFARMED, I.P. relativa ao circuito destes medicamentos, tal como se vê na tabela 1. ⁽¹⁰⁾

Tabela 1 - Requisitos de envio obrigatório ao INFARMED

Estupefacientes e Psicotrópicos	Registo de entradas	Registo de saídas	Mapa de balanço	Copia de receitas
Tabelas I,II,II-B,II-C	Trimestral Até 15 dias após o termo de cada trimestre	Mensal Até ao dia 8 do 2º mês seguinte	Anual Até dia 31 de janeiro do ano seguinte	Mensal Só receita manual Até ao dia 8 do mês seguinte
Tabelas III e IV (incluem as benzodiazepinas)	Anual Até dia 31 de janeiro do ano seguinte	Não se aplica	Anual Até dia 31 de janeiro do ano seguinte	Não se aplica

É necessário manter o arquivo de todos estes documentos durante 3 anos.

6.1.7 Medicamentos genéricos

Segundo o Estatuto do Medicamento, medicamento genérico define-se como: “medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade apropriados”. ⁽⁵⁾

Os medicamentos genéricos não são iguais ao medicamento de referência, podendo variar a sua composição no que diz respeito aos excipientes. São mais baratos, visto que desde que demonstrada a bioequivalência, os medicamentos genéricos estão dispensados de ensaios pré-

clínicos e clínicos. São conhecidos pela Denominação Comum Internacional (DCI), nome do princípio ativo do medicamento.

Segundo a Lei n.º 11/2012, de 8 de março, no ato da dispensa, o farmacêutico, ou o seu colaborador devidamente habilitado, deve informar o utente da existência de medicamentos disponíveis na farmácia com a mesma substância ativa, forma farmacêutica, apresentação e dosagem do medicamento prescrito, bem como sobre aqueles que são comparticipados pelo SNS e o que tem o preço mais baixo, disponível no mercado. As farmácias devem ter sempre disponíveis para venda, no mínimo três medicamentos genéricos, de entre os que correspondem aos cinco preços mais baixos de cada grupo homogêneo, devendo dispensar o de menor preço, salvo se for outra a opção do doente. ⁽¹¹⁾

Durante o meu estágio na Farmácia Vitória, constatei que os medicamentos genéricos são cada vez mais vendidos. Devido à crise que se instaurou no país, os utentes cada vez mais perguntam se existe genérico, para tentarem poupar algum dinheiro, começando assim a afastar-se a ideia de que o genérico é apenas uma “imitação” e que não terá o mesmo efeito que o medicamento de marca.

6.2 Automedicação

A automedicação é a realização de um tratamento medicamentoso por iniciativa própria do doente. É o processo que conduz a que o doente se assuma e se responsabilize pela melhoria da sua saúde, através da toma de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), destinados à prevenção e ao alívio de queixas autolimitadas, sem recurso à consulta médica. A automedicação é uma medida cada vez mais comum na sociedade atual. ⁽³⁾

O farmacêutico deve ter uma atitude proativa, orientando o utente para a utilização ou não do medicamento solicitado pelo doente, verificando se é indicado para o problema do utente, garantindo que a automedicação se realize sob uma indicação adequada e segundo o uso racional do medicamento.

Constatei no meu estágio que a automedicação é muitas vezes feita por indicação de alguém conhecido do utente, ou porque numa situação anterior, a medicação requerida se mostrou eficaz e como se trata de um medicamento em que não é necessária a receita médica, consideram este tipo de medicação inofensiva.

É de notar a importância dos grupos de maior risco que têm uma maior suscetibilidade para a ocorrência de problemas resultantes da medicação. O profissional de saúde deve ser capaz de aconselhar o utente, da melhor forma, e desaconselhar a automedicação nos casos que entenda necessário, evitando deste modo o mascarar de sintomas de uma patologia mais

grave, atrasando o diagnóstico e o tratamento adequado. Para que haja uma maior orientação possível em relação à automedicação, o farmacêutico deve fazer um seguimento farmacoterapêutico do doente, de maneira a relacionar todo o historial clínico do utente, as doenças que apresenta e a medicação que faz, de modo a que não hajam problemas com a automedicação, que possam vir a ser nocivos para o utente.

É importante que seja referido ao médico a toma destes medicamentos, de forma a evitar uma interação entre a terapêutica prescrita e não prescrita. É de extrema importância que a população esteja devidamente informada, e aqui o farmacêutico também tem que ser proativo, acerca da automedicação e dos problemas inerentes à sua toma, para que os utentes não criam o hábito de se automedicar.

6.3 Indicação farmacêutica

Durante o meu estágio constatei que a farmácia é muitas vezes a primeira escolha para os utentes resolverem os seus problemas de saúde ligeiros.

O farmacêutico é solicitado a intervir ativamente na transmissão de informação sobre saúde, no aconselhamento e dispensa de medicamentos que não necessitam de receita. Neste contexto, a indicação farmacêutica é uma vertente fundamental do papel que o farmacêutico desempenha na sociedade.⁽¹²⁾

A indicação farmacêutica é então definida como “o ato profissional pelo qual o farmacêutico se responsabiliza pela seleção de um medicamento não sujeito a receita médica e/ou indicação de medidas não farmacológicas, com o objetivo de aliviar ou resolver um problema de saúde considerado como um transtorno menor ou sintoma menor, entendido como problema de saúde de caráter não grave, autolimitante, de curta duração, que não apresente relação com manifestações clínicas de outros problemas de saúde do doente”. Neste processo o doente responsabiliza-se pela melhoria da sua saúde.⁽³⁾

Os procedimentos da indicação farmacêutica são:⁽³⁾

a. Entrevista ao doente

O farmacêutico deve estabelecer uma adequada comunicação com o doente, para que possa recolher informação sobre:

- Sintomas ou motivo da consulta ao farmacêutico;
- Duração do problema de saúde;

- Existência de outros sinais ou sintomas associados ao problema de saúde que motivou a consulta do doente ao farmacêutico;
- Outros problemas de saúde manifestados pelo doente;
- Medicamentos que o doente toma.

b. Intervenção farmacêutica

Após identificar corretamente o motivo da consulta e de obter toda a informação relevante sobre o doente, o farmacêutico poderá:

- Indicar uma opção terapêutica para tratar ou aliviar o sintoma menor;
- Oferecer ao doente outros serviços de cuidados farmacêuticos;
- Encaminhar o doente ao médico ou a outro profissional de saúde.

c. Seleção da terapêutica

No caso em que se aplique, o farmacêutico pode aconselhar medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e/ou indicação de medidas não farmacológicas, proporcionando ao doente toda a informação necessária.

Na indicação de um MNSRM, o farmacêutico deverá ter em conta a seleção do princípio ativo, dose, frequência de administração, duração do tratamento e forma farmacêutica. Esta seleção dependerá da situação fisiológica do doente, alergias medicamentosas, problemas de saúde já diagnosticados e medicamentos que o utente esteja a tomar.

A seleção de um medicamento requer que o farmacêutico possua formação atualizada sobre indicação farmacêutica nos transtornos menores. A seleção do tratamento deve reger-se pelo recurso a normas de orientação farmacêutica, a protocolos de indicação, guias clínicos e guias farmacoterapêuticos, tendo em conta a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos.

A garantia da segurança e da efetividade na utilização dos medicamentos são condições que ao farmacêutico cabe garantir e promover durante a dispensa de medicamentos em geral, e de MNSRM em particular.⁽¹³⁾

O farmacêutico pode optar pela indicação de medidas não farmacológicas que por si só, ou acompanhadas de um tratamento farmacológico, são fundamentais para obter melhoria na maioria dos transtornos menores. Aconselhar a mudança ou o reforço de hábitos higiénico-

dietéticos e proporcionar informação adequada permitem ao doente melhorar o seu autocuidado. ⁽³⁾

d. Encaminhamento ao médico

Nas situações em que o farmacêutico considere não se tratarem de transtornos menores e suspeite da necessidade de diagnóstico médico, deverá encaminhar o doente ao médico. ⁽³⁾

Esta atividade permite que o farmacêutico colabore com o médico potenciando a comunicação com outros profissionais de saúde. Neste sentido, o farmacêutico deve elaborar um relatório de encaminhamento médico. O objetivo deste relatório é facultar ao médico informação que o farmacêutico possui sobre o doente e o motivo pelo qual solicita a sua avaliação. O farmacêutico deve guardar uma cópia do relatório para que fique registada a intervenção farmacêutica. ⁽³⁾

e. Avaliação dos resultados clínicos

O processo de indicação farmacêutica deve ser registado e documentado. Deve ser solicitado o retorno do doente à farmácia ou aproveitar uma outra visita do doente para o questionar sobre o problema de saúde anterior. É importante para o farmacêutico conhecer o resultado alcançado pelo serviço de indicação realizado. ⁽³⁾

A avaliação deste serviço e o conhecimento dos resultados da intervenção farmacêutica favorecem o processo de melhoria da indicação farmacêutica. ⁽³⁾

6.4 Medicamentos Manipulados

Embora a indústria farmacêutica consiga responder a quase todas as necessidades da população, ainda surgem nas farmácias receitas de medicamentos manipulados. A preparação dos mesmos é da responsabilidade do farmacêutico. Segundo a portaria nº 594/2004 de 2 de Junho, medicamento manipulado define-se como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”. ⁽¹⁴⁾

Define-se fórmula magistral como “o medicamento preparado em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares segundo receita médica que especifica o doente a quem o medicamento se destina”. Designa-se por preparado oficial “qualquer medicamento preparado segundo as indicações compendiais, de uma farmacopeia ou de um formulário, em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares, destinado a ser dispensado diretamente aos doentes assistidos por essa farmácia ou serviço”. ⁽¹⁴⁾

Existe legislação própria para que sejam cumpridos todos os requisitos de boas práticas de manipulação e seja feita com a maior segurança e qualidade:

- Decreto-Lei nº 95/2004, de 22 de Abril, regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados;
- Decreto-Lei nº 90/2004, de 20 de Abril, altera o Decreto-Lei nº 72/91, de 8 de Fevereiro, que regula a autorização de introdução no mercado, o fabrico, a comercialização e a comparticipação de medicamentos de uso humano, e o Decreto-Lei nº 118/92, de 25 de Junho, que estabelece o regime de comparticipação no preço dos medicamentos;
- 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;
- Portaria nº 769/2004, de 1 de Julho, estabelece que o cálculo do preço de venda ao público dos medicamentos manipulados por parte das farmácias é efetuado com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem;
- Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de Dezembro, aprova a lista de equipamento mínimo de existência obrigatória para as operações de preparação, acondicionamento e controlo de medicamentos manipulados;
- Despacho nº 4572/2005, de 14 de Fevereiro, mantém a comparticipação em 50% dos preparados officinais incluídos na Farmacopeia Portuguesa ou no Formulário Galénico Nacional e as fórmulas magistrais que constam da lista de medicamentos manipulados comparticipáveis.

A preparação de medicamentos manipulados deve seguir as Boas Práticas Farmacêuticas ⁽³⁾ e as Boas Práticas de Preparação de Medicamentos Manipulados ⁽¹⁴⁾ que exigem o cumprimento de determinadas normas:

a. Pessoal

A preparação de manipulados só pode ser feita pelo farmacêutico diretor técnico ou sob a sua supervisão, assim como este tem a responsabilidade sobre todas as preparações de medicamentos que se realizem na farmácia. ⁽¹⁴⁾

b. Instalações e Equipamentos

“As farmácias devem ter instalações adequadas e material necessário para a preparação de medicamentos manipulados, tendo em conta as formas farmacêuticas, a natureza dos produtos e a dimensão dos lotes preparados”.⁽³⁾

c. Documentação e registo dos medicamentos manipulados

A farmácia deve possuir documentação de suporte, (ficha de preparação de manipulados), para registar os dados de cada medicamento preparado:^(3, 14)

- Denominação do medicamento manipulado;
- Nome e morada do doente, no caso de se tratar de uma fórmula magistral ou de uma preparação efetuada e dispensada por iniciativa do farmacêutico para um determinado doente;
- Nome do prescriptor (caso exista);
- Número de lote atribuído ao medicamento preparado, que permite a sua rastreabilidade;
- Composição do medicamento, indicando as matérias-primas e as respetivas quantidades usadas, bem como os números de lote;
- Descrição do modo de preparação;
- Registo dos resultados dos controlos efetuados;
- Prazo de utilização;
- Condições de conservação;
- Cálculo do preço de venda ao público;

Para o cálculo do PVP do produto preparado que é feito de acordo com o legislado na portaria n.º 769/2004, de 1 de julho, ele integra o valor dos honorários da preparação, o valor das matérias-primas e o valor dos materiais de embalagem. O cálculo do valor dos honorários da preparação tem por base um fator (F), que é atualizado anualmente e cujo valor atual é de 4,88€, de acordo com a circular normativa n.º 1285-2014. Este fator é multiplicado a outro fator cujo valor varia consoante a forma farmacêutica preparada. Os valores referentes às matérias-primas são determinados pelo custo de aquisição sem IVA multiplicado por um dos

fatores, consoante a maior das unidades em que forem utilizadas ou dispensadas. Os cálculos do valor dos materiais de embalagem são determinados pelo valor da sua aquisição multiplicado pelo fator 1,2. Feitos estes cálculos, o PVP é determinado de acordo com: (Valor dos honorários + Valor das matérias-primas + Valor dos materiais de embalagem) x 1,3, acrescido o valor do IVA, à taxa em vigor. ⁽¹⁵⁾

- Rúbrica e data de quem preparou e de quem supervisionou a preparação do medicamento manipulado.

As matérias-primas utilizadas também têm de estar corretamente documentadas. Segundo a portaria nº 594/2004, de 2 de Junho, matéria-prima define-se como “toda a substância ativa ou não, que se emprega na preparação de um medicamento, quer permaneça inalterável quer se modifique ou desapareça no decurso do processo”. ⁽¹⁴⁾

As matérias-primas a usar na preparação de medicamentos manipulados possuem boletim analítico que comprova que as mesmas cumprem com os requisitos da farmacopeia onde se encontram descritas. ⁽³⁾ As embalagens originais, bem como aquelas para as quais a matéria-prima for transferida, devem conter um rótulo que especifique: identificação da matéria-prima, identificação do fornecedor, número do lote, condições de conservação, precauções de manuseamento e prazo de validade. ⁽¹⁴⁾

Cada matéria-prima utilizada na preparação de medicamentos manipulados tem uma ficha onde está perfeitamente identificada e onde se registam os seus movimentos para os manipulados. A esta ficha é anexado o boletim analítico que comprova que a mesma cumpre com os requisitos da farmacopeia onde se encontra descrita. A ficha de dados de segurança da matéria-prima também é arquivada. ⁽³⁾

d. Preparação do medicamento

A preparação de manipulados deve basear-se na prescrição, nos formulários galénicos, na farmacopeia e noutras fontes bibliográficas adequadas. Tem de seguir procedimentos de manipulação normalizados e que respeitem as Boas Práticas de Preparação de Medicamentos Manipulados e o método de preparação deve ser corretamente documentado. ^(3, 14)

Deve ser definido o prazo de validade do medicamento que vai depender dos constituintes da formulação, assim sendo, de acordo com o Formulário Galénico Português:

- Preparações líquidas não aquosas e preparações sólidas - se a substância ativa é um produto industrializado deve definir-se como prazo de validade 25% do tempo que é recomendado na cartonagem. O prazo de validade não deve ser superior a 6 meses;

- Preparações líquidas com água (preparadas com substâncias ativas no estado sólido) - o produto deve ser conservado no frigorífico e o prazo de validade não deverá ser superior a 14 dias;
- Restantes preparações (preparações semi-sólidas) - o prazo de validade deve corresponder à duração do tratamento mas nunca superior a 30 dias.

e. Controlo de qualidade

Para se garantir a qualidade dos medicamentos preparados na farmácia é necessário: ⁽³⁾

- Estabelecer procedimentos gerais e específicos;
- Registar dados referentes à preparação e ao controlo;
- Reconstituir o histórico de cada preparação;
- Proceder a todas as verificações necessárias para garantir a boa qualidade final do medicamento manipulado;
- O produto semiacabado deve satisfazer os requisitos estabelecidos na monografia genérica da farmacopeia portuguesa para a respetiva forma farmacêutica;
- Efetuar uma verificação final da massa ou volume de medicamento a dispensar, o qual deve corresponder ao prescrito;
- Os resultados destas verificações devem ser registados na respectiva ficha de preparação do medicamento manipulado.

f. Rotulagem

No rótulo do medicamento preparado na farmácia devem constar os seguintes elementos de acordo com a legislação em vigor: ⁽¹⁴⁾

- Nome do doente (no caso de se tratar de uma fórmula magistral);
- Fórmula do medicamento manipulado prescrita pelo médico;
- Número do lote atribuído;
- Prazo de utilização;

- Condições de conservação;
- Instruções especiais, eventualmente indispensáveis para a utilização do medicamento (e.g. ‘uso externo’);
- Via de administração;
- Posologia;
- Identificação da farmácia;
- Identificação do farmacêutico diretor técnico.

As preparações mais realizadas em farmácia comunitária são as fórmulas magistrais. O médico pode prescrever e descrever a preparação ou utilizar a expressão F.S.A. (faça-se segundo a arte), onde deixa essa função para o farmacêutico.

Cada prescrição de medicamentos manipulados deve ser interpretada profissionalmente pelo farmacêutico com base em aspetos farmacoterapêuticos e técnicos, dando especial importância à forma farmacêutica, componentes não tolerados e incompatibilidades entre componentes.

Durante o meu período de estágio tive a oportunidade de preparar uma pomada de ácido salicílico a 2% com o auxílio do aparelho de marca Unguator[®], máquina esta que não tinha tido oportunidade de contactar, durante o meu percurso académico.

7.Aconselhamento e dispensa

Para além dos medicamentos de uso humano, a farmácia dispensa outros produtos de saúde, como cosméticos e de higiene corporal, produtos dietéticos, fitoterapêuticos, homeopáticos, dispositivos médicos e produtos de uso veterinário.

7.1 Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Segundo o DL n.º 113/2010 de 21 de outubro, produto cosmético é “qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais”.⁽¹⁶⁾

Estes produtos não necessitam de uma autorização administrativa prévia à comercialização. O fabrico, controlo, segurança e cumprimento da legislação em vigor são da exclusiva responsabilidade do fabricante, do importador ou do responsável pela introdução dos produtos no mercado. À Autoridade Competente, o INFARMED, compete verificar o cumprimento da legislação, nomeadamente através da vigilância do mercado. As exigências legais justificam-se pela necessidade de proteção da saúde pública, sendo de destacar a proibição de substâncias cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução, e ainda a enumeração, em lista, de corantes, agentes conservantes e filtros para radiações ultravioletas permitidos. A informação ao consumidor, nomeadamente acerca da durabilidade mínima dos produtos, é outro ponto a destacar. ⁽¹⁷⁾

A Farmácia Vitória possui várias marcas de dermocosmética dispostas na área de atendimento ao público (Avène®, La-Roche Posay®, A-Derma®, Uriage®, Vichy®, entre outras). Estas são marcas bastantes completas e desdobram-se em várias linhas de produtos, em função do tipo de pele, da faixa etária, de problemas de pele específicos, sendo um permanente desafio, para o estagiário, conhecê-las e contextualizá-las.

Este tipo de produtos têm cada vez mais procura e o farmacêutico deve estar atualizado, para prestar qualquer esclarecimento acerca dos mesmos. Deverá ter uma atitude crítica e consciente no seu aconselhamento, sabendo adequar caso a caso, a escolha entre os diversos produtos existentes, de maneira a que possa satisfazer as necessidades dos utentes visando prioritariamente, a sua saúde. No meu estágio tive ainda a oportunidade de assistir a uma formação da marca “Uriage”, que se tornou bastante útil, não só por ficar a conhecer a sua gama de produtos, mas também pelos conceitos ensinados durante a formação, visto que, este é um tema muito abrangente e que não é muito abordado durante os cinco anos de curso.

7.2 Produtos dietéticos para alimentação especial

Segundo o DL n.º 74/2010, de 21 de Junho, classifica produtos para alimentação especial como “géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial que, devido à sua composição especial ou a processos especiais de fabrico, se distinguem claramente dos alimentos de consumo corrente, são adequados ao objetivo nutricional pretendido e comercializados com a indicação de que correspondem a esse objetivo”. ⁽¹⁸⁾

Os suplementos alimentares podem apresentar um leque muito variado de substâncias nutrientes e outros ingredientes, designadamente vitaminas, minerais, aminoácidos, ácidos gordos essenciais, fibras, plantas e extratos de ervas. É considerada alimentação especial a que corresponde às necessidades nutricionais das seguintes categorias de pessoas: aquelas cujo processo de assimilação ou cujo metabolismo se encontra perturbado (exemplo,

alimentos usados na perturbação do metabolismo dos glúcidos do diabético); as que se encontram em condições fisiológicas especiais e que, por esse facto, podem retirar benefícios particulares, da ingestão controlada de certas substâncias contidas nos alimentos (por exemplo, alimentos hipocalóricos para controlo do peso) e os lactentes ou crianças de 1 a 3 anos de idade em bom estado de saúde. Esta última categoria, é aquela, para a qual a Farmácia tem maior expressão de produtos. Os leites e as fórmulas infantis dividem-se em duas categorias: leite para lactentes e leite de transição, havendo ainda um terceiro grupo destinado a fins medicinais específicos. O leque de leites e fórmulas infantis é bastante amplo e diversificado, sendo a escolha do leite feita, geralmente, em articulação com o pediatra.

7.3 Fitoterapia e suplementos nutricionais (nutracêuticos)

Segundo o DL n.º 176/2006, de 30 de agosto, um produto fitoterapêutico ou medicamento à base de plantas é “qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substâncias ativas, uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas, em associação com uma ou mais preparações à base de plantas”.⁽⁵⁾

Os produtos fitoterapêuticos assumem a forma essencialmente de suplementos alimentares, havendo produtos que podem ser utilizados com fins profiláticos ou de tratamento. Estes produtos podem ter indicação em diferentes áreas: constipações, dores de garganta, afonia e rouquidão (por exemplo: Euphon®); obstipação pontual/aguda (por exemplo, laxantes à base de Sene), e obstipação persistente (laxantes à base de fibras e mucilaginosos; insónias, stress e ansiedade ligeira (por exemplo, formulações com extrato de raiz de Valeriana e/ou contendo Passiflora); fadiga intelectual (destaque para o Ginseng, referenciado como um energizante, mas também na redução do stress e melhoria do humor); cognição e memória (caso das formulações com extrato de *Ginkgo biloba*); climatério da menopausa (por exemplo, formulações com isoflavonas da soja); emagrecimento (por exemplo, chá verde ao qual se atribuí uma ação lipolítica), entre outras situações.

Para alguns destes produtos é possível um uso tradicional bem estabelecido e/ou estudos clínicos que evidenciam a sua eficácia, pelo que o profissional de saúde não deve desconsiderar o seu uso; para outros o uso ainda gera alguma controvérsia. Mas a grande questão prende-se com o facto de que os produtos fitoterapêuticos podem ter efeitos secundários, contra-indicações ou interações com fármacos, e as pessoas associam produtos naturais a inocuidade, pelo que o farmacêutico assume um papel importante na promoção do uso racional destes fármacos. Igualmente, o farmacêutico também pode dar conselhos úteis em termos da utilização destes produtos, por exemplo, o chá verde, a cafeína, podem provocar insónias, pelo que a pessoa não os deverão tomar à noite.

7.4 Produtos farmacêuticos homeopáticos

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, medicamento homeopático é designado como “medicamento obtido a partir de substâncias denominadas *stocks* ou matérias-primas homeopáticas, de acordo com um processo de fabrico descrito na farmacopeia europeia ou, na sua falta, em farmacopeia utilizada de modo oficial num Estado membro, e que pode conter vários princípios”.⁽⁵⁾

Durante o meu estágio curricular, na referida Farmácia, verifiquei que os produtos homeopáticos não têm grande procura. Apenas tive oportunidade de realizar a venda de um medicamento homeopático *Oscillococcinum*[®] que é utilizado na constipação.

7.5 Medicamentos de uso veterinário

Segundo o DL n.º 314/2009 de 28 de outubro, medicamento veterinário é “toda a substância, ou associação de substâncias apresentada, como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doença em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”.⁽¹⁹⁾

A maior parte destes medicamentos cedidos na Farmácia Vitória destinam-se a animais de companhia (principalmente cães e gatos) e animais de criação (galinhas e coelhos, na sua maioria). Os produtos mais solicitados pelos utentes são os antiparasitários, internos e externos, as pílulas anticoncecionais para animais de companhia e as vacinas para os coelhos. Os antibióticos de uso veterinário, assim como os de uso humano necessitam de receita médica para a sua dispensa.

Durante a cedência de medicamentos de uso veterinário, o farmacêutico deve informar o utente acerca do modo de administração e esclarecê-lo sobre todas as dúvidas que surjam e, no caso de se destinarem a animais de criação, informar também acerca do intervalo de segurança que deve decorrer entre a administração e o consumo dos produtos provenientes destes animais.

7.6 Dispositivos médicos

Segundo o DL n.º 145/2009, de 17 de junho, dispositivo médico é “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o *software* destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico ou terapêuticos e que seja necessário para o bom

funcionamento do dispositivo médico, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios, destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para fins de:

- i) Diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença;
- ii) Diagnóstico, controlo, tratamento, atenuação ou compensação de uma lesão ou de uma deficiência;
- iii) Estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico;
- iv) Controlo da concepção.”⁽²⁰⁾

Existem diferentes categorias de dispositivos médicos, como sejam: dispositivo médico ativo (quando o funcionamento depende de uma fonte de energia elétrica ou outra não gerada diretamente pelo corpo humano ou pela gravidade); dispositivo médico não ativo (quando não satisfaz a anterior categoria) e dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* (reagente, calibrador, material de controlo, aparelho ou sistema utilizado isolado ou conjuntamente destinado pelo fabricante a ser utilizado *in vitro* para a análise de amostras provenientes do corpo humano). Os dispositivos são ainda integrados em classes, tendo em conta a vulnerabilidade do corpo humano. Esta classificação assenta fundamentalmente em quatro critérios: duração do contacto com o corpo humano, invasibilidade do corpo humano, a anatomia afetada pela utilização e os potenciais riscos decorrentes da concepção técnica e do fabrico. Assim temos:

- Dispositivos médicos de classe I - baixo risco (por exemplo, seringas sem agulhas, meias de compressão, estetoscópios, sacos para ostomia, algodão hidrófilo);
- Dispositivos médicos de classe IIa - baixo médio risco (por exemplo: compressas de gaze, agulhas das seringas, cateteres urinários);
- Dispositivos médicos de classe IIb - médio alto risco (por exemplo, canetas de insulina, preservativos, soluções variadas para lentes de contacto);
- Dispositivos médicos de classe III - alto risco (por exemplo, pensos com medicamentos, preservativos com espermicida).⁽²¹⁾

Na Farmácia Vitória existe uma vasta gama de dispositivos médicos. Durante o meu estágio uma das minhas tarefas foi conhecer as especificidades destes produtos, por forma a aconselhar os utentes, da melhor maneira possível.

8. Outros cuidados de saúde prestados na farmácia

Esta é a grande área de aposta das farmácias comunitárias hoje em dia, com o farmacêutico a assumir um papel cada vez mais ativo e responsável, na promoção da saúde pública. No que concerne à Farmácia Vitória a avaliação do índice de glicémia, de colesterol total, de triglicéridos, a avaliação da pressão arterial e a administração de vacinas fora do Plano Nacional de Vacinação são os serviços farmacêuticos mais frequentemente prestados.

Além destes serviços farmacêuticos, os utentes da Farmácia Vitória têm acesso a consultas de podologia realizadas por uma especialista que se desloca à farmácia de 15 em 15 dias, aumentando assim o leque de serviços prestados pela farmácia aos seus utentes.

8.1 Medição da pressão arterial

A hipertensão arterial é um reconhecido fator de risco de doença cerebral e cardiovascular. É uma patologia com um grande impacto social em Portugal, como causa de morbilidade e mortalidade.⁽²²⁾ Na Farmácia Vitória, a determinação da tensão arterial é feita através de um esfigmomanómetro manual. Durante o meu estágio, tive a oportunidade de realizar esta medição, de forma regular. O utente é convidado a sentar-se e a repousar, confortavelmente durante 5 minutos, antes da medição. Posteriormente é colocada a braçadeira no braço, tendo-se o cuidado de verificar se a roupa do utente não comprime em demasia o braço. Durante a medição, o utente deve estar repousado, cómodo e não deve falar nem mover-se. Nas situações em que a tensão arterial registava um valor $\geq 140/90$ mmHg, fazia-se outro registo intervalado de 5 minutos. Entretanto, conversamos com o utente a fim de se saber se se trata ou não de um hipertenso, se faz ou não medicação, se cumpre a medicação, se tem outras patologias associadas que saiba referir. Podemos ainda consultar o cartão de registos do doente para averiguar se o valor está em concordância com os registados. A promoção de um estilo de vida saudável (diminuição da ingestão de sal, controlo do peso, caminhar 30 minutos/dia) deve ser sempre um incentivo para o doente.

8.2 Medição da glicemia capilar

A ação essencial da intervenção farmacêutica, corresponde ao aconselhamento farmacêutico no domínio da autovigilância e identificação de diabéticos não controlados e/ou pessoas suspeitas de diabetes, com referenciação a consulta médica, se necessário.

Na Farmácia Vitória é possível a determinação da glicemia capilar. Normalmente a amostra de sangue para esta determinação é recolhida por picada na ponta do dedo. Este é

previamente desinfetado (com uma compressa embebida em álcool a 70°). Se necessário aquecer o dedo esfregando vigorosamente durante alguns segundos.

Para ajudar ao fluxo sanguíneo, podemos ainda recomendar ao utente que coloque o braço para baixo. A gota de sangue é aplicada de imediato na tira do teste, subindo por capilaridade. Ao fim de poucos segundos, o aparelho apresenta o resultado. Todo o material cortante (agulhas, seringas) deve ser colocado no contentor amarelo para inceneração e os materiais não cortantes, mas que estejam contaminados de sangue devem ser colocados num contentor específico. Estes dois tipos de contentores são periodicamente trocados e recolhidos por uma empresa de tratamento deste tipo de lixos. O farmacêutico deve ainda proceder ao registo do valor e quando necessário, referenciar o utente ao médico.

Tabela 2 - Valores de referência para a glicémia (mg/dl) (23)

	Normal	Elevado
Pré-prandial	70 - 109	> 126
Pós-prandial	<140	> 140

8.3 Medição do colesterol total e triglicéridos

A dislipidémia, tal como a hipertensão arterial e a Diabetes *Mellitus*, é outro fator MAJOR de risco cardiovascular. Os elevados níveis de colesterol LDL estão associados à formação de placas de ateroma nas paredes das artérias. A dislipidémia poderá ser simples, hipercolesterolemia associada à elevação do LDL; ou mista, quando existe hipertrigliceridémia associada. (24)

Na Farmácia Vitória é possível a determinação do colesterol total e dos triglicéridos. A medição do colesterol total pode ser realizada a qualquer hora do dia, dado que a ingestão de alimentos tem apenas uma ligeira influência nos valores; já os níveis de triglicéridos são largamente influenciados pela ingestão de alimentos, variando ao longo do dia, sendo necessário o utente estar em jejum de doze horas. Para estes testes, é necessária uma quantidade considerável de sangue, para que a câmara existente na tira fique bem preenchida, o que pode ser observado no verso da mesma. O tempo em que esperamos pelos resultados, podemos ir conversando com o utente, acerca do seu estilo de vida, das suas patologias, da sua medicação e quando se justifique, dar ao utente os conselhos que achemos necessários.

Atualmente, na medição do colesterol total, os valores de referência desejáveis são <190 mg/dl, e os valores de referência para os triglicéridos são <150 mg/dl. (24)

9. Contabilidade e Gestão

9.1 Gestão e formação dos recursos humanos

Uma correta gestão de recursos humanos permite aos colaboradores da farmácia saberem quais são as suas funções e que cargos têm de assumir, na falta de algum colega de trabalho. Esta gestão é da responsabilidade do diretor técnico, e quando bem feita, permite que a farmácia funcione nas melhores condições, conseguindo em simultâneo, prestar um bom atendimento aos utentes.

Devido às constantes alterações de produtos no mercado farmacêutico bem como ao avanço nos conhecimentos de saúde, a formação contínua é algo essencial para o bom desempenho das funções que nos são confiadas, enquanto profissionais de saúde e do medicamento. Durante o meu período de estágio tive oportunidade de realizar uma apresentação aos colaboradores da farmácia sobre os “Efeitos do sol e a proteção solar” e assisti a uma formação sobre “Dor e Febre” da Bene[®], com duração de 2 horas; assisti ainda a outra formação da Arkocápsulas[®], onde apresentaram toda a sua gama de produtos, com uma duração de 3 horas e realizei um curso de aconselhamento da Uriage[®], com a duração de 8 horas. Informação que pode ser comprovada pela caderneta do aluno.

Neste âmbito, tenho de agradecer à Dr.^a Alcina Leal, que sempre me proporcionou a oportunidade de participar, em todas as formações que eram sugeridas para os colaboradores da farmácia.

9.2 Receituário e faturação

Após o processo acima descrito, as receitas são separadas por organismos (códigos de faturação que identificam as modalidades de comparticipação) e dentro de cada organismo são separadas por lotes. Cada lote é constituído por 30 receitas do mesmo tipo, numeradas, com exceção do último lote desse tipo, constituído pelas receitas remanescentes. Esta numeração surge porque, de cada vez que são dispensados MSRM comparticipados, o sistema informático atribui a cada receita um lote e um nº sequencial dentro desse lote (impressos no documento de faturação) de acordo com o organismo em que a receita é processada.

No último dia do mês é feito o fecho do receituário informaticamente.

O Decreto-Lei nº 242-B/2006, de 29 de dezembro, estabelece a forma de pagamento às farmácias, da comparticipação do Estado no PVP dos medicamentos dispensados a beneficiários do SNS, que não estejam abrangidos por nenhum subsistema, sem prejuízo dos regimes de complementaridade. Com este diploma, permite-se aos utentes do SNS acederem

aos medicamentos pagando apenas o encargo que lhes compete no respetivo preço, assumindo as farmácias, no ato da dispensa, o valor da comparticipação do Estado.

Os documentos, consagrados na Portaria nº 3-B/2007, de 2 de Janeiro, para organizar a remessa das receitas a entregar nos diferentes organismos até ao dia 10 do mês seguinte são:

- **Verbete de Identificação do Lote**
- **Relação Resumo dos Lotes**
- **Fatura Mensal de Medicamentos**

Estes documentos são produzidos informaticamente.

As receitas médicas são entregues e organizadas em lotes. Cada lote é identificado através do **Verbete de Identificação do Lote**, carimbado pela farmácia, e onde estão registados os seguintes elementos:

- a) Nome e código da farmácia - nº fornecido pela ANF;
- b) Mês e ano da respetiva fatura;
- c) Código - tipo e nº sequencial do lote;
- d) Organismo - nome e sigla
- e) Quantidade de receitas e Quantidade de etiquetas;
- f) Importância total do lote: a correspondente ao PVP, a parte paga pelos utentes, e aquela a pagar pelo Estado ou outros subsistemas de saúde.

De referir que o verbete é anexado ao respetivo lote com um elástico.

Durante o meu estágio tive oportunidade de acompanhar todo este processo, em especial no final dos meses de março e abril.

9.3 Aspetos fiscais relativos ao IRS, IVA, IRC

O IRS é o Imposto de Rendimento de pessoas Singulares, onde no final de cada ano, cada singular (ou agregado familiar) concilia as suas contribuições ao Estado com as despesas efetuadas nesse ano. As despesas são de várias ordens, sendo que, no caso da farmácia limitam-se às despesas de saúde. As despesas com produtos com IVA de 6%, são diretamente dedutíveis em IRS, no entanto as sujeitas a IVA de 23%, apenas são aceites caso exista apresentação de uma justificação: a receita médica, por exemplo.

O IVA, que se refere ao Imposto de Valor Acrescentado, incide sobre aquisições, transações de bens ou serviços mas também sobre prestação de serviços. Assim, a farmácia, como qualquer contribuinte, tem de pagar ou ser reembolsada quanto ao montante relativo ao IVA apurado, o qual é o resultado entre o IVA liquidado e o IVA dedutível. Os produtos disponíveis na farmácia têm taxas de IVA de 6% (por exemplo os medicamentos) e 23% (os produtos de dermofarmácia).

O IRC, imposto de rendimento de pessoas coletivas, incide sobre o lucro gerado nas sociedades residentes em Portugal e que exerçam a sua atividade em território nacional.

10. Conclusão

O estágio realizado na Farmácia Vitória Fundanense permitiu transpor os conhecimentos teóricos, adquiridos durante o meu percurso académico, para a prática diária de um farmacêutico, em farmácia comunitária. Senti que, apesar de algumas lacunas na área de dermocosmética, suplementação e colírios, a formação dada pelos professores da Universidade da Beira Interior, permite uma adequada preparação dos alunos, para o mercado de trabalho. O método de ensino baseado em tutorias torna-nos pro ativos e com sentido crítico, algo que é fundamental na atividade de um farmacêutico, visto que, a saúde é uma ciência em constante evolução e nós, como profissionais de saúde, temos de acompanhar essa evolução.

Nestes cinco meses de estágio contei com a ajuda de todos os colaboradores da Farmácia Vitória, que com a sua preocupação e empenho conseguiram transmitir-me os seus conhecimentos, ajudando um pupilo a tornar-se num farmacêutico. Algo que se notou no final do período de estágio, período esse, em que conseguiser autónomo no atendimento e aconselhamento ao utente.

Aconselho vivamente a Farmácia Vitória, como um lugar de eleição para estagiar, a todos os colegas de curso que tenham esta etapa pela frente.

“Farmacêutico, produtor de bem-estar, manipulador da cura, administrador da vida”

11. Bibliografia

1. Regime jurídico das farmácias de oficina. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de Agosto.
2. Portaria n.º 277/2012 de 12 de setembro. publicado no Diário da República, 1.ª série, n.º 177 de 12 de setembro de 2012
3. Boas Práticas de Farmácia para farmácia comunitária, BPF. Ordem dos farmacêuticos 2009(3ª edição)
4. Ordem dos farmacêuticos - Conselho nacional da qualidade. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária, 2009.
5. Estatuto do Medicamento. Decreto-lei n.º 176/2006, de 30 de agosto.
6. Decreto-lei n.º 112/2011 de 29 de novembro, do Ministério da Economia e do Emprego. publicado no Diário da República, 1.ª série, N.º 229, 29 de novembro de 2011.
7. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. Consultado a 13 de Setembro de 2014
Disponível em:
http://www.ceic.pt/portal/page/portal/CEIC/UTILIDADES_INFORMACAO/NORMATIVO/NACIONAL/CodigoDeontologico_OF.pdf.
8. Farmacovigilância. Infarmed. Consultado a 10 de Setembro de 2014. Disponível em:
http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PERGUNTAS_FREQUENTES/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/MUH_FARMACOVIGILANCIA.
9. Portaria n.º 137-A/2012 de 11 de maio, do Ministério da Saúde. publicado no Diário da República, 1.ª série - n.º 92 - 11 de maio de 2012.
10. Portaria n.º 137-A/2012, de 11 de maio, Diário da República, 1.ª série – N.º 92, pp. 2-7, Ministério da Saúde, 2012.
11. Lei n.º 11/2012, de 8 de Março. Diário da República, 1.ª série. N.º 48 de 8 de Março de 2012.
12. Ordem dos Farmacêuticos. Indicação Farmacêutica. Grupo do Guincho. 2006. Consultado a 27 de Setembro de 2013. Disponível em:
http://ofporto.org/upload/documentos/354791-Ind_Farmacutica.pdf.
13. Associação Nacional das Farmácias. Serviços Diferenciados. 2008. Consultado a 27 de Setembro de 2014. Disponível em:
http://www.anf.pt/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=101&Itemid=101.
14. Portaria n.º 594/2004, de 2 de Junho. Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. INFARMED: Gabinete Jurídico e Contencioso. Consultado a 27 de Setembro de 2014. Disponível em:
https://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO_FARMACEUTICA_COMPILADA/TITULO_III/TITULO_III_CAPITULO_II/portaria_594-2004.p.
15. Portaria n.º 769 / 2004 , de 1 de Julho - Estabelece que o cálculo do preço de venda ao público dos medicamentos manipulados por parte das farmácias é efectuado com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem, pp. 4-7, Legislação Farmacêutica Compilada, INFARMED - Gabinete Jurídico e Contencioso, 2004.
16. Decreto-lei n.º 113/2010 de 21 de outubro, do Ministério da Saúde. publicado pelo Diário da República, 1.ª série, N.º 205, 21 de Outubro de 2010.
17. Regulamento (ce) n.º 1223/2009 do parlamento europeu e do conselho de 30 de Novembro de 2009 relativo aos produtos cosméticos.
18. Decreto-lei n.º 74/2010 de 21 de junho, do Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. publicado no Diário da República, 1.ª série, n.º 118, de 21 de Junho de 2010.
19. Decreto-lei n.º 314/2009 de 28 de outubro, do Ministério da Agricultura do desenvolvimento Rural e das Pescas. publicado pelo Diário da República, 1.ª série ,n.º 209, de 28 de outubro de 2009.
20. Decreto-lei n.º 145/2009 de 17 de junho, do Ministério da Saúde. publicado pelo Diário da República, 1.ª série, n.º 115, 17 de Junho de 2009.
21. Dispositivos médicos. Consultado a 10 de Setembro de 2014. Disponível em:
http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/DISPOSITIVOS_MEDICOS/CLASSIFICACAO_E_FRONTEIRAS.

22. Hipertensão arterial. manual Merk, secção 3, capítulo 25. Consultado a 10 de Setembro de 2014. Disponível em : <http://www.manualmerck.net/?id=51>.
23. Valores de referência da glicemia. Portal da diabetes. Consultado a 10 de Setembro de 2014. Disponível em: <http://www.apdp.pt/index.php/diabetes/a-pessoa-com-diabetes/valores-de-referencia>.
24. Costa A. Dislipidémias. Consultado a 10 de Setembro de 2014. Disponível em: <http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/1708/1/Dislipidemias.pdf>.

Capítulo II - Otimização de uma metodologia analítica para a determinação de pregabalina em plasma com recurso a microextração em seringa

1. Introdução

1.1 Epilepsia

A Epilepsia é uma doença neurológica crónica que afeta pessoas de todas as idades. Esta doença foi identificada desde a antiguidade, tendo sido abordada por Hipócrates, há mais de 2000 anos. A designação “epilepsia” deriva de um termo Grego, que significa “possuir”, “ser possuído por” ⁽¹⁾.

Para os Gregos antigos a epilepsia era um fenómeno milagroso, eles consideravam que apenas os deuses podiam “derrubar alguém”, deixar as pessoas inconscientes, deixar que o corpo se mexesse de forma incontrolável e depois, trazê-las de volta, sem nenhum efeito evidente de doença ⁽¹⁾.

A primeira definição foi dada por Hughlings Jackson, na segunda metade do século XIX, definindo a doença como: “A descarga ocasional, repentina, rápida e local de massa cinzenta” ⁽¹⁾.

Atualmente, existe uma definição mais funcional, que é: “A ocorrência de paroxismos transitórios de descargas excessivas ou não controladas de neurónios, que podem ser causadas por um diferente número de etiologias, levando a crises epiléticas” ⁽¹⁾.

Aproximadamente 50 milhões de pessoas, em todo o mundo, têm epilepsia, tornando esta doença a condição neurológica grave mais comum. Nos países desenvolvidos, a incidência anual é estimada em 50 a 70 casos por cada 100.000 pessoas (a incidência é maior nos países em desenvolvimento devido a uma pior assistência materno-infantil conjugada com piores condições sociais, aumentando assim a probabilidade de infeções cerebrais e traumatismos cranianos) ⁽²⁾.

A incidência varia de forma preponderante com a idade, verificando-se uma taxa superior na infância precoce, valores mais baixos são observados na vida adulta e um segundo pico de incidência é constatado a partir dos 65 anos. Nos últimos anos, apesar da incidência global se manter mais ou menos constante, verifica-se uma diminuição da incidência nas crianças e um aumento nos idosos, fazendo com que o segundo pico de incidência seja atualmente maior que o primeiro. A prevalência pontual de epilepsia ativa varia entre os 0,5 a 1% da população mundial ⁽²⁾.

Um ataque epilético traduz um processo de sincronização e amplificação de uma descarga neuronal, que surge de forma espontânea, sendo caracterizada pelo aumento da atividade elétrica de alta frequência, no início da atividade elétrica de baixa frequência, envolvendo a interação de mecanismos inibitórios GABAérgicos e mecanismos excitatórios glutaminérgicos ⁽³⁾. Esta atividade elétrica de alta frequência vai fazer com que seja necessário um maior fluxo de sangue, oxigênio e trifosfato de adenosina (ATP), assim como glicose. Não conseguindo o organismo compensar estas falhas estamos perante um ataque epilético⁽⁴⁾.

Depois de se iniciar uma descarga epilética cortical, esta propaga-se de uma área cerebral limitada para áreas maiores e estruturas subcorticais através de fibras e de múltiplos circuitos cerebrais⁽⁵⁾. No processo, a sincronização da atividade neuronal aumenta, enquanto que, a inibição é diminuída, levando a uma redução do limite para a excitação, facilitando assim a ocorrência de um ataque^(6, 7). Além disso, quanto maior for a estimulação, maior será o tempo da descarga neuronal, dando origem a ataques de longa duração⁽⁸⁾.

Os ataques epiléticos terminam quando já não há mais nada suscetível à excitação⁽⁹⁾. A partir do momento em que já não existe fornecimento energético, o ataque pode parar. O aumento abrupto da condutância da membrana, a interrupção da integração sináptica e a alteração do ambiente circundante são os mecanismos responsáveis pela paragem do ataque epilético, já que levam a uma diminuição da eficácia da transmissão e a um aumento da transmissão inibitória^(9, 10).

1.1.1 Crises Epiléticas

As crises epiléticas podem ser distinguidas em dois grupos:

- a. Crises epiléticas generalizadas (envolvem todo o cérebro e alteram o estado de consciência) ⁽¹¹⁾;
- b. Crises epiléticas parciais ou focais (têm origem apenas numa área cerebral, mas podem evoluir para uma crise generalizada)⁽¹¹⁾.

Quanto às crises epilépticas generalizadas, estas podem subdividir-se em: crises tónico-clónicas (crises tipo “grande mal”); crises de ausência (crises tipo “pequeno mal”); crises clónicas; crises tónicas; crises atónicas e crises mioclónicas^(11, 12).

Resumidamente descrevem-se as principais características destas crises:

Durante as crises *tónico-clónicas* (figura 1), o ser humano perde a consciência, cai no chão, perde a capacidade de respirar temporariamente e todos os músculos ficam contraídos, sendo estes acontecimentos seguidos de uma série de movimentos espasmódicos. Em algumas pessoas pode verificar-se incontinência urinária e fecal e mordedura da língua. A crise pode demorar alguns minutos, podendo ser posteriormente verificado um período de confusão mental, dores musculares e dores de cabeça. A este tipo de crise, normalmente, dá-se o nome de convulsão⁽¹¹⁾.

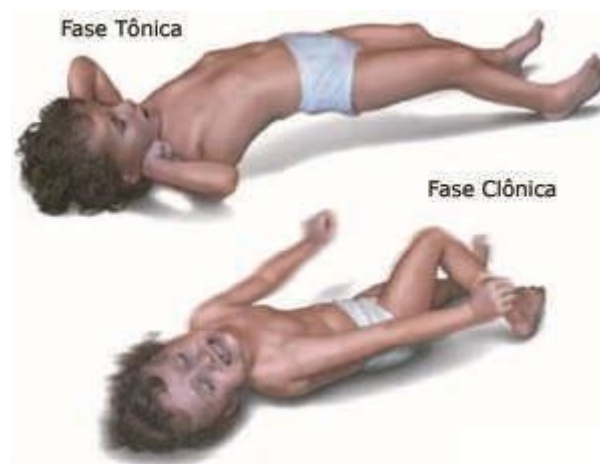


Figura 1 - Crise tónico-clónica⁽¹³⁾

No caso das *crises de ausência*, a perda de consciência é momentânea e a pessoa, normalmente, nem muda a sua posição. Durante a crise as pessoas podem ficar com um olhar fixo (vazio), pestanejar rapidamente, executar movimentos de mastigação e mover um braço ou uma perna ritmicamente (figura 2). Estas crises aparecem normalmente na infância ou no início da adolescência⁽¹¹⁾.



Figura 2 - Crise de ausência ⁽¹⁴⁾

No que concerne às *crises clônicas*, aparecem clonias repetidas em intervalos regulares e rítmicas, na frequência de 2 a 3 ciclos por segundo, podendo ir inclusive, de alguns segundos a minutos⁽¹²⁾. No entanto, quando existe uma contração muscular mantida com duração de poucos segundos a minutos, estamos perante *crises tônicas*, em que regra geral, duram de 10 a 20 segundos⁽¹²⁾.

Ainda no grupo das crises epiléticas generalizadas, temos as crises atônicas, que ocorrem quando há perda ou diminuição súbita do tônus muscular afetando a cabeça, o tronco, maxilares ou os membros. Quando estas crises são consequentes da perda do tônus postural, podem levar à queda lenta do indivíduo se este estiver de pé ⁽¹²⁾. Por último, de referir, as crises mioclônicas, nas quais se verifica a ocorrência de contrações musculares súbitas, breves (<100 ms) e arrítmicas, que se assemelham a choques⁽¹²⁾.

Quanto às crises epiléticas parciais ou focais, há que referir que estas podem subdividir-se em, crises parciais simples e crises parciais complexas⁽¹¹⁾.

No caso de uma *crise parcial simples*, o doente não perde a consciência e os sintomas podem remeter para movimentos espasmódicos, numa parte do corpo, alterações na visão, sons anormais, experiências olfativas, náuseas, medo ou raiva inexplicados⁽¹¹⁾; no que se refere a uma *crise parcial complexa*, o doente pode parecer consciente, mas não responde durante um curto espaço de tempo, sendo as manifestações mais recorrentes: um olhar vazio, mastigação ou estalar os lábios e movimentos repetitivos com as mãos. Terminada a crise, o doente não se lembra do episódio epilético; é como se não tivesse acontecido⁽¹¹⁾.

Na ausência de evidências suficientes, para caracterizar as crises como parciais ou generalizadas, designam-se por crises desconhecidas⁽¹²⁾.

Por último, para além das crises referidas anteriormente, podemos também considerar como *estado de mal epilético*, esta crise acontece quando o doente tem uma crise epilética

generalizada, a qual dura entre 15 a 30 minutos ou até mais, podendo também ser desencadeada por várias crises epiléticas sucessivas, sem recuperação completa da consciência, entre elas. Este estado de mal epilético representa uma emergência médica, pois existe uma grande probabilidade, de desencadear a morte do doente⁽¹¹⁾.

1.1.2 Medidas não farmacológicas para evitar ataques epiléticos

O tratamento não-farmacológico da epilepsia inclui a cirurgia; a estimulação do nervo vago (terapia que envolve um pequeno aparelho que envia estímulos elétricos ao nervo vago esquerdo localizado no pescoço. Este nervo é um dos principais elos de comunicação entre o corpo e o cérebro e esta terapia tem como objetivo prevenir as irregularidades elétricas que causam as crises); a dieta cetogénica (mais utilizada em crianças que consiste numa alimentação feita com quatro porções de lípidos e apenas uma porção de proteína e hidratos de carbono combinados) e ainda outras terapias complementares/alternativas.

As terapias alternativas incluem técnicas como o ioga, a acupuntura, a massagem terapêutica, a eletroencefalografia (EEG), a homeopatia e remédios à base de plantas (medicina tradicional chinesa). A maioria dos doentes com epilepsia requerem a toma de medicação antiepilética para controlar as suas crises, mas terapias alternativas são muitas vezes complementares ⁽¹⁵⁾.

As terapias alternativas, incluindo técnicas de redução de stresse, podem ajudar os doentes a controlar melhor os seus ataques. Um doente com epilepsia, que suspeita que tem mais convulsões quando está sob stresse, pode beneficiar se aprender técnicas para controlar esse mesmo stresse, como por exemplo, o relaxamento muscular progressivo e a respiração profunda diafragmática. Algumas pessoas utilizam a ioga ou a meditação para evitar convulsões induzidas pelo stresse e também para melhorar a sua qualidade de vida ⁽¹⁵⁾.

A acupuntura por vezes também é utilizada, devido à estimulação causada pelas agulhas nas terminações nervosas, tendo como objetivo principal um equilíbrio mental, físico e emocional. As técnicas de *biofeedback*, com recurso a equipamentos de EEG, utilizadas na epilepsia, podem ajudar o doente a controlar a sua própria atividade cerebral, criando um padrão de ondas cerebrais mais normalizadas, podendo assim o próprio doente reduzir as suas crises convulsivas ⁽¹⁵⁾.

Os indivíduos com epilepsia, para além destas medidas devem também ter períodos de sono regulares, com repouso noturno suficiente e não devem consumir bebidas alcoólicas⁽¹¹⁾.

1.1.3 Tratamento farmacológico na epilepsia

No tratamento da epilepsia, os fármacos utilizados são os antiepiléticos que atuam em redes neuronais anormais sob vários mecanismos de ação. Assim sendo, temos os que bloqueiam a atividade excitatória dos recetores ionotrópicos ativados pelo ácido glutâmico (glutamato)/Aspartato (NMDA, do inglês *N-methyl-D-aspartate receptor*), onde se destacam o felbamato e o topiramato; os que atuam nos canais iônicos dependentes de voltagem, podendo ser nos canais de sódio como a fenitoína, a carbamazepina, a lamtrigina, a oxacarbazepina, a rufinamida e o acetato de eslicarbazepina; os que atuam nos canais de cálcio, onde se destacam a gabapentina, a pregabalina e a etosuximida, os que atuam nos canais de potássio, onde se enquadra a retigabina e finalmente os que aumentam a atividade dos recetores ácido gama-aminobutírico (GABA, do inglês *gamma-aminobutyric acid*), podendo aqui referir o fenobarbital, as benzodiazepinas (diazepam, clonazepam, o clorazepato dipotássico e lorazepam parentérico), a tiagabina e a vigabatrina ^(16, 17).

A eficácia da terapêutica antiepilética depende do tipo de crises. Alguns fármacos estão indicados apenas para um tipo de crise e caso sejam utilizados em outros tipos podem tornar-se prejudiciais, agravando assim a mesma. Na Tabela 3, abaixo representada, encontra-se um resumo dos fármacos que devem ser utilizados nos diferentes tipos de crises.

Tabela 3 - Fármacos utilizados em diferentes tipos de crises epilépticas ⁽¹⁸⁾

Tipo de crise	Tratamento 1ª linha	Tratamento alternativo
Crises Parciais	Carbamazepina	Gabapentina
	Fenitoína	Topiramato
	Lamotrigina	Levetiracetam
	Ácido Valproico	Zonisamida
	Oxcarbazepina	Tiagabina Primidona Felbamato Fenobarbital
Crises Generalizadas:		
Tônico-clônica	Fenitoína, Carbamazepina, Ácido Valpróico	Lamotrigina, Topiramato, Fenobarbital, Primidona, Oxcarbazepina, Levetiracetam
Ausência	Ácido valpróico, etossuximida	Lamotrigina, Levetiracetam
Mioclônica	Ácido valpróico, clonazepam	Lamotrigina, Topiramato, Felbamato, Zonisamida, Levetiracetam
Crises não classificadas	Valproato, Lamotrigina	Levetiracetam, Topiramato, Zonisamida

A pregabalina embora não esteja contemplada na tabela anterior está indicada como terapêutica adjuvante em adultos, ou crianças com mais de 12 anos, com crises parciais de epilepsia, com ou sem generalização secundária. ⁽¹⁹⁾

1.2 Pregabalina

Uma vez que o presente relatório tem por objetivo a deteção de pregabalina em fluídos biológicos, de forma mais aprofundada serão salientados alguns aspetos relacionados com a farmacocinética e mecanismo de ação deste composto.

A pregabalina (Figura 3) é um análogo do neurotransmissor GABA (Figura 4), com efeitos de analgésico, anticonvulsivo e ansiolítico. Comercialmente em Portugal é conhecida pelo nome de *Lyrica*[®] sendo fabricada e distribuída pela Pfizer. A pregabalina tem sido estudada no tratamento da neuropatia diabética, nevralgia pós-herpética, desordens generalizadas de ansiedade e nos adultos, como terapia adjuvante de crises epilépticas parciais⁽²⁰⁾.

Em 2004, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o seu uso no tratamento da neuropatia diabética e para a nevralgia pós-herpética. Em 2005, a foi aprovada como terapia adjuvante de crises epilépticas parciais e na fibromialgia e em 2006, foi aprovada para o tratamento de desordens de ansiedade, devido aos seus efeitos ansiolíticos^(20, 21).

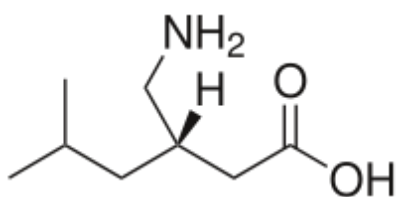


Figura 3 - Estrutura química da pregabalina

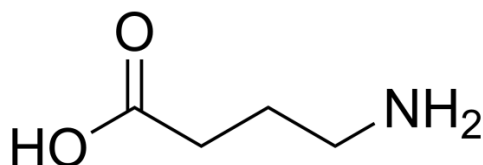


Figura 4 - Estrutura química do GABA

1.2.1 Dose

A dose inicial de pregabalina (*Lyrica*[®]) é de 150mg por dia, dividida em duas ou três tomas. Passados três a sete dias, a dose pode ser aumentada para 300mg e ir aumentando até atingir 600mg, sendo esta a dose máxima diária. Chegado o fim da terapia, o desmame deve ser feito gradualmente⁽²²⁾.

1.2.2 Farmacodinâmica

Como referido anteriormente, a pregabalina é um ligando $\alpha_2\text{-}\delta$ análogo ao GABA. O ligando $\alpha_2\text{-}\delta$ interfere com o influxo de cálcio mediado pelos canais de cálcio pré-sinápticos sensíveis à voltagem. Considera-se que os efeitos da pregabalina podem resultar da ligação desta a uma subunidade do ligando $\alpha_2\text{-}\delta$, diminuindo a libertação de neurotransmissores, como o glutamato e a norepinefrina⁽²³⁾.

Estudos realizados em ratos revelaram que a administração de pregabalina mostrou uma diminuição do neuropéptido (substância P) e da calcitonina em tecidos espinais inflamados. A informação baseada nestes estudos sugere que os efeitos analgésicos, anticonvulsionantes e ansiolíticos da pregabalina podem resultar destes mecanismos^(24, 25).

1.2.3 Farmacocinética

As características farmacocinéticas descritas na Tabela 4 são alusivas à administração de pregabalina por via oral, assim como a informação que se segue é referente a indivíduos saudáveis^(26, 27). Em voluntários em jejum, que receberam uma ou mais doses de pregabalina, verificou-se uma absorção rápida, já que a concentração plasmática máxima ($C_{\text{máx}}$) foi atingida em cerca de 1 hora, ocorrendo a absorção maioritariamente no cólon proximal. Os dados do estudo sugerem uma cinética previsível e linear^(26, 27).

A biodisponibilidade da pregabalina administrada por via oral é $\geq 90\%$ para todas as doses de pregabalina⁽²⁶⁾, onde a $C_{\text{máx}}$ e a área sob a curva (AUC, do inglês *area under the curve*) são proporcionais, quer para uma única dose (75-900 mg), quer para doses múltiplas (25-300 mg)⁽²⁷⁾. A ingestão de comida em simultâneo com a pregabalina não afeta a sua absorção, AUC, ou semi-vida de eliminação. Mas por outro lado diminui a $C_{\text{máx}}$ de 25 a 30% e também atrasa o tempo necessário para atingir essa concentração, passando de 1 hora para 3 horas, aproximadamente^(26, 28).

O volume de distribuição (V_d) da pregabalina é de 42,1 litros, depois da administração de uma única dose e como a pregabalina não se liga às proteínas plasmáticas, rapidamente atravessa a barreira hematoencefálica⁽²⁹⁾. Estima-se que a percentagem de pregabalina metabolizada nos humanos é irrelevante, sendo esta excretada na urina, 98% na forma inalterada⁽²⁸⁾.

O tempo de semi-vida de eliminação da pregabalina é de 6 horas (podendo variar de 4,6 a 6,8 horas) para todas as doses de pregabalina⁽²⁷⁾. A concentração de pregabalina no *steady-state* é atingida ao fim de dois dias, de iniciar a terapia. A *clearance* oral da pregabalina é de 56,5 mL/min e não é afetada pelo género, raça, ou por alterações hormonais como a menopausa^(29, 30).

Considerando 26 doentes, com função renal comprometida em diferentes estádios e avaliando os efeitos de uma única dose de 50 mg de pregabalina, podesse afirmar que:

- Doentes com uma *clearance* de creatinina superior a 60 mL/min apresentam uma *clearance* de pregabalina de 56,5 mL/min e um tempo de semi-vida de 9,1 horas⁽²⁹⁾ enquanto que, doentes com uma *clearance* de creatinina entre 30 e 60 mL/min, apresentam uma *clearance* de pregabalina inferior (30,6 mL/min) e um tempo de semi-vida superior (16,7 horas)⁽²⁹⁾;

- Em casos mais graves, doentes com uma *clearance* de creatinina entre 15 e 30 mL/min apresentam uma *clearance* de pregabalina de 16,7 mL/min e um tempo de semi-vida de 25,0 horas⁽²⁹⁾ e se a *clearance* de creatinina for inferior a 15 mL/min, os doentes apresentam uma *clearance* de pregabalina de 8,3 mL/min e um tempo de semi-vida de 48,7 horas⁽²⁹⁾.

Tabela 4 - Características farmacocinéticas da pregabalina administrada por via oral (15)

Características Farmacocinéticas da pregabalina	
Biodisponibilidade	≥90%
Ligação às proteínas plasmáticas	Mínima
Tempo plasmático máximo (T_{máx})	1,3 horas
Volume de distribuição	42,1 litros
Clearance oral	56,5 mL/min
Tempo para atingir a concentração em <i>steady-state</i>	≤2 dias
Metabolismo	Metabolismo hepático irrelevante
Eliminação	Renal (98% inalterada)
Tempo de semi-vida	≈6 horas

1.2.4 Interações Farmacológicas

Estudos *in vitro*⁽²⁰⁾ mostram que a administração de pregabalina, numa concentração 10 vezes superior à utilizada em ensaios clínicos, diminui a atividade enzimática do citocromo P450. Isto explica a razão pela qual não se relataram interações a nível hepático, envolvendo outros fármacos. Contudo, é possível a existência de interações fármaco-fármaco, resultantes de outros mecanismos⁽²⁰⁾.

O deslocamento da ligação às proteínas é uma interação fármaco-fármaco pouco provável, visto que, como já foi referido anteriormente, a capacidade de ligação da pregabalina às proteínas é irrelevante. A tabela 5 apresenta uma sinopse de um estudo sobre interações farmacocinéticas entre a pregabalina e outros fármacos utilizados em terapêuticas concomitantes⁽²⁰⁾.

Tabela 5 - Principais interações farmacocinéticas da pregabalina com fármacos utilizados em terapias concomitantes (15)

Classe Terapêutica/ Fármaco Associado	Efeito do fármaco nas propriedades farmacocinéticas da pregabalina	Efeito da pregabalina nas propriedades farmacocinéticas do fármaco
Antidiabéticos		
Glibenclamida	Nenhum	Nenhum
Insulina	Nenhum	Nenhum
Metformina	Nenhum	Nenhum
Antiepiléticos		
Carbamazepina	Nenhum	Nenhum
Lamotrigina	Nenhum	Nenhum
Fenobarbital	Nenhum	Nenhum
Fenitoína	Nenhum	Nenhum
Tiagabina	Nenhum	Nenhum
Topiramato	Nenhum	Nenhum
Ácido valpróico	Nenhum	Nenhum
Benzodiazepinas		
Lorazepam	Nenhum	Nenhum
Diuréticos		
Furosemida	Nenhum	Nenhum
Analgésico opióide		
Oxicodona	Nenhum	Nenhum
Contracetivos Oraís		
Etinilestradiol/Noretindrona	Nenhum	Nenhum

1.2.5 Efeitos Secundários

Como efeitos adversos da pregabalina, podemos referir:

O *angiodema*, com inchaço na cara, lábios, gengivas, língua e pescoço, que pode conduzir a um compromisso das vias respiratórias, causando risco de vida ⁽³¹⁾; *hipersensibilidade*, podendo originar reações como pieira, dispneia, erupção cutânea, urticária e bolhas ⁽³¹⁾; comportamentos e pensamentos suicidas (não é ainda conhecido o mecanismo que explica este risco e os dados disponíveis não excluem possibilidade de um aumento do risco para a pregabalina) ⁽¹⁹⁾, começando por sintomas de depressão, mudanças de humor ou de comportamento, pensamentos suicidas ou comportamentos de auto-mutilação ⁽³¹⁾; tonturas, sonolência, visão turva e outros sinais e sintomas a nível do sistema nervoso central ⁽³¹⁾; ganho de peso e edema ⁽³¹⁾ e elevação dos níveis da creatina quinase causando dores musculares, sensibilidade ou fraqueza, acompanhada de mal-estar ou febre ⁽³¹⁾.

Durante a terapia com pregabalina, deve evitar-se o consumo de álcool, uma vez que este pode influenciar a capacidade motora e potenciar os efeitos sedativos do mesmo ⁽³¹⁾ e no caso de uma interrupção abrupta no tratamento, o doente poderá apresentar sintomas de insónias, náuseas, enxaquecas, ansiedade, hiperidrose ou diarreia ⁽³¹⁾.

1.2.6 Toxicidade

Visto que, o presente trabalho se enquadra na área de toxicologia, será de extrema importância evidenciar os aspectos relacionados com a toxicidade associada à pregabalina. Posto isto são referidas algumas situações onde se pode constatar a toxicidade do fármaco estudado.

Carcinogénese

Estudos demonstraram um aumento na incidência de cancro vascular maligno dose-dependente em duas linhagens de ratos (B6C3F1 e CD-1) administrando pregabalina (200, 1000, ou 5000 mg / kg) na dieta, por dois anos. Não foi estabelecido nenhum limite até ao qual se pudesse administrar pregabalina, sem que houvesse incidência de cancro. Em dois estudos com ratos *wistar*, após a administração de pregabalina nas doses de 50, 150 ou 450 mg/kg em machos e 100, 300 e 900 mg/kg em fêmeas, comprovou-se que mesmo sendo as doses muito mais elevadas, do que a dose máxima recomendada em humanos, não se relatou nenhum caso de cancro ⁽³¹⁾.

Mutagénese

A pregabalina não mostrou ter efeitos mutagénicos *in vitro*, quer em bactérias, quer em mamíferos ⁽³¹⁾.

Infertilidade

Estudos realizados em ratos, onde foram administradas doses de pregabalina de 50 a 2500 mg/kg antes e durante o acasalamento com fêmeas não tratadas, relataram uma série de efeitos adversos reprodutivos e de desenvolvimento. Os efeitos adversos incluíam diminuição da contagem de espermatozóides e a motilidade do esperma, aumento de anormalidades no esperma, fertilidade reduzida, aumento da perda da pré-implantação do embrião, diminuição do tamanho da ninhada, diminuição do peso corporal fetal, e um aumento da incidência de malformações fetais. Nestes estudos de 3 a 4 meses, todos estes efeitos mostraram ser reversíveis ⁽³¹⁾.

Dermatopatia

Lesões na pele, evoluindo de um eritema para necrose, foram observadas em estudos repetidos de toxicidade em ratos e macacos. Estes efeitos foram presenciados, utilizando doses 3 a 8 vezes superiores à dose máxima recomendada ⁽³¹⁾.

Lesões oculares

Lesões oculares caracterizadas pela atrofia da retina (incluindo a perda de células fotorreceptoras) e/ou inflamação da córnea/mineralização foram observadas quando da existência de um AUC, duas vezes superior à dose máxima recomendada de 600 mg/dia, num estudo com ratos da raça *wistar*⁽³¹⁾.

2. Deteção de pregabalina em matrizes biológicas

2.1 Matriz biológica

Os fluidos biológicos são, do ponto de vista analítico, os materiais de eleição para qualquer análise. Para a determinação de fármacos antiepiléticos estão descritos vários métodos utilizando como principais amostras biológicas o sangue total, o plasma, o soro e a urina. O sangue e os seus derivados (após processamento do sangue total) assim como a urina são consideradas matrizes biológicas convencionais. Apesar do sangue ser a matriz de eleição para uma análise quantitativa, pois permite uma correlação direta com o estado clínico do indivíduo, apresenta algumas limitações como são o facto da necessidade de preparação prévia da amostra, as concentrações de fármaco podem ser muito baixas, o seu elevado conteúdo proteico que dificulta o processo de extração, para além de uma dificuldade acrescida na análise, devido à sua complexidade ⁽³²⁾.

2.2 Microextração em seringa empacotada

A microextração em seringa empacotada (MEPS) é uma técnica recente de preparação de amostras, desenvolvida por Abdel-Rehim nos laboratórios da AstraZeneca, em 2004 ⁽³³⁾. É considerada uma nova técnica de extração miniaturizada baseada nos princípios da extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), que possibilita uma ligação *on-line* da MEPS a vários sistemas cromatográficos, como a cromatografia gasosa (GC) e cromatografia líquida (LC), algo que com a SPE não se consegue ⁽³⁴⁾.

Comparando a técnica MEPS com outras técnicas, como a SPE ou a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*), esta é uma técnica que apresenta grandes vantagens, como por exemplo: a sua rápida execução, ser uma técnica relativamente simples, que pode ser utilizada tanto em amostras de água (amostra mais simples), como em amostras mais complexas, como urina, plasma ou em amostras com teor elevado de solventes orgânicos. Para além destas vantagens, ainda apresenta rendimentos de extração bastante elevados (60 a 98%), onde a quantidade de solventes orgânicos utilizados é mínima e a quantidade de amostra necessária pode variar entre 10µL-250µL, quando comparada com SPE ou LLE. Além disso, também apresenta a vantagem das colunas poderem ser reutilizadas, 30 a 100 vezes para extrações em plasma e urina e cerca de 400 vezes, se a amostra for água, enquanto que um cartucho de SPE normal apenas é de uma única utilização. A técnica MEPS pode ainda possibilitar a injeção directa de eluatos com volumes de 20-50µL de um solvente orgânico compatível com o sistema cromatográfico, facilitando assim o seu acoplamento *on-line* (34, 35).

O dispositivo de MEPS (figura 5) consiste em:

- Uma seringa semelhante à de injeção em LC (100-250 μ L);
- Um dispositivo *barrel insert and needle assembly* (BIN) que contém a sorbente de extração, protegido por dois discos (frits) quimicamente inertes de politetrafluoroetileno (PTFE), polietileno ou estruturas de aço inoxidável que impedem o movimento da fase estacionária.

Este sorbente de extração contém aproximadamente 2mg de fase estacionária. As fases estacionárias, ou BIN's, mais utilizadas são constituídas por adsorventes baseados em sílica (SIL) ou em sílicas modificadas (C2, C8, C18 e M1 (octilsilano)/SCX(troca catiónica forte))⁽³⁴⁾.

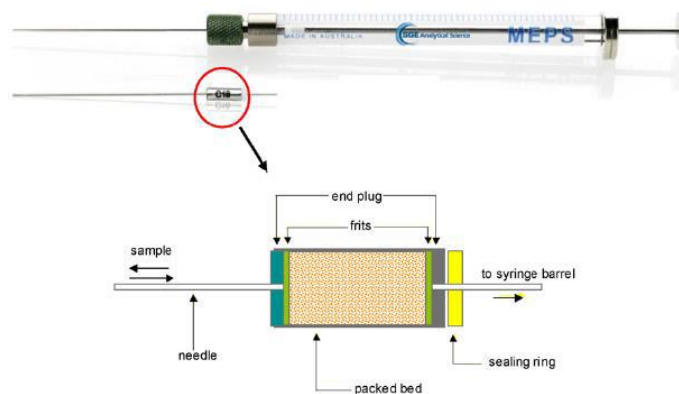


Figura 5 - Seringa MEPS (250 μ L) e BIN da SGE. Representação esquemática da coluna de extração⁽³⁶⁾

Existem várias condicionantes que podem afetar o desempenho da técnica como, a diluição e o pH da amostra, a composição das soluções de lavagem e de eluição, a quantidade e tipo de sorbente utilizado, sendo necessária a otimização destes parâmetros para o seu desenvolvimento⁽³⁴⁾.

Para a realização da técnica torna-se necessário a preparação da amostra, onde é realizada uma diluição desta para reduzir a viscosidade, nomeadamente no caso de fluídos biológicos sendo possível prevenir a coagulação e o bloqueio da coluna MEPS. Esta diluição pode ser realizada com água, tampão ou com ácido fórmico a 0,1% em água (diluição, 1:5 se for plasma e 1:25 se for sangue). Deve-se ainda remover macro partículas que não são necessárias para a análise, realizando uma centrifugação; ajustar o pH para reduzir a ionização de ácidos e bases fracas e quando se está a trabalhar em fase reversa e ter em atenção que, por vezes também é necessário a realização de uma desproteinação^(34, 35).

A primeira fase da técnica consiste na fase de acondicionamento, onde o suporte sólido é ativado com um solvente orgânico, como por exemplo, o metanol de forma a facilitar a retenção dos analitos. O ar presente na coluna é removido e posteriormente preenchido pelo

solvente. Após a passagem inicial do solvente orgânico faz-se passar pela coluna água (ou tampões aquosos) de forma a garantir o equilíbrio químico, estando assim ativada a coluna, para passar à fase seguinte ^(34, 35).

Numa segunda etapa, a amostra é aspirada pela seringa a uma velocidade relativamente baixa que está compreendida entre 10-20µL/s, para haver uma melhor interação entre o analito e o sorbente. Este processo deve ser repetido várias vezes de forma a concentrar os compostos no interior da coluna. ^(34, 35).

Na terceira fase (fase de lavagem), o objetivo é a remoção de proteínas e outros interferentes presentes na amostra, mantendo os analitos imobilizados no sorbente. Normalmente esta lavagem é feita com um volume reduzido, 50-100µL de água com 5 a 10% de um solvente orgânico, podendo ser metanol, isopropanol ou acetonitrilo ^(34, 35).

Na quarta fase, procede-se à eluição dos analitos, com o recurso a um solvente orgânico, como o metanol, isopropanol ou acetonitrilo, puro ou misturado com ácidos ou bases, numa concentração entre 0,1 a 3%, quebrando assim a ligação entre o sorbente e o analito, de forma a eluir o analito. O solvente escolhido deve ser capaz de eluir todos os analitos a partir do sorbente num pequeno volume (20-50µL). Normalmente o eluente deve ser volátil e miscível com o solvente da amostra ou fase móvel ^(34, 35).

O último passo é a lavagem da coluna para a sua reutilização. Esta lavagem é recomendável fazer-se com duas soluções distintas. Numa primeira fase, com um agente de lavagem forte, como por exemplo, o acetonitrilo ou o metanol, incluindo isopropanol numa concentração entre 10 a 20% associado a algum ácido ou base dependendo da natureza do analito; numa segunda fase, uma lavagem já mais fraca, que pode ser com água pura ou 5% de metanol em água. Estas lavagens conseguem assim diminuir ou eliminar os efeitos de *carryover*, assegurando uma correta reutilização da coluna de MEPS ^(34, 35).

2.3 Técnicas de separação e deteção

A pregabalina tem sido bastante utilizada para tratamento de diferentes patologias. No entanto, devido aos seus efeitos adversos e possíveis causas de toxicidade, que podem ser motivo de alerta, justifica-se de forma pertinente, a recolha de informação para saber como a detetar e quantificar. A tabela 6, abaixo representada, apresenta estudos publicados referentes à deteção e quantificação de pregabalina em amostras biológicas. Esta pesquisa foi realizada na base de dados da U.S. National Library of Medicine, National Institutes of Health (PubMed) limitada a artigos científicos publicados entre novembro de 2004 e junho de 2014. Foram utilizadas como palavras-chave: “pregabalin”, “HPLC”, “GC”, “extraction”.

Tabela 6 - Métodos de extração para determinação de pregabalina em amostras biológicas

Analito	Amostra (volume)	Técnica de extração	Modo de detecção	LOD ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	LLOQ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Recuperação %	Referência
PGB	Urina (300 μL)	SPME	GC-MS	0,019	0,063	83-98	(37)
PGB	Urina (300 μL)	DLLME	GC-MS	0,022	0,075	84-98	(37)
PGB	Plasma (500 μL)	SPE	HPLC-FLD	-	0,375	82,1	(38)
PGB	Sangue (100 μL)	SPE	UPLC-MSMS	0,004	0,008	96-98	(39)
PGB	Urina (100 μL)	SPE	UPLC-MSMS	0,004	0,008	95-98	(39)
PGB	Plasma (100 μL)	LLE	LC-MS/MS	-	0,001	73,1-77,5	(40)
PGB	Plasma (400 μL)	LLE	ESI-MS/MS	-	0,100	93-97	(41)
PGB	Soro (200 μL)	-	HPLC-FLD	-	0,53	≈ 100	(42)

Legenda: DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva; ESI, ionização com eletrospray; FLD, detetor de fluorescência; GC, cromatografia gasosa; HPLC, cromatografia líquida de alta eficiência; LLE, extração líquido-líquido; MS, espectrometria de massa; MS/MS, espectrometria de massa em tandem; PGB, pregabalina; SPE, extração em fase sólida; SPME, microextração em fase sólida; UPLC, cromatografia líquida de ultra eficiência.

2.4 Desenho experimental (DOE)

Podemos classificar como desenho experimental (DOE, do inglês design of experiments) um conjunto de dados que podem ser incorporados numa equação empírica, normalmente linear ou quadrática tendo em atenção as condições de interação, podendo assim recolher informação sobre o sistema (máximos, mínimos, tendências com que os parâmetros mudam). Esta ferramenta estatística é utilizada para a seleção dos valores referentes a cada fator, de modo a maximizar a informação sobre os parâmetros da equação. A aleatorização da ordem com que se realizam as experiências faz com que os resultados não sejam afetados de uma forma sistemática pelas variáveis não controláveis (como por exemplo, a temperatura do laboratório) ⁽⁴³⁻⁴⁵⁾.

Como nem sempre a terminologia associada é fácil para o investigador perceber, passam-se a citar alguns termos utilizados que se encontram descritos no *International Vocabulary of Metrology (VIM)* ⁽⁴⁶⁾.

Desenho experimental: Técnica estatística para o planeamento, condução, análise e interpretação de dados experimentais.

Resposta: Quantidade, medida ou observado que é o objeto de estudo ou de otimização. Exemplo: tempo de retenção, razão da área do analito/área do padrão interno.

Fator: O que pode afetar a resposta.

Nota: (1) fatores são considerados como controláveis ou não controláveis, dependendo se os níveis do fator podem ou não ser definidos no DOE. (2) fatores podem assumir valores discretos ou contínuos. Por exemplo a temperatura da coluna, a concentração de acetonitrilo, a fase estacionária.

Nível de um fator: Valor que um determinado fator assume num desenho experimental.

Nota: Os desenhos são descritos pelo número de parâmetros escolhidos para um fator. Por exemplo, desenhos de nível dois (coluna: C8, C18) ou desenhos de nível três (tempo de gradiente: 1, 3, 5 min; temperatura: 20, 25, 30 ° C).

Superfície de resposta: Estabelece a relação da resposta entre os valores de um ou mais fatores.

Nota: (1) a superfície de resposta geralmente corresponde a uma teia em duas ou três dimensões, em função da forma como os dados experimentais estão ajustados. (2) A metodologia da superfície de resposta (RSM) é utilizada para descrever a aplicação de desenhos experimentais, que dão superfícies de resposta a partir da qual a informação sobre o sistema é deduzida.

Modelo: Equação que relaciona os fatores com a resposta.

Efeito: Coeficiente de um termo num modelo.

Desenho fatorial: Desenho experimental em que as corridas são combinações de níveis de fatores.

Nota: (1) desenhos fatoriais completos contemplam todas as combinações possíveis de fatores nos níveis em estudos.

2.4.1. Porquê a utilização do Desenho Experimental?

Estratégias de otimização

Qualquer modelo ou técnica de otimização requer uma decisão inicial, onde se decide que tipo de técnica se vai utilizar, se uma abordagem intuitiva ou se conhecimento científico sobre o sistema em estudo. Foram adaptados coeficientes de mobilidade para observações com constantes de equilíbrio como fatores, tendo isto em conta os modelos teóricos credíveis que devem ser sempre considerados, para uma otimização mais fidedigna⁽⁴³⁾.

No entanto, no caso da modelação teórica não ser viável ou ser exagerada num sistema que requer uma simples otimização, o DOE tem a vantagem de facultar fórmulas experimentais que são independentes do próprio sistema. Mesmo quando o modelo disponível não é claramente quadrático, o DOE ainda pode dar um modelo ideal com uma escolha cuidadosa dos pontos do projeto. Uma vantagem também na otimização com DOE é saber o número de experiências que são necessárias realizar antes de começar o trabalho, podendo assim ter um melhor planeamento^(43, 45).

2.4.2 Questões que necessitam do desenho experimental

Existem duas questões que necessitam de um desenho experimental para serem solucionadas. A primeira é descobrir quais os fatores que podem afetar significativamente a resposta de uma experiência, e a segunda é encontrar os valores de um fator que vão otimizar a resposta do método^(43, 45).

2.4.3 Estudos de triagem e robustez

O objetivo destes estudos é realizar um número mínimo de experiências com um número máximo de fatores. Em DOE, o que é crucial é dispor de um modelo de efeitos principais com um desenho altamente fracionado, tendo em atenção que é necessário no mínimo dois níveis^(43, 45).

A criação de um rastreio é feita em duas situações possíveis. Numa primeira fase, estes desenhos são feitos como iniciação de uma otimização, certificando assim que os fatores a serem investigados contribuem significativamente para a resposta. Muitos destes desenhos fatoriais e fatoriais fracionados podem ser incorporados na otimização, poupando assim no número de experiências a realizar. Numa segunda fase, durante a validação do método, testa-se a robustez (pequenas alterações introduzidas intencionalmente) do mesmo. Esperando não ter nenhuma mudança significativa na resposta, permitindo a reivindicação de um método robusto, sem ter preocupações com interações e efeitos não lineares^(43, 45).

2.4.4 Escolha da resposta

Para se obter uma separação cromatográfica ótima é necessário ter em atenção todas as condicionantes envolvidas no processo. Uma outra vantagem do DOE é que várias respostas podem ser medidas (resolução, tempo, taxa de transferência) e os modelos desenvolvidos alcançam uma resposta ótima sem ser necessário experiências extra ^(43, 45).

2.4.5 Otimização de respostas

Numa experiência existem valores de resposta que são melhores do que outros. A otimização é o processo pelo qual se vai encontrar os melhores valores de resposta. Nem sempre se consegue um valor ótimo, como representa a figura 6a. Por vezes existem planaltos, em que há uma área de superfície de resposta, com aproximadamente o mesmo valor, como se pode ver na figura 6c. E por vezes também existem respostas como podemos verificar na figura 6b, onde os máximos de resposta se encontram nas extremidades ^(43, 45).

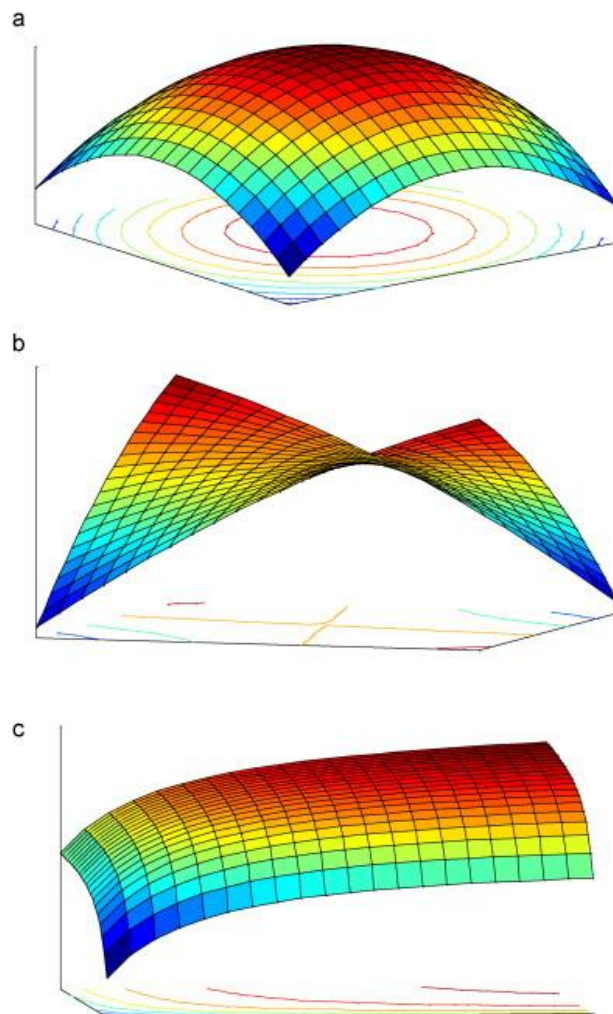


Figura 6 - Representação da superfície de resposta⁽⁴³⁾

Para as separações cromatográficas, é importante ter uma resposta aceitável que satisfaça os critérios mínimos e por isso o objetivo é muitas vezes localizar essa região (por exemplo, pH alto, a temperatura mais baixa), em vez de localizar o ótimo absoluto, fazendo assim do DOE um instrumento bastante preponderante ^(43, 45).

2.4.6 Codificação dos níveis de um fator

Os desenhos experimentais são escritos em muitas ocasiões tendo em conta variáveis codificadas. Por exemplo, para um desenho experimental, que necessite apenas de dois valores para uma variável (denominado *design* nível dois) os valores dos fatores normalmente são dados como uma série de +1 e -1 indicando qual o valor que deve ser escolhido para essa variável. Existem razões matemáticas para esta prática, mas a experiência na prática também demonstra que os desenhos podem ser escritos de forma independente ou independentemente de fatores específicos, em estudo. Para projetos em que há mais do que dois níveis, os valores indicam a magnitude relativa dos mesmos. Se o fator for a temperatura e a faixa a ser estudada for entre 50-100 °C, os pontos de desenho necessários seriam: 50, 57, 75, 93, 100. Note-se que isso só pode ser feito para ou com variáveis contínuas que podem ser ajustadas a valores predefinidos ^(43, 45).

2.4.7 Replicação e randomização

As medidas de respostas estão contaminadas pela variabilidade da randomização. Ao decidir sobre a significância dos efeitos, os valores devem ser comparados, tendo em conta a variância da repetibilidade da medição. Isso pressupõe que as experiências efetuadas no desenho sejam realizadas num curto período de tempo, no mesmo instrumento, pelo mesmo operador, ou seja em condições de repetibilidade de medição. A variância da repetibilidade já pode ser conhecida a partir de medidas de controlo de qualidade, mas geralmente realizam-se experiências, para estimar a variação aleatória do desenho. Cada experiência pode ser duplicada, mas, tipicamente, várias experiências são realizadas no centro do desenho ^(43, 45).

Dado que os valores dos fatores são alterados de forma sistemática, é importante que a ordem das experiências seja ao acaso. Isso anula qualquer falso efeito sistemático que se manifestaria com a ordem não aleatória das experiências, e assegura que as estimativas de variância da repetibilidade conseguem refletir, adequadamente, os aspetos aleatórios do processo ^(43, 45).

3. Justificação do tema

Embora a pregabalina seja um fármaco relativamente recente, o seu consumo tem vindo a aumentar nos últimos anos. Como já foi referido anteriormente nesta dissertação, em 2004 o seu uso foi aprovado pela FDA para o tratamento da neuropatia diabética e para a nevralgia pós-herpética; em 2005 foi também aprovada como terapia adjuvante de crises epiléticas parciais e no tratamento da fibromialgia e em 2006, devido aos seus efeitos ansiolíticos, foi aprovada para o tratamento de desordens de ansiedade.

Durante o estágio curricular tive a oportunidade de verificar que a *Lyrica*[®] é um medicamento de dispensa diária, ou seja, com um grande volume de vendas e estando ciente dos seus efeitos adversos, como por exemplo tendências suicidas aquando a toma deste medicamento cronicamente (situação que tem vindo a levantar algumas dúvidas aos profissionais de saúde que o prescrevem) torna-se imperativo a criação de metodologias que permitam a determinação do fármaco em amostras biológicas, com vista a identificar, quantificar e monitorizar o fármaco no organismo.

A análise de amostras biológicas com recurso a técnicas cromatográficas exige normalmente um pré-tratamento da amostra, uma etapa laboratorial que requer muito tempo e consome muitos recursos. Posto isto, é necessário desenvolver metodologias que diminuam os custos, que reduzam o tempo para a realização da análise e principalmente, que sejam acreditáveis e de fácil execução.

A microextração em seringa empacotada preenche todos estes requisitos referidos anteriormente, conseguindo uma boa análise com um baixo volume de amostra, que se traduz posteriormente numa redução no consumo de solventes orgânicos necessários, o tempo de extração é minorado e ainda existe a possibilidade de automatização de todo o processo.

4. Objetivo

O objetivo geral deste trabalho de investigação é o desenvolvimento e otimização de uma metodologia com recurso a MEPS para a deteção da pregabalina em fluidos biológicos recorrendo à cromatografia líquida acoplada a um detetor de fluorescência.

5. Materiais e Métodos

5.1 Padrões e Reagentes

- Acetonitrilo PROLABO® (*HPLC-grade*), Enzymatic (Santo Antão do Tojal, Portugal);
- Ácido Fórmico (CHOOH) (pro-analysis), Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal);
- Ácido Fosfórico (H₃PO₄) PROLABO®, VWR International (Carnaxide, Portugal);
- Água desionizada Milli-Q;
- Clorofórmio (pro-analysis), Enzymatic (Santo Antão do Tojal, Portugal)
- Hidróxido de amónio (NH₄OH) (pro-analysis), Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal);
- Isopropanol, (pro-analysis), Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal);
- Metanol LiChrosolv® (*HPLC-grade*), Enzymatic (Santo Antão do Tojal, Portugal);
- D-Norvalina (99% de pureza), Merk, VWR (Carnaxide, Portugal);
- Pregabalina a 1 mg/mL em metanol, LGC Promochem (Barcelona, Espanha);
- 4-cloro-7-nitro-1,2,3-benzoxadiazol (NBD-Cl), Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal)

5.2 Instrumentação

- Balança analítica da Sartorius S.A. - modelo CP225 (Lisboa, Portugal);
- Bomba de vácuo da GAST - modelo DOA-P505-BN (Califórnia, EUA);
- Câmara de refrigeração (a 4°C) da Dagard Ibérica (Odivelas, Portugal);
- Centrífuga Heraeus Multifuge IS-R- Thermo Electron Corporation (Lisboa, Portugal);
- Filtros de membrana de Nylon da Pall Corporation, VWR Internacional (Carnaxide, Portugal);
- Medidor de pH da Metrohm - modelo 744, Soquímica (Lisboa, Portugal);
- Micropipetas automáticas da Gilson (volumes máximos de 20, 200, 1000 e 5000µL), VWR Internacional (Carnaxide, Portugal);
- Placa de agitação magnética da J.P. Selecta - modelo ASINCRO, ILC (Porto, Portugal);
- Sistema de purificação de água Milli-Q Advantage A10® system da Milipore (Amadora, Portugal);
- Sistema de ultra-som da Elma - modelo Transonic 460/H, VWR Internacional (Carnaxide, Portugal);
- Vortéx Mixer da Labnet International - modelo 230V, VWR Internacional (Carnaxide, Portugal);
- Seringa MEPS (250 µL) da SGE - Analytical Science (Austrália) adquirida à ILC (Porto, Portugal);
- Coluna MEPS M1 da SGE - Analytical Science (Austrália) adquirida á ILC (Porto, Portugal);

5.3 Preparação de soluções

A solução padrão de trabalho de pregabalina foi preparada por diluição com metanol, a partir da solução em *stock* referida anteriormente (1 mg/mL). A concentração utilizada foi de 100 µg/mL. No caso do padrão interno, foi utilizada como solução de trabalho uma solução preparada uma 10 µg/mL. Para preparar esta solução, foi preparada inicialmente uma solução mãe de norvalina a 1mg/mL, pelo que foi pesado 1 mg de norvalina e dissolvido em metanol que foi adicionado até perfazer o volume final de 1 mL. A solução padrão de trabalho de norvalina foi preparada por diluição com metanol, a partir desta solução de 1 mg/mL.

Todas as soluções foram armazenadas a 4 °C, em frascos de vidro âmbar ao abrigo da luz.

Ácido clorídrico 0.1 M (10mL): Pipetou-se 84µL de ácido clorídrico para um balão volumétrico de 10mL de capacidade contendo 5mL de água Milli-Q. Adicionou-se água Milli-Q até perfazer o volume e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

Ácido fórmico (CHOOH) 0.1% em água (10mL): Pipetou-se 10µL de ácido fórmico para um balão volumétrico de 10mL de capacidade contendo 5mL de água Milli-Q. Adicionou-se água Milli-Q até perfazer o volume e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

Ácido fórmico (CHOOH) 1% em água (100mL): Pipetou-se 1mL de ácido fórmico para um balão volumétrico de 100mL de capacidade contendo 50mL de água Milli-Q. Adicionou-se água Milli-Q até perfazer o volume e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

Ácido fórmico (CHOOH) 1% em 10% de isopropanol em água (10mL): Pipetou-se 100µL de CHOOH e 1mL de isopropanol para um balão volumétrico de 10mL de capacidade contendo 5mL de água Milli-Q. Adicionou-se água Milli-Q até perfazer o volume e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

Ácido Fórmico (H₃PO₄) 10mM (1L): Para um volume final de 1L foram adicionados 678µL de ácido fórmico. Adicionou-se água Milli-Q até perfazer o volume do balão e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

Fosfato de Potássio (KH₂PO₄) 0,1M (100mL): Para um volume final de 100mL foram adicionadas 1,36 g de fosfato de potássio. Adicionou-se água Milli-Q até perfazer o volume do balão e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

Hidróxido de amónio (NH₄OH) 2% em metanol (10mL): Pipetou-se 200µL de NH₄OH para um balão volumétrico de 10mL de capacidade contendo 8mL de metanol. Adicionou-se metanol até perfazer o volume e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

Hidróxido de amónio (NH₄OH) 1% em acetonitrilo:metanol (1:1) (10mL): Pipetou-se 100µL de NH₄OH para um balão volumétrico de 10mL de capacidade contendo partes iguais de uma solução de actonitrilo: metanol até perfazer o volume e homogeneizou-se por inversão. A solução foi armazenada a 4 °C.

5.4 Matriz biológica

A matriz utilizada no presente trabalho foi plasma humano proveniente do excedente de transfusões sanguíneas que se encontravam fora do prazo do Instituto Português do Sangue e da Transplantação (Centro de Coimbra). Estas amostras foram armazenadas a -21 °C até à sua utilização.

5.5 Sistema cromatográfico e de deteção

Para a otimização e validação do método foi utilizado um sistema de *ultraperformance* UPLC (1290) com bomba binária e injetor automático da Agilent Technologies (Soquímica, Lisboa, Portugal). O sistema cromatografia líquida foi acoplado a um detetor de fluorescência modelo 1260 Infinity da Agilent Technologies (Soquímica, Lisboa, Portugal). Os compostos foram separados utilizando uma coluna de fase reversa Zorbax 300 SB-C18 (3,5 µm, 4,6 x 100 mm i.d.) da Agilent Technologies (Soquímica, Lisboa, Portugal).

5.6 Condições cromatográficas

No sistema UPLC-FLD, a separação dos compostos foi realizada em modo isocrático com recurso a uma fase móvel de ácido fosfórico 10 mM e acetonitrilo numa proporção 60:40 (v/v) e com um pH de 2.4.

A fase móvel foi filtrada e desgaseificada num banho de ultrassons, durante 15 minutos. A solução foi armazenada a 4 °, e antes da sua utilização permitiu-se que esta atingisse a temperatura ambiente.

O fluxo aplicado foi de 1mL/min a uma temperatura de 25 °C. O volume de injeção utilizado foi de 20 µL e a temperatura do injetor automático manteve-se constante a 4 °C. O comprimento de onda de emissão escolhido após otimização foi de 531nm e o de excitação foi de 460nm, tendo a corrida cromatográfica uma duração de 12 minutos.

6. Resultados e discussão

6.1 Otimização dos parâmetros cromatográficos

Com vista a alcançar uma boa resolução do pico cromatográfico a detetar, torna-se fundamental a otimização de uma série de parâmetros como são a fase móvel e as condições do detetor. Quanto a otimização da fase móvel, foi feita inicialmente uma seleção de algumas fases móveis com base na literatura publicada sobre a determinação de pregabalina, com vista a experimentar várias fases móveis até obter uma boa resolução cromatográfica. Inicialmente, o analito foi injetado isoladamente de forma a conhecer qual o tempo de retenção e o comprimento de onda de emissão e excitação ótimo para o analito. Numa segunda fase, injetou-se, juntamente com o analito com padrão interno.

Inicialmente, foi usada a fase móvel composta por 0,1% de ácido fórmico em água e metanol, numa proporção de (40:60), proposta por Karavadi et al., ⁽⁴⁷⁾. As condições utilizadas foram um fluxo de 0,7 mL/min e uma temperatura de coluna de 40°C. Utilizando o detetor de fotodiodos (DAD) não se obteve qualquer tipo de resposta.

Dada esta falta de resultados, recorreu-se a proposta de Martinc et al., ⁽⁴⁸⁾ onde propõem a utilização de um detetor de fluorescência em prol do DAD e a utilização de uma fase móvel composta por 0,2% de trietilamina em metanol e água numa proporção 10:90 e como reagente de derivatização a fluoescamina. Na falta de fluoescamina no laboratório, utilizou-se outro reagente de derivatização o orto-ftalaldeído (OPA). As condições utilizadas foram um fluxo de 1mL/min e uma temperatura de 40°C. Com esta tentativa também não se obteve nenhum pico referente à pregabalina.

Visto que não se conseguiu obter resultados com o reagente de derivatização referido anteriormente, seguiu-se uma proposta de B. Martinc et al., ⁽³⁸⁾, onde referem como reagente de derivatização o 4-cloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol (NBD-Cl). Utilizando uma fase móvel proposta por Chen et al., ⁽⁴⁹⁾ composta por 10mM de ácido fosfórico e acetonitrilo, adaptando a proporção da fase móvel para (60:40), com um fluxo de 1mL/min e uma temperatura de 25°C, obtivemos resultados satisfatórios que se encontram representados na figura 7 permitiram assim passar à fase seguinte da prática experimental.

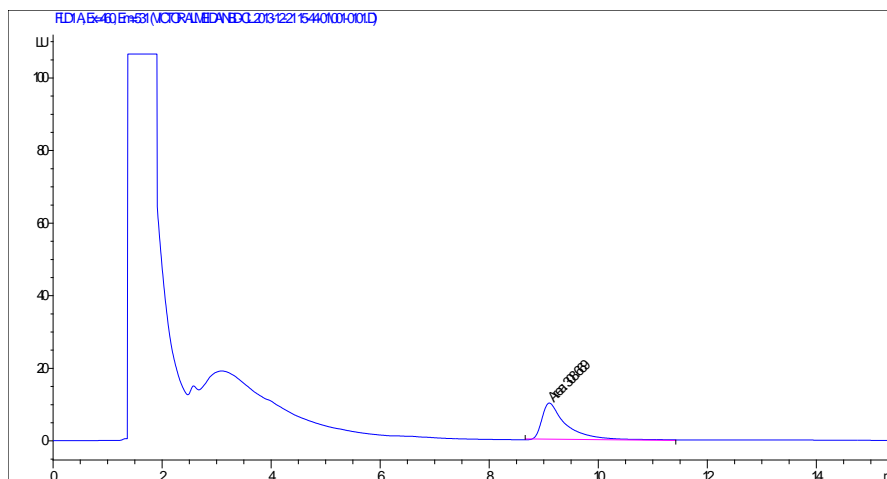


Figura 7 - Cromatograma relativo à pregabalina à concentração de 100 µg/mL (tempo de retenção de 9 minutos)

O primeiro pico corresponde à representação da frente de solvente.

Quanto à otimização do comprimento de onda de excitação e de emissão com as condições referida no parágrafo anterior, chegou-se à conclusão que o sinal era maior quando utilizado um comprimento de emissão de 531nm e um comprimento de excitação de 460nm. Ficando assim estas condições pré-definidas no detetor de fluorescência para os seguintes ensaios.

Relativamente à escolha de padrão interno. Este deve ser uma substância com características físico-químicas o mais próximo possível dos analitos que se pretendem analisar, para que o seu comportamento durante todo o processo seja semelhante, e principalmente, deve-se assegurar que este composto não está presente na matriz biológica conseguindo assim controlar a reprodutibilidade da análise. ⁽⁵⁰⁾

Nesta dissertação começámos por experimentar alguns padrões existentes no laboratório, que devido à sua estrutura poderiam ser candidatos a padrão. Como por exemplo 10,11-dihidrocarbamazepina, promazina, cetoprofeno e protriptilina. Não obtendo nenhum resultado com estes padrões, e recorrendo à literatura, recorreu-se à proposta de Vermeij *et al.*, ⁽⁴²⁾ que propunha a norvalina como padrão interno. Norvalina é um aminoácido com a seguinte fórmula química $C_5H_{11}NO_2$. Trata-se de um isómero do aminoácido valina mais comum. Como a maioria dos outros α -aminiácidos, a norvalina é quiral. ⁽⁵¹⁾ Após análise verificámos que a norvalina apresentava um bom pico cromatográfico, como podemos verificar na figura 8, com o pico de norvalina a sair aos 4 minutos, pelo que ficou definido como o padrão interno para esta dissertação.

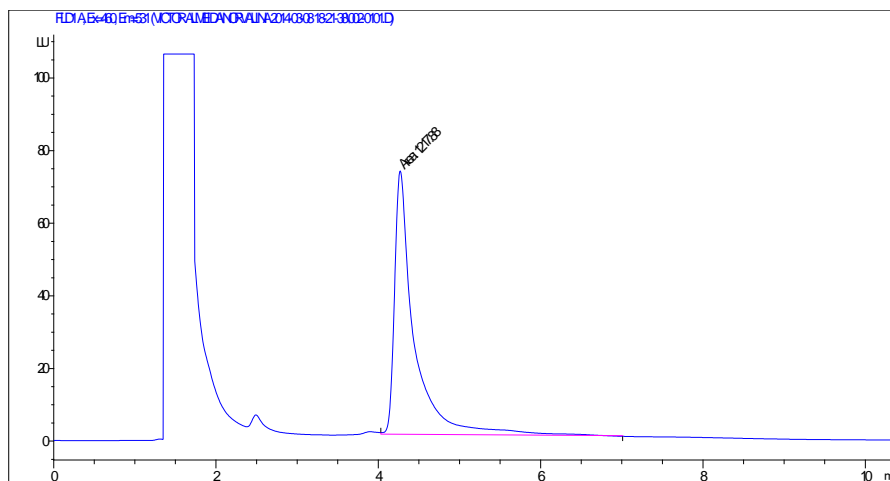


Figura 8 - Cromatograma relativo à norvalina à concentração de 10 µg/mL (tempo de retenção de 4 minutos)

6.2 Otimização das condições de derivatização

As condições de derivatização foram igualmente otimizadas, pelo que consultando a literatura seguiram-se as indicações propostas por Martinc *et al.*,⁽³⁸⁾ sendo estas:

Adicionar 0,2 mL da amostra e 0,2 mL de solução tampão que consiste em 0,620 g de ácido bórico e 0,750 g de cloreto de potássio foram dissolvidos com 100 ml de água. O pH foi ajustado para 9,5 com solução de hidróxido de sódio 0,1 N e o volume foi completado até 200 ml com água. Segue-se a adição de 0,1 mL de solução de NBD-Cl. A mistura foi aquecida a 80°C durante 10 minutos em banho-maria termostatizado. De seguida foi arrefecida com gelo e acidificada com 0,2 mL de solução 0,1 N de HCl. O derivado foi extraído com 5 ml de clorofórmio com agitação em vórtex.

Otimizando as condições de derivatização referidas no parágrafo anterior chegou-se à seguinte proposta.

- Juntar 0,1 mL da matriz, com 0,1mL do tampão. Inicialmente foi usado 0,1M de K₂PO₄ a pH 7, mas após otimização foi substituído por ácido fórmico a 1%;
- Adicionar 0.05mL de NBD-Cl;

Aquecer a mistura a 75°C (temperatura otimizada como se pode ver na comparação da figura 9 e 10) durante 10 minutos (tempo este também devidamente otimizado). A temperatura de derivatização foi assim otimizada juntamente com o tempo necessário para que a derivatização ocorresse. Conjugando estas duas variáveis a melhor relação temperatura/tempo foi a de 75°C/10 minutos.

Para a otimização dos parâmetros temperatura/tempo foi estudado um intervalo de de temperatura de 70 a 85°C e um intervalo de tempo de 5 a 20 minutos, em triplicado.

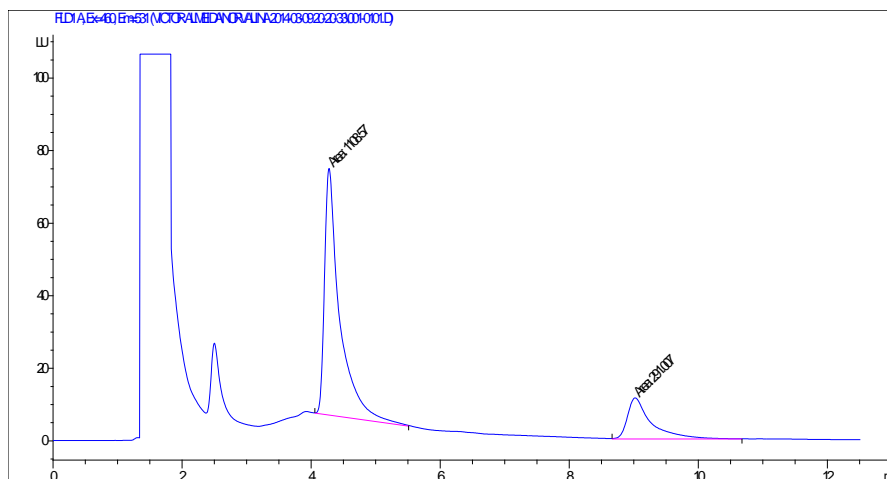


Figura 9 - Cromatograma relativo à norvalina e pregabalina às concentrações de 10 e 100 µg/mL respectivamente após derivatização a 70 °C.

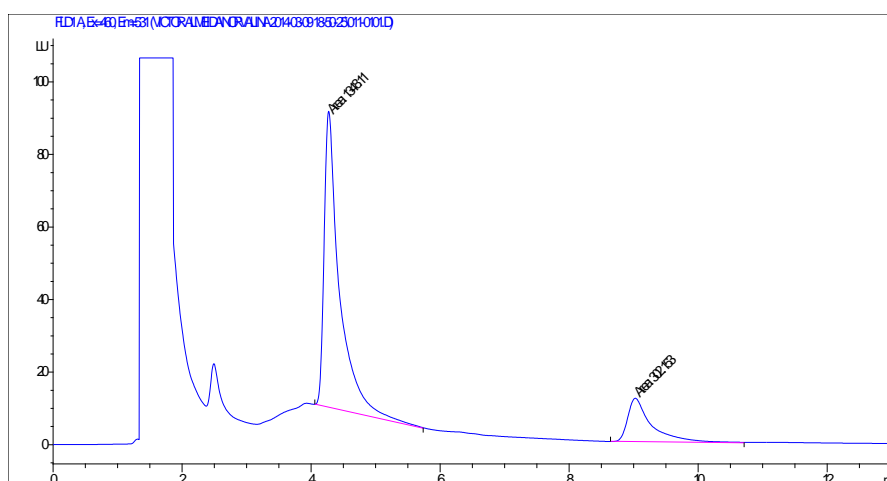


Figura 10 - Cromatograma relativo à norvalina e pregabalina às concentrações de 10 e 100 µg/mL respectivamente após derivatização a a 75 °C.

- De seguida a mistura foi arrefecida com gelo e acidificada com 0.1mL de HCl 0.1M;
- Após derivatização, a pregabalina foi extraída com clorofórmio. Nesta etapa fez-se igualmente uma otimização, de forma a verificar um aumento da área obtida e uma diminuição do volume de solvente de extração. Por comparação das figuras 11 e 12, verificou-se, que a extração com 2,5 mL de clorofórmio foi mais eficaz que a extração onde são utilizados 5 mL de clorofórmio. Para esta extração, a mistura foi agitada durante 15 minutos em rolos e posteriormente centrifugada durante 3 minutos a 3500 rpm.

- Finalmente, o clorofórmio foi evaporado sob corrente de azoto e o extrato foi resuspendido em 100µL de fase móvel para posterior análise.

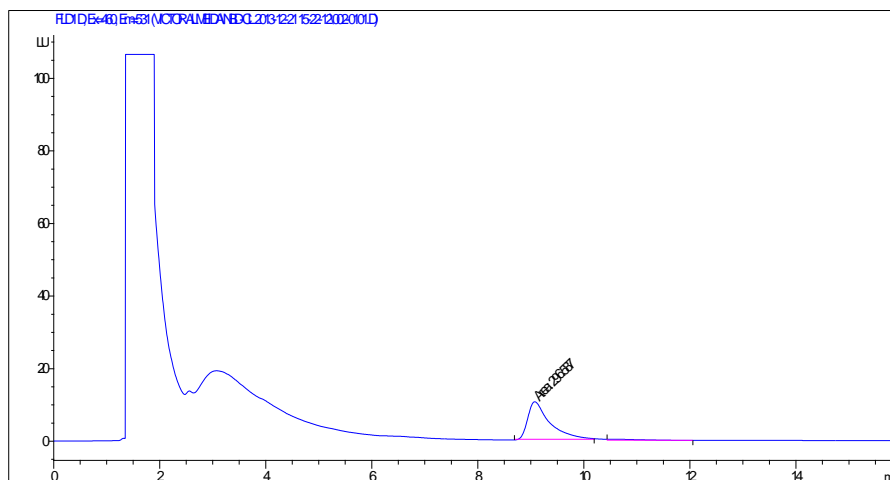


Figura 11 - Cromatograma relativo à pregabalina à concentração de 10 µg/mL após derivatização a 75 °C e posterior extração com 5 mL de clorofórmio

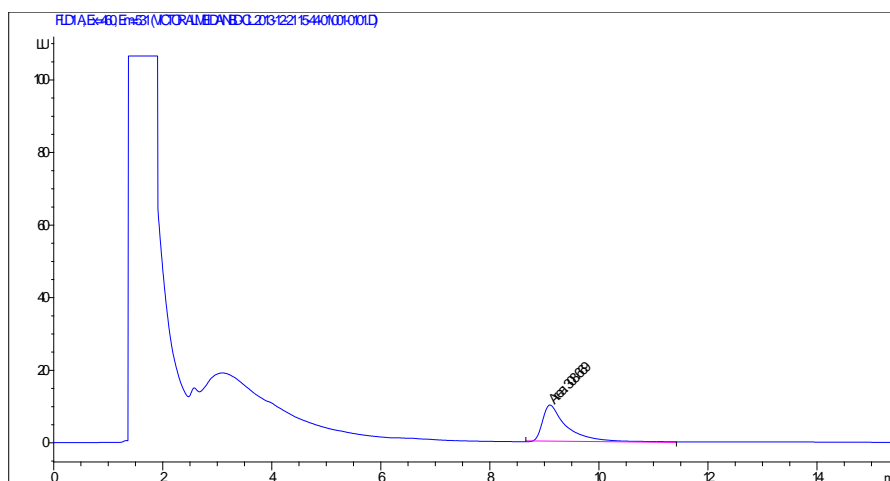


Figura 12 - Cromatograma relativo à pregabalina à concentração de 10 µg/mL após derivatização a 75 °C e posterior extração com 2,5 mL de clorofórmio

6.3 Otimização do processo de extração

Com o objetivo de minimizar o número de interferentes e aumentar a eficácia do processo analítico, foi utilizada, como referido anteriormente a técnica extrativa de microextração em seringa empacotada. Foram efetuadas experiências quer com colunas do tipo modo misto (M1-C₈/SCX), quer com colunas de fase reversa (C₁₈), forma a verificar qual apresentava maior eficiência de extração. Previamente ao processo de extração por MEPS, procedeu-se ao pré-tratamento da amostra utilizando o seguinte protocolo:

1) 200 μ L de amostra + 3mL de Ácido Fórmico 1%

2) Adição de 20 μ L de pregabalina a 100 μ g/mL

3) Agitação por movimentos de inversão/rotação (10 min)

No final do processo extrativo foi adicionado o padrão interno (20 μ L de norvalina a uma concentração de 10 μ g/mL).

Nas tabelas 7 e 8 estão representadas os protocolos utilizados nas diferentes técnicas experimentais para a otimização da técnica MEPS, quer com colunas M1, quer com colunas C18.

Tabela 7 - Protocolos de extração utilizados para otimização da técnica MEPS com as colunas M1 (n=3)

Técnica	Acondicionamento	Aspirações	Lavagem	Eluição	Lavagem antes da seguinte extração
T1	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 3% NH ₄ OH em acetoneitrilo: metanol (1:1)	4 vezes 100 µL 1% NH ₄ OH em acetoneitrilo: metanol (1:1)
	150 µL 2% HCOOH em água				4 x 100 µL 1% HCOOH em 10% isopropanol:água
T2	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 3% NH ₄ OH em metanol	4 x 100 µL 1% NH ₄ OH em acetoneitrilo: metanol (1:1)
	150 µL 2% HCOOH em água				4 vezes 100 µL 1% HCOOH em 10% isopropanol:água
T3	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 1% NH ₄ OH em acetoneitrilo: metanol (1:1)	4 vezes 100 µL 1% NH ₄ OH em acetoneitrilo: metanol (1:1)
	150 µL 2% HCOOH em água				4 vezes 100 µL 1% HCOOH em 10% isopropanol:água
T4	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 1% NH ₄ OH em metanol	4 vezes 100 µL 1% NH ₄ OH em acetoneitrilo: metanol (1:1)
	150 µL 2% HCOOH em água				4 vezes 100 µL 1% HCOOH em 10% isopropanol:água
T5	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 0,1% HCOOH em água	4 vezes 100 µL 1% NH ₄ OH em metanol	4 vezes 100 µL 1% NH ₄ OH em acetoneitrilo: metanol (1:1)
	150 µL 0.1% HCOOH em água				4 vezes 100 µL 1% HCOOH em 10% isopropanol:água

Tabela 8 - Protocolos de extração utilizados para otimização da técnica MEPS com colunas C₁₈ (n=3)

Técnica	Acondicionamento	Aspirações	Lavagem	Eluição	Lavagem antes da seguinte extração
T1	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 0,1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (1:1)	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (1:1)
	150 µL de água				4 vezes 100 µL 0,1% HCOOH em isopropanol:água (9:1)
T2	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 0,1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em em metanol	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (1:1)
	150 µL 2% NH ₄ OH em água				4 vezes 100 µL 0,1% HCOOH em isopropanol:água (9:1)
T3	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 0,1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em em acetoneitrilo	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (1:1)
	150 µL 2% NH ₄ OH em água				4 vezes 100 µL 0,1% HCOOH em isopropanol:água (9:1)
T4	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 0,1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL metanol	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (1:1)
	150 µL 2% NH ₄ OH em água				4 vezes 100 µL 0,1% HCOOH em isopropanol:água (9:1)
T5	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 0,1% HCOOH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (3:7)	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (1:1)
	150 µL 0,1% NH ₄ OH em água				4 vezes 100 µL 0,1% HCOOH em isopropanol:água (9:1)
T6	150 µL metanol	16 vezes (150 µL)	100 µL 0,1% NH ₄ OH em (5% isopropanol em água)	4 vezes 100 µL metanol:0.1% HCOOH em acetoneitrilo (60:40)	4 vezes 100 µL 0,1% NH ₄ OH em acetoneitrilo:metanol (1:1)
	150 µL 0,1% NH ₄ OH em água				4 vezes 100 µL 0,1% HCOOH em isopropanol:água (9:1)

Para avaliação posterior, os resultados foram expressos em termos de média e desvio padrão da razão área da pregabalina/área padrão interno. Estes resultados encontram-se para consulta no Anexo 3.

Após a análise dos mesmos, concluiu-se que a coluna a utilizar é a coluna de modo misto (M1) e a técnica sujeita ao desenho experimental (DOE) é a técnica número cinco. Desta forma, a técnica número cinco foi ainda sujeita a estudo com recurso ao desenho experimental na tentativa de aumentar ainda mais a recuperação da pregabalina.

6.4 Desenho experimental

Com base no desenho experimental (DOE) procedeu-se à otimização do processo de extração. Como já foi referido anteriormente, esta ferramenta estatística é utilizada para a seleção dos valores referentes a cada fator, de modo a maximizar a informação sobre os parâmetros da equação ⁽⁴³⁾. O tratamento dos resultados foi realizado com recurso ao programa estatístico MINITAB®, versão 17.

Os fatores analisados durante o estudo do DOE foram o número de aspirações, o volume de lavagem do sorbente, a percentagem de ácido fórmico utilizada na solução de lavagem, o número de eluições e a percentagem de hidróxido de amónio presente na solução de eluição. Para a avaliação das interações entre estes fatores foi realizado um planeamento fatorial fracionado (2^k-1) com controlo por ponto intermédio (em triplicado). Quando comparada com uma avaliação univariada, esta abordagem permite uma diminuição no número total de experiências, já que pelo recurso a um planeamento fatorial é possível avaliar de forma simultânea os efeitos de um elevado número de variáveis a partir de um número reduzido de ensaios experimentais.

Apresenta-se, na tabela 9 a matriz experimental utilizada neste trabalho os resultados expressos como a área de reposta calculada, tendo por base a seguinte razão:

$$\text{área relativa ou resposta} = \frac{\text{área da pregabalina}}{\text{área da norvalina}}.$$

Tabela 9 - Matriz experimental e resultados das extrações do DOE

Ordem da experiência	Aspirações (150 µL)	Porcentagem de Ácido fórmico	Volume de lavagem (µL)	Porcentagem de Hidróxido de amônio	Número de eluições (200 µL)	Resposta
2	30	0,1	20	0,1	2	0,037
19	20	1,55	135	1,55	6	0,037
13	10	3	20	3	10	0,061
11	10	0,1	250	3	10	0,049
7	10	3	250	3	2	0,030
15	10	3	250	0,1	10	0,022
1	10	0,1	20	3	2	0,046
16	30	3	250	3	10	0,034
3	10	0,1	250	0,1	2	0,048
12	30	0,1	250	0,1	10	0,037
4	30	0,1	250	3	2	0,037
8	30	3	250	0,1	2	0,043
5	10	3	20	0,1	2	0,066
14	30	3	20	0,1	10	0,068
6	30	3	20	3	2	0,056
10	30	0,1	20	3	10	0,058
17	20	1,55	135	1,55	6	0,050
18	20	1,55	135	1,55	6	0,045
9	10	0,1	20	0,1	10	0,056

A resposta foi obtida como a razão entre a área absoluta do pico de pregabalina e a área do pico do padrão interno que foi adicionado no fim de cada extração.

Com base na resposta obtida, encontra-se abaixo representado o diagrama de *Pareto* (figura 13) obtido pela análise dos resultados.

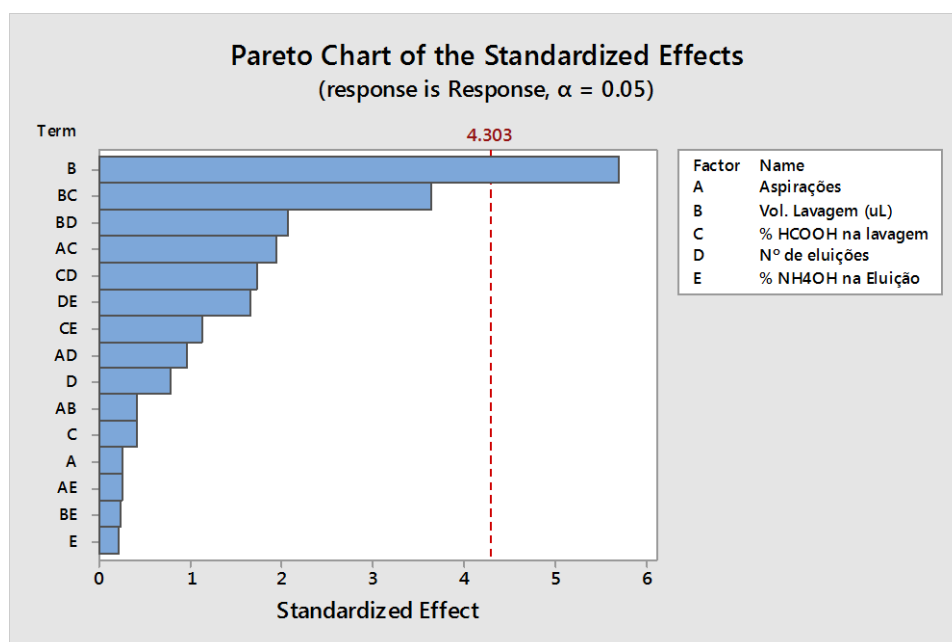


Figura 13 - Diagrama de Pareto ilustrando os fatores que influenciam o processo de extração para a pregabalina

Na figura 13 estão contemplados os efeitos de cada um dos fatores e interações entre eles por ordem decrescente de magnitude. Os fatores que ultrapassam a linha traçada (nível de significância de 5%) no gráfico são denominados estatisticamente significativos, podendo assim concluir que têm influência na resposta.

Analisando o diagrama, chegamos à conclusão de que o único fator que apresenta significado estatístico (nível de confiança de 95%), capaz de alterar a resposta final, é o volume de lavagem que, como podemos constatar, ultrapassa a linha estabelecida como o limite.

A análise feita a partir do diagrama de *Pareto* pode ser complementada com o diagrama dos efeitos principais representado na figura 14.

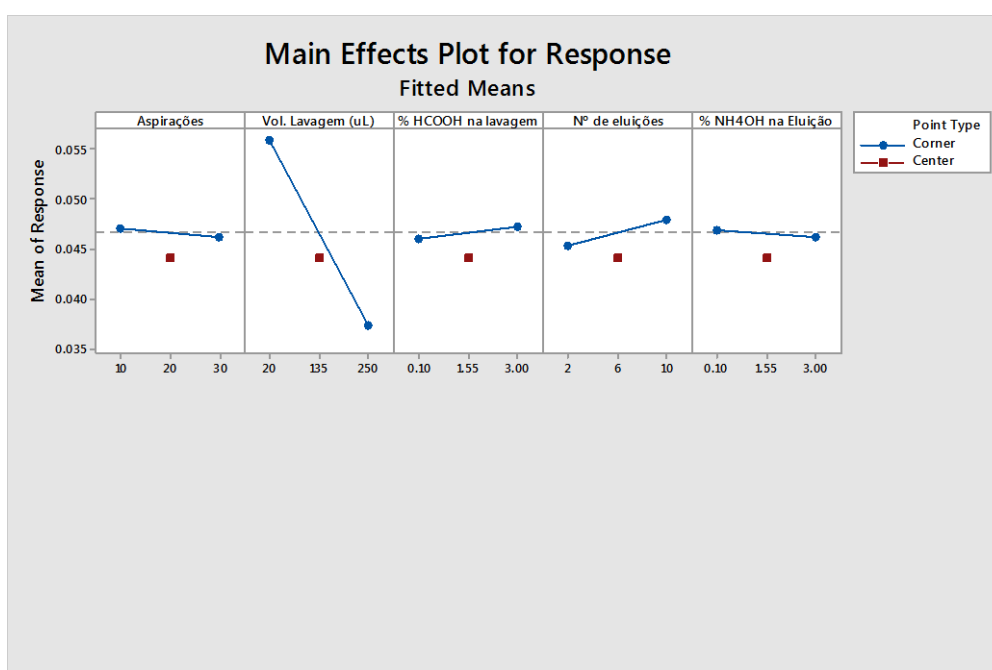


Figura 14 - Gráfico dos efeitos principais para a pregabalina

Ao analisar o gráfico anterior, relativo aos efeitos principais da pregabalina, verificamos que o número de aspirações, as porcentagens de ácido fórmico, do hidróxido de amônio e o número de eluições não apresentam significância estatística, a linha dos efeitos médios não apresenta declive acentuado. Esta situação não é observada no parâmetro volume de lavagem, onde se obtém maior resposta com um volume de 20 μL do que com um volume superior (250 μL).

A influência na resposta originada pelas interações entre os vários fatores também foi estudada. Este resultado encontra-se representado na figura 15.

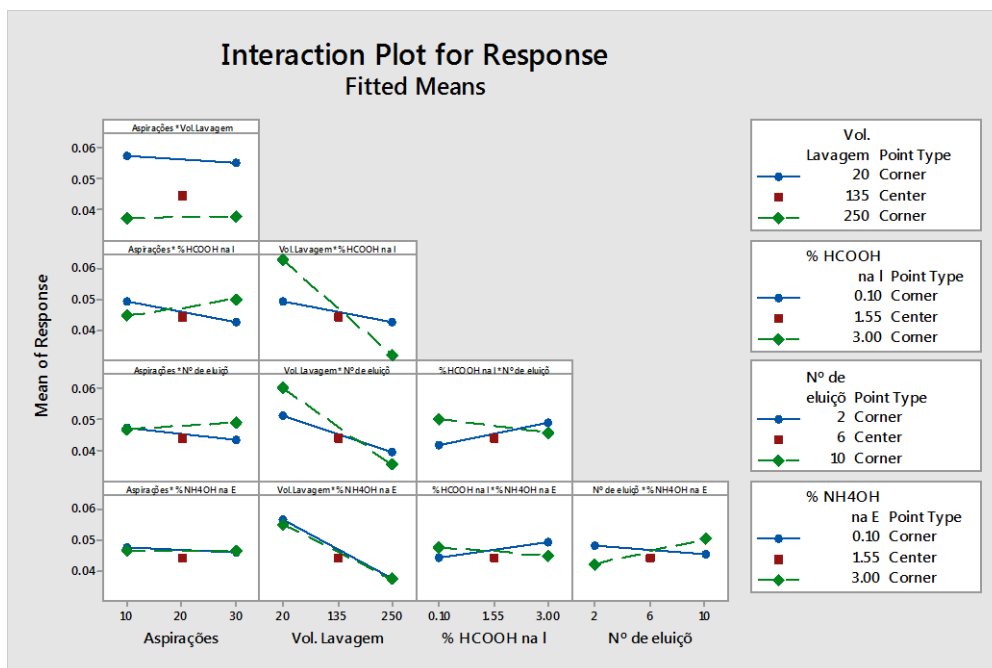


Figura 15 - Gráfico representativo das interações entre os vários parâmetros para a pregabalina

Com a ajuda da figura 15 (*Interaction Plot*) foi possível avaliar as interações que duas variáveis independentes têm uma com a outra, quando as duas variáveis se cruzam. Por interpretação e reforçando a resposta obtida pelo gráfico de *Pareto*, podemos afirmar que existe interação entre o volume de lavagem e a percentagem de ácido fórmico. Foi igualmente possível avaliar que existem mais interações entre os fatores representados no gráfico, mas não são estatisticamente significativos.

6.5 Superfície de resposta

Tendo em conta que o desenho experimental não foi conclusivo, devido à existência de interações entre os fatores, procedeu-se, de seguida com a realização da superfície de resposta (RSM), um modelo bioestatístico utilizado, quando a resposta é influenciada por vários fatores e se pretende realizar uma otimização da mesma ⁽⁵²⁾. Com apoio do programa Minitab® v.17, criou-se uma matriz experimental sendo que as variáveis utilizadas foram as mesmas utilizadas no desenho experimental (número de aspirações, número de lavagens, percentagem de ácido fórmico, número de eluições e percentagem de hidróxido de amónio). No entanto, na superfície de resposta, utilizou-se um planeamento fatorial, com pontos extremos e ponto intermédio em triplicado. Na tabela 10 encontra-se representada a matriz utilizada.

Tabela 10 - Matriz experimental e resultados das extrações do RSM.

Ordem da experiência	Número de aspirações (150 µL)	Porcentagem de Ácido fórmico	Volume de lavagem (µL)	Porcentagem de Hidróxido de amônio	Número de eluições (200 µL)	Resposta
26	11	1,55	365	1	10	0,046
27	11	-1,35	135	1	10	0,031
30	11	1,55	135	1	18	0,078
33	11	1,55	135	1	10	0,108
25	11	1,55	-95	1	10	0,118
24	21	1,55	135	1	10	0,063
29	11	1,55	135	1	2	0,047
23	1	1,55	135	1	10	0,038
31	11	1,55	135	-1	10	0,056
28	11	4,45	135	1	10	0,048
32	11	1,55	135	3	10	0,047
5	6	3	20	0	6	0,087
6	16	3	20	2	6	0,085
2	16	0,1	20	0	6	0,071
14	16	3	20	0	14	0,081
16	16	3	250	2	14	0,045
11	6	0,1	250	2	14	0,073
4	16	0,1	250	2	6	0,067
13	6	3	20	2	14	0,107
22	11	1,55	135	1	10	0,054
9	6	0,1	20	0	14	0,055
8	16	3	250	0	6	0,025
12	16	0,1	250	0	14	0,047
15	6	3	250	0	14	0,021
10	16	0,1	20	2	14	0,098
19	11	1,55	135	1	10	0,070
20	11	1,55	135	1	10	0,087
1	6	0,1	20	2	6	0,071
7	6	3	250	2	6	0,052
17	11	1,55	135	1	10	0,052
21	11	1,55	135	1	10	0,072
3	6	0,1	250	0	6	0,025
18	11	1,55	135	1	10	0,059

Nota: Todos os valores apresentados na tabela com valor negativo, foram assumidas como sendo zero.

A resposta foi obtida como a razão entre a área absoluta do pico de pregabalina e a área do pico do padrão interno que foi adicionado no fim da extração. Com base nessa resposta, são apresentados nas figuras 16-26 os gráficos de superfície de resposta obtidos em função das variáveis em estudo.

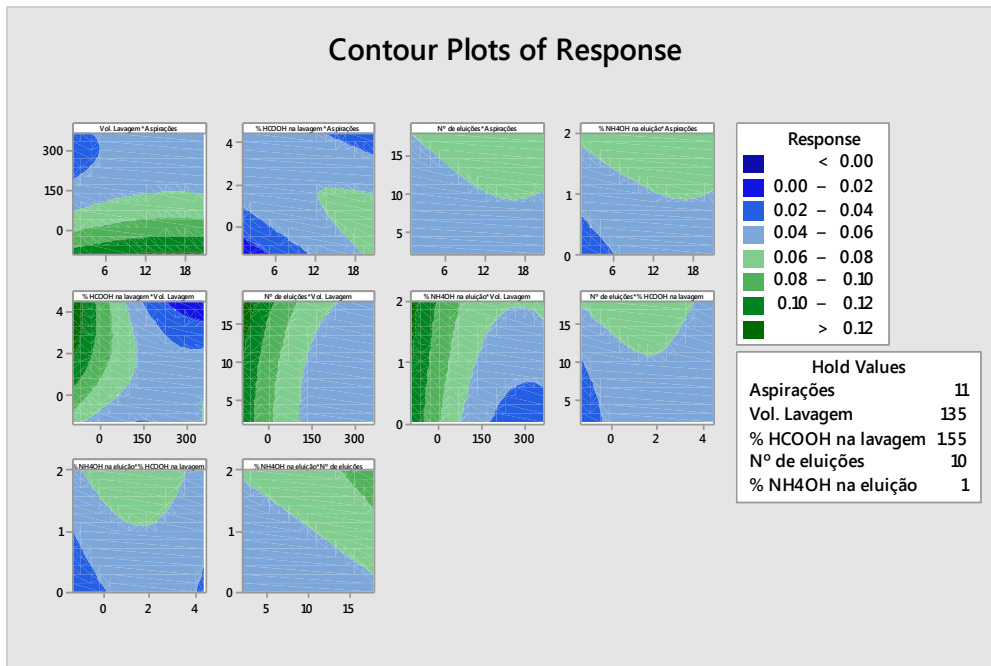


Figura 16 - Countour Plot da pregabalina

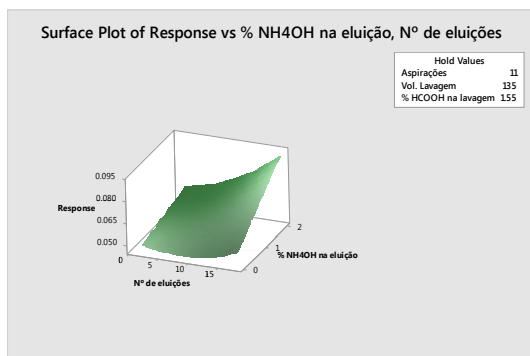


Figura 17 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição, vs. número de eluições

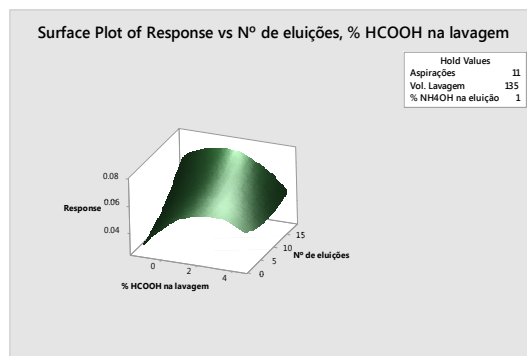


Figura 19 - Gráfico de Superfície - Número de eluições vs. percentagem de ácido fórmico na lavagem

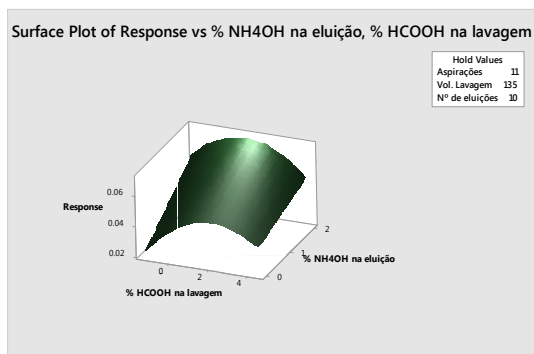


Figura 18 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição vs- percentagem de ácido fórmico na lavagem

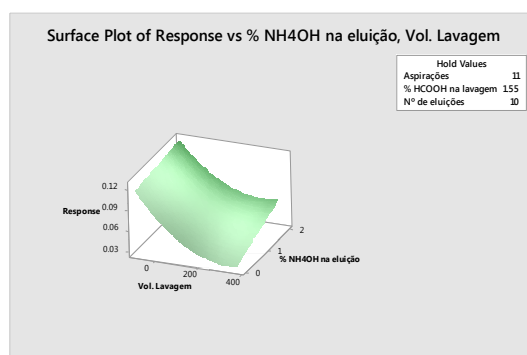


Figura 20 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição vs. volume de lavagem

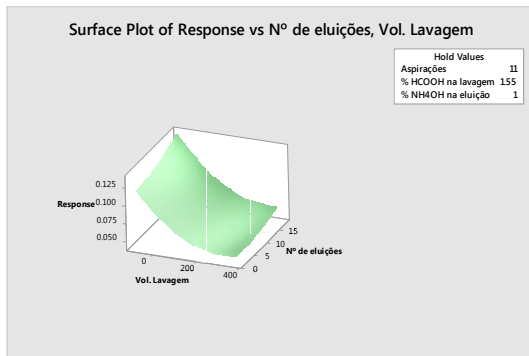


Figura 21 - Gráfico de Superfície - Número de eluições vs. volume de lavagem

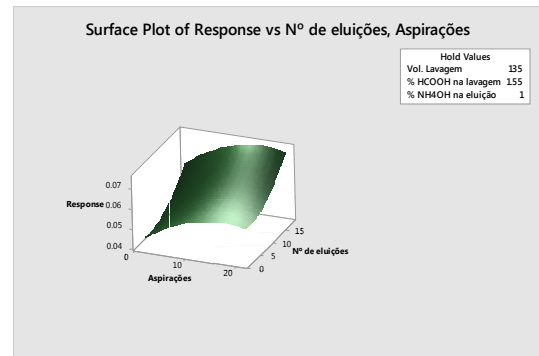


Figura 24 - Gráfico de Superfície - Número de eluições vs. número de aspirações

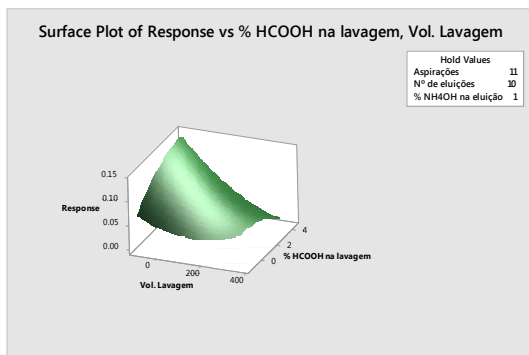


Figura 22 - Gráfico de Superfície - Percentagem de ácido fórmico na lavagem vs. volume de lavagem

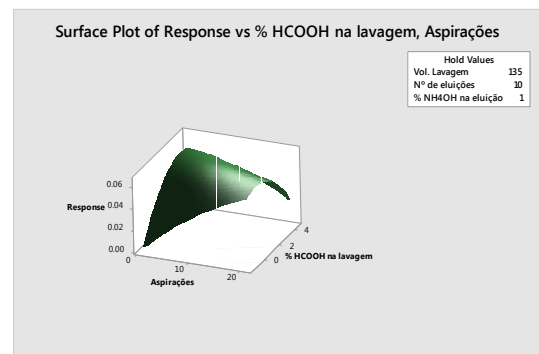


Figura 25 - Gráfico de Superfície - Percentagem de ácido fórmico na lavagem vs. número de aspirações

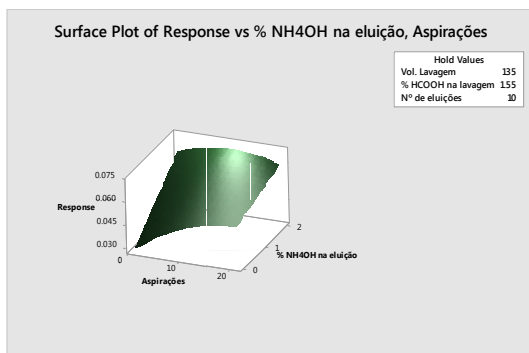


Figura 23 - Gráfico de Superfície - Percentagem de amónia na eluição vs. número de aspirações

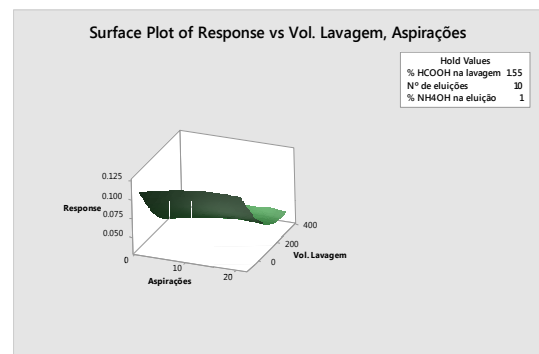


Figura 26 - Gráfico de Superfície - Volume de lavagem vs. número de aspirações

Pela interpretação dos gráficos de RSM, apresentados anteriormente, podemos verificar que o modelo bioestatístico mostrou resultados bastante satisfatórios, uma vez que, se obtiveram gráficos com curvas de resposta bastante acentuadas. Desta forma, recorreu-se à avaliação dos coeficientes de correlação superfície de resposta e construiu-se um gráfico da resposta da pregabalina em função da condição ótima para cada variável (figura 27).

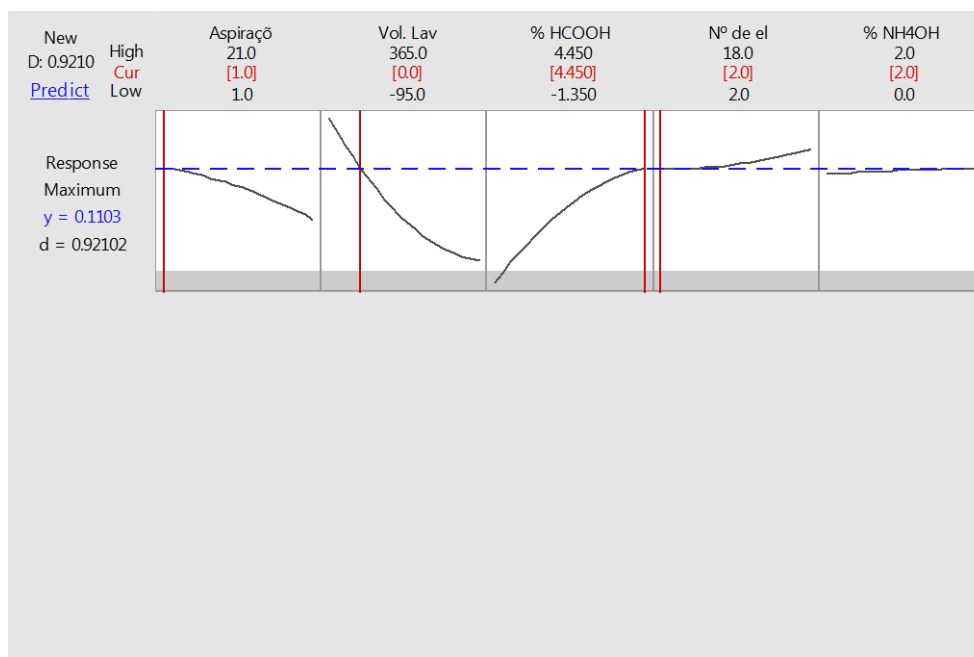


Figura 27 - Gráfico da solução compromisso ótima para a pregabalina (y, resposta esperada; cur, condição otimizada)

Pela análise da figura 27, podemos inferir as condições ótimas para cada fator (número de aspirações, número de lavagens, percentagem de ácido fórmico, número de eluições e percentagem de amónia). Com estas condições foi efetuado um ensaio em triplicado destas condições para comprovar que a resposta teórica (y, figura 27) é igual à resposta real obtida pela extração por MEPS (tabela 11).

Tabela 11 - Inexatidão ou erro relativo médio da área esperada e obtida para a solução compromisso ótima da extração da pregabalina

Pregabalina (PGB)	
Resposta Esperada	0.110
Resposta Obtida	0.105 +/- 0.015
Inexatidão	-4.88%

* Resultados expressos como média +/- desvio padrão

Com os resultados anteriormente apresentados foi calculado o erro relativo médio (BIAS), que avalia a inexatidão de um método, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Inexatidão} = \frac{\text{resposta obtida} - \text{resposta esperada}}{\text{resposta esperada}} * 100.$$

Ao comparar a área esperada com a área observada experimentalmente com recurso ao erro relativo médio, observa-se que os valores reais se aproximam dos teóricos. Pois, o valor do BIAS é aceitável se for inferior a $\pm 15\%$.

Posto isto, concluímos que a otimização da técnica de extração de pregabalina com o recurso à MEPS encontra-se finalizada, podendo assim afirmar que, as condições finais de extração são:

1. Aspiração e acondicionamento - 150µL de metanol + 150µL de 0,1% HCOOH em água;
2. Aspirações - uma aspiração (150µL);
3. Lavagem - Sem lavagem;
4. Eluição - 18vezes 200µL de 2% NH₄OH em metanol;
5. Reutilização do sorbente - 4 vezes 100µL de NH₄OH em acetonitrilo:metanol (1:1) e 4 vezes 100µL de 1% HCOOH em 10% de isopropanol em água.

Como resultado final, utilizando estas condições de extração anteriormente descritas obtivemos o seguinte cromatograma, em baixo representado na figura 28, sendo que o primeiro pico corresponde à Norvalina e o segundo corresponde à pregabalina.

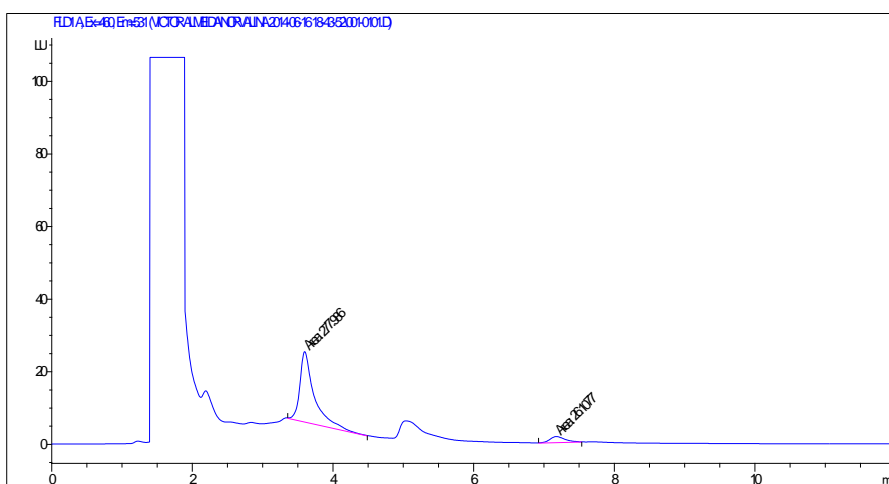


Figura 28 - Cromatograma obtido para a pregabalina a 100 µg/mL e a norvalina a 10 µg/mL usando as condições finais de extração.

7. Perspetivas futuras e conclusões

A epilepsia inclui doentes de todas as idades e de ambos os sexos. Um seguimento farmacoterapêutico adequado e a minimização dos efeitos secundários podem prevenir crises epiléticas, aumentando assim o bem-estar do doente.

Com o fim de alcançar o objetivo proposto e anteriormente referido neste relatório, propõe-se um método de fácil e rápida execução, baseado na microextração e análise por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a um detetor de fluorescência para a determinação de pregabalina em amostras de plasma. Esta metodologia traduz-se num esforço de tentar melhorar a qualidade de vida dos doentes que estejam a ser medicados com pregabalina.

Para a otimização desta metodologia foi utilizado o desenho experimental. Este mostrou ser uma ferramenta bastante útil na otimização, diminuindo consideravelmente o número de experiências a efetivar, conduzindo assim a uma poupança de tempo e reagentes.

A superfície de resposta revelou também ser uma excelente ferramenta na otimização da extração. Visto que, como se detetou uma interação significativa no DOE foi necessário a utilização de um modelo bioestatístico capaz de otimizar uma resposta, mesmo estando esta influenciada por vários fatores.

A junção destas duas ferramentas conduziu a uma resposta ótima (teórica), que foi testada experimentalmente, obtendo um valor de inexatidão de 4,88%.

Posto isto, é possível afirmar que, a técnica de extração proposta pode resultar numa poderosa ferramenta no âmbito da monitorização terapêutica, na prática clínica, conseguindo oferecer uma resposta rápida ao doente sujeito a esta análise.

É de salientar ainda que, este é o primeiro estudo que permite identificar a pregabalina em amostras de plasma com recurso à MEPS.

8. Bibliografia

1. Hart, YM; Sander, JW; (2008) Epilepsy: questions and answers. (2nd ed.). Merit Publishing: Weybridge.
2. Epilepsia. Bial. Consultado a 4 de Setembro de 2014, Disponível em: http://www.bial.com/pt/a_sua_saude.10/areas_terapeuticas_bial.13/sistema_nervoso_bial.37/epilepsia_bial.38/epilepsia.a62.html.
3. Gluckman BJ, Nguyen H, Weinstein SL, Schiff SJ. Adaptive electric field control of epileptic seizures. *The Journal of Neuroscience*. 2001;21(2):590-600.
4. Wu Y, Song Z. Neuronal network and energy burst in epilepsy. *Neuroscience*. 2014.
5. Morimoto K, Fahnstock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Progress in Neurobiology*. 2004;73(1):1-60.
6. Hall D, Kuhlmann L. Mechanisms of seizure propagation in 2-dimensional centre-surround recurrent networks. *PLoS One*. 2013;8(8):e71369.
7. Bertram EH. Neuronal circuits in epilepsy: do they matter? *Experimental neurology*. 2013;244:67-74.
8. Sanchez JC, Mareci TH, Norman WM, Principe JC, Ditto WL, Carney PR. Evolving into epilepsy: Multiscale electrophysiological analysis and imaging in an animal model. *Experimental Neurology*. 2006;198(1):31-47.
9. Jiruska P, de Curtis M, Jefferys JG, Schevon CA, Schiff SJ, Schindler K. Synchronization and desynchronization in epilepsy: controversies and hypotheses. *The Journal of Physiology*. 2013;591(Pt 4):787-97.
10. Pavlov I, Kaila K, Kullmann DM, Miles R. Cortical inhibition, pH and cell excitability in epilepsy: what are optimal targets for antiepileptic interventions? *The Journal of Physiology*. 2013;591(Pt 4):765-74.
11. Epilepsia. Harvard medical school- Portugal program. Consultado a 7 de Julho de 2014. Disponível em: <http://hmsportugal.wordpress.com/2012/05/23/epilepsia/>
12. Wells GB DJ, Schwinghammer, Hamilton CW. *Pharmacotherapy Handbook*. Herszterg CA, Roman R (ed). 7^o edition, McGraw Hill.
13. Wilson E. Epilepsia. Consultado a 1 de Agosto de 2014. Disponível em: <http://enfermagemnew.blogspot.pt/2013/08/crise-convulsiva.html>.
14. Epilepsia. Autor Desconhecido. Consultado a 1 de Agosto de 2014. Disponível em: https://fbcdn-photos-e-a.akamaihd.net/hphotos-ak-xaf1/v/t1.0-0/s200x200/408045_191907927580783_1249714768_n.jpg?oh=10a058b0605719e2863549723709d20a&oe=54CBDAB0&__gda__=1422710167_c95a606f07258582eca7a16f91b5327c.
15. Saxena V, Nadkarni V. Nonpharmacological treatment of epilepsy. *Annals of Indian Academy of Neurology*. 2011;14(3):148.
16. Boison D. Cell and gene therapies for refractory epilepsy. *Current Neuropharmacology*. 2007;5(2):115-25.
17. Brodie MJ, Covanis A, Gil-Nagel A, Lerche H, Perucca E, Sills GJ, et al. Antiepileptic drug therapy: does mechanism of action matter? *Epilepsy & behavior* 2011;21(4):331-41.
18. Seizure Disorders. Manual Merk. Consultado a 28 de julho de 2014. Disponível em : http://www.merckmanuals.com/professional/neurologic_disorders/seizure_disorders/seizure_disorders.html.
19. Agency EM. RCM: Lyrica. Consultado a 29 de Setembro de 2014. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000546/WC500046602.pdf.
20. Tassone DM, Boyce E, Guyer J, Nuzum D. Pregabalin: a novel gamma-aminobutyric acid analogue in the treatment of neuropathic pain, partial-onset seizures, and anxiety disorders. *Clinical Therapeutics*. 2007;29(1):26-48.
21. Crofford LJ, Rowbotham MC, Mease PJ, Russell IJ, Dworkin RH, Corbin AE, et al. Pregabalin for the treatment of fibromyalgia syndrome: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis and Rheumatism*. 2005;52(4):1264-73.
22. Lyrica -EMA/H/C/000546 -II/0063. European Medicines Agency. Consultado a 26 de Junho de 2014. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000546/human_med_000894.jsp&mid=WC0b01ac058001d124

23. Stahl SM. Mechanism of action of alpha2delta ligands: voltage sensitive calcium channel (VSCC) modulators. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2004;65(8):1033-4.
24. Ben-Menachem E. Pregabalin pharmacology and its relevance to clinical practice. *Epilepsia*. 2004;45 Suppl 6:13-8.
25. Shneker BF, McAuley JW. Pregabalin: a new neuromodulator with broad therapeutic indications. *The Annals of Pharmacotherapy*. 2005;39(12):2029-37.
26. Corrigan B, Pool W, Posvar E, Strand J, Alvey C, Radulovic L, et al., editors. Metabolic disposition of pregabalin in healthy volunteers. *clinical pharmacology & therapeutics*; 2001: mosby, inc 11830 westline industrial dr, St Louis, mo 63146-3318 USA.
27. Bockbrader H, Hunt T, Strand J, Posvar E, Sedman A, editors. Pregabalin pharmacokinetics and safety in healthy volunteers: results from two phase 1 studies. *Neurology*; 2000: lippincott williams & wilkins 530 walnut st, philadelphia, pa 19106-3621 USA.
28. Bialer M, Johannessen S, Kupferberg H, Levy R, Loiseau P, Perucca E. Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the fourth Eilat conference (EILAT IV). *Epilepsy research*. 1999;34(1):1-41.
29. Randinitis EJ, Posvar EL, Alvey CW, Sedman AJ, Cook JA, Bockbrader HN. Pharmacokinetics of pregabalin in subjects with various degrees of renal function. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2003;43(3):277-83.
30. Corrigan B, Bockbrader H, Burger P, editors. Pregabalin population pharmacokinetics in patients with refractory partial seizures. *Epilepsia*; 2002.
31. Lyrica Food and Drug Administration. Consultado a 9 de Julho de 2014. Disponível em: <http://www.drugs.com/pro/lyrica.html#S5.4>.
32. Gallardo E, Queiroz J. The role of alternative specimens in toxicological analysis. *Biomedical Chromatography*. 2008;22(8):795-821.
33. Altun Z, Abdel-Rehim M, Blomberg LG. New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications Part III: Determination and validation of local anaesthetics in human plasma samples using a cation-exchange sorbent, and MEPS-LC-MS-MS. *Journal of Chromatography B*. 2004;813(1-2):129-35.
34. Barroso M, Moreno I, da Fonseca B, Queiroz JA, Gallardo E. Role of microextraction sampling procedures in forensic toxicology. *Bioanalysis*. 2012;4(14):1805-26.
35. Abdel-Rehim M. Microextraction by packed sorbent (MEPS): a tutorial. *Analytica chimica acta*. 2011;701(2):119-28.
36. Abdel-Rehim M. Recent advances in microextraction by packed sorbent for bioanalysis. *Journal of Chromatography A*. 2010;1217(16):2569-80.
37. Mudiam MK, Chauhan A, Jain R, Ch R, Fatima G, Malhotra E, et al. Development, validation and comparison of two microextraction techniques for the rapid and sensitive determination of pregabalin in urine and pharmaceutical formulations after ethyl chloroformate derivatization followed by gas chromatography-mass spectrometric analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis*. 2012;70:310-9.
38. Martinc B, Roskar R, Grabnar I, Vovk T. Simultaneous determination of gabapentin, pregabalin, vigabatrin, and topiramate in plasma by HPLC with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*. 2014;962:82-8.
39. Dahl SR, Olsen KM, Strand DH. Determination of gamma-hydroxybutyrate (GHB), beta-hydroxybutyrate (BHB), pregabalin, 1,4-butane-diol (1,4BD) and gamma-butyrolactone (GBL) in whole blood and urine samples by UPLC-MSMS. *Journal of chromatography B*. 2012;885-886:37-42.
40. Nirogi R, Kandikere V, Mudigonda K, Komarneni P, Aleti R. Liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry method for the quantification of pregabalin in human plasma. *Journal of chromatography B*. 2009;877(30):3899-906.
41. Shah GR, Ghosh C, Thaker BT. Determination of pregabalin in human plasma by electrospray ionisation tandem mass spectroscopy. *Journal of Advanced Pharmaceutical technology & research*. 2010;1(3):354-7.
42. Vermeij TA, Edelbroek PM. Simultaneous high-performance liquid chromatographic analysis of pregabalin, gabapentin and vigabatrin in human serum by precolumn derivatization with o-phthalaldehyde and fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*. 2004;810(2):297-303.

43. Hibbert DB. Experimental design in chromatography: a tutorial review. *Journal of Chromatography B*. 2012;910:2-13.
44. Costa S, Barroso M, Castañera A, Dias M. Design of experiments, a powerful tool for method development in forensic toxicology: application to the optimization of urinary morphine 3-glucuronide acid hydrolysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010;396(7):2533-42.
45. Cox DR, Reid N. *The theory of the design of experiments*: CRC Press; 2002.
46. BIPM I, IFCC I, ISO I. IUPAP and OIML (2008c). *International vocabulary of metrology: Basic and general concepts and associated terms (VIM)*. Joint Committee for Guides in Metrology. Technical report, 2008. Consultado a 15 de Agosto de 2014. Disponível em : http://en.wikipedia.org/wiki/Joint_Committee_for_Guides_in_Metrology.
47. Karavadi TM, Challa BR. bioanalytical method development and validation of pregabalin in rat plasma by solid phase extraction with hplc-ms/ms: application to a pharmacokinetic study. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2013;37(1):130-44.
48. Martinc B, Grabnar I, Mrhar A, Vovk T. Rapid high-performance liquid chromatography method for determination of pregabalin in a pharmaceutical dosage form following derivatization with fluorescamine. *Journal of AOAC International*. 2010;93(4):1069-76.
49. Chen X, Zhang D, Deng J, Fu X. Determination of optical impurity of pregabalin by HPLC with pre-column chiral derivatization. *Journal of Chromatographic science*. 2008;46(1):42-4.
50. Matthew Klee G, GC Solutions. *GC Solutions #20: Calibration Curves - Part 2, Internal Standard Approach*. GC, GC Solutions. Consultado a 30 de Setembro de 2014. Disponível em: <http://www.sepscience.com/Techniques/GC/Articles/189-/GC-Solutions-20-Calibration-Curves--Part-2-Internal-Standard-Approach>.
51. Norvaline. Sigma-Aldrich. Consultado a 30 de Setembro de 2014. Disponível em : <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/851620?lang=pt®ion=PT>.
52. Miller JN, Miller JC. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*: Pearson Education; 2005.

Anexo 1

18/6/2014

Gmail - Laevolac 500ml



farmacia vitoria fundanense farmacia vitoria
<farmaciavitoriafundanense@gmail.com>

Laevolac 500ml

farmacia vitoria fundanense farmacia vitoria
<farmaciavitoriafundanense@gmail.com>

11 de Junho de 2014 às
13:06

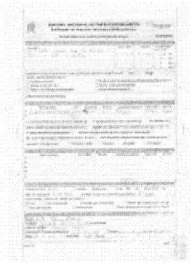
Para: farmacovigilancia@infarmed.pt, ines.pereira@ferrazlynce.pt

Bom dia,

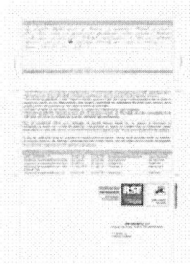
Em anexo envio o boletim de farmacovigilância devidamente preenchido a reportar um "sabor a plástico" do xarope, relatado pelo utente.

Cumprimentos,
Victor Almeida

2 anexos



001.jpg
721K



002.jpg
500K

18/6/2014

Gmail - Notificação de Defeito de Qualidade



farmacia vitoria fundanense farmacia vitoria
<farmaciavitoriafundanense@gmail.com>

Notificação de Defeito de Qualidade

farmacia vitoria fundanense farmacia vitoria
<farmaciavitoriafundanense@gmail.com>
Para: infarmed@infarmed.pt

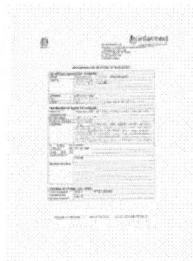
18 de Junho de 2014 às
17:41

Exmos Senhores,

Vimos por este meio notificar o aparecimento de uma pilha dentro do blister de comprimidos efervescentes de Fluimucil.

Em anexo segue o formulário de notificação de defeito e qualidade devidamente preenchido. Com os melhores cumprimentos,

Victor Almeida



001.jpg
317K

Anexo 2



DGEstE
Direção-Geral dos Estabelecimentos Escolares
Direção de Serviços da Região Centro



Agrupamento de Escolas do Fundão



CERTIFICADO

*Certifica-se que **Victor Barros Almeida**, dinamizou a Sessão de sensibilização para evitar desperdícios de medicamentos no âmbito do projeto *Valormed*, no dia 14 de maio, aos alunos do 1º e 2º anos de escolaridade, na Escola Básica de Santa Teresinha.*

Fundão, 17 de junho de 2014

O Diretor,

(Armando Manuel Ferreira Anacleto)

Colunas M1	Técnica 1			Técnica 2			Técnica 3			Técnica 4			Técnica 5		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Pregabalina	9,269	6,971	9,004	11,703	8,444	3,975	16,120	14,547	13,397	17,877	9,497	18,778	11,104	14,772	14,316
Norvalina	95,739	105,906	106,093	103,134	103,146	59,913	Saturada			Saturada			120,479		
Razão pregabalina/norvalina	0,097	0,066	0,085	0,087	0,058	0,066	Saturada			Saturada			0,092	0,105	0,092
Média	0,083			0,070			Não calculado			Não calculado			0,096		
Desvio padrão	0,016			0,015			Não calculado			Não calculado			0,007		
Coefficiente de Variação (%)	18,945			21,586			Não calculado			Não calculado			7,638		

Colunas C18	Técnica 1			Técnica 2			Técnica 3			Técnica 4			Técnica 5			Técnica 6		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Pregabalina	6,584	6,669	7,230	11,151	7,547	10,769	6,977	5,058	7,359	4,687	4,559	6,592	3,764	3,548	3,639	2,007	2,184	1,092
Norvalina	228,345	181,052	213,462	186,197	172,338	211,959	174,719	180,159	217,471	174,790	187,318	198,860	185,858	251,913	193,811	238,527	234,245	93,258
Razão pregabalina/norvalina	0,029	0,037	0,034	0,060	0,044	0,051	0,040	0,028	0,034	0,027	0,024	0,033	0,020	0,014	0,019	0,008	0,009	0,012
Média	0,033			0,051			0,034			0,028			0,018			0,010		
Desvio padrão	0,004			0,008			0,006			0,005			0,003			0,002		
Coefficiente de Variação (%)	12,189			15,667			17,491			16,169			18,186			17,331		

Anexo 3