

**Avaliação do Efeito da Luz Infravermelha e
Visível no Crescimento de Bactérias da Pele,
particularmente em *Staphylococcus aureus*
Experiência Profissionalizante na Vertente de
Farmácia Comunitária e Investigação Laboratorial
Versão final após defesa**

Rita Isabel Cabeças Porfírio

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

Orientadora: Professora Doutora Joana Rolo
Co-orientadora: Professora Doutora Paula Pestana

abril de 2021

Agradecimentos

Venho, por este meio, agradecer a todos aqueles que, de certa forma, me permitiram chegar até aqui e que contribuíram para o alcançar de mais uma etapa neste longo percurso.

Agradeço à Professora Doutora Joana Rolo e à Professora Doutora Paula Pestana – minha orientadora e co-orientadora respetivamente – por todos os esclarecimentos, explicações, disponibilidade e amabilidade prestadas, bem como pela transmissão de tantos conhecimentos, imprescindíveis para a realização deste trabalho. Agradeço ainda ao Professor Doutor José Martinez de Oliveira por todo o apoio e dedicação a este projeto.

Agradeço à Doutora Ana Rita Cruz, Diretora Técnica da Farmácia Pedroso, pela fantástica experiência proporcionada na vertente de Farmácia Comunitária. Ao Professor João Vale, por toda a ajuda e orientação dadas e por todos os ensinamentos transmitidos durante o meu estágio nesta componente, e a toda a restante equipa, pela receção calorosa, inclusão e entajuda vivenciadas.

Aos meus pais, por me terem possibilitado chegar até aqui. Pelo apoio, força, amor e coragem que me transmitiram durante os momentos mais difíceis desta caminhada.

Aos meus avós, por estarem sempre presentes, do início ao fim, e por acreditarem em mim e nunca me deixarem desistir.

Agradeço ao meu irmão, que sempre iluminou o meu caminho e me guiou nas horas mais difíceis.

Ao Filipe, por toda a compreensão, paciência, apoio, carinho e amor, que tão importantes foram ao longo desta jornada.

A todos os meus amigos, que me acompanharam em todas as aventuras e dissabores desta aventura de 5 anos, pelo sentimento de partilha e união que criámos.

Resumo

A presente dissertação, enquadrada no âmbito da unidade curricular designada como Estágio do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, encontra-se dividida em dois capítulos principais, que abordam duas vertentes distintas – investigação laboratorial e farmácia comunitária.

O primeiro capítulo refere-se à componente de investigação laboratorial, desenvolvida no Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, localizado na Faculdade de Ciências da Saúde da Covilhã. Este estudo baseou-se na avaliação do efeito da luz visível e infravermelha no crescimento de bactérias comensais da pele, com particular ênfase na bactéria *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus é uma das bactérias pertencentes à microbiota cutânea, estando frequentemente envolvido em infeções da pele. Neste tipo de situações, é muito frequente existirem tecidos necrosados, nos quais a circulação sanguínea é escassa ou mesmo ausente. Neste contexto, a antibioterapia surge como uma alternativa pouco eficaz, uma vez que a irrigação sanguínea para estes locais é insuficiente. Desta forma, torna-se fundamental encontrar abordagens terapêuticas alternativas ou adicionais à quimioterapia antibiótica. Foi neste âmbito que este trabalho de investigação foi desenvolvido, tendo sido utilizadas duas lâmpadas emissoras de luz com comprimentos de onda diferentes - 660nm e 940nm. Foi utilizada uma estirpe ATCC de *S. aureus* e uma estirpe clínica do mesmo microrganismo, sensível à meticilina. Após a preparação do inóculo inicial e da sua permanência no agitador orbital, foi feita a irradiação com as duas luzes, separadamente, das células do microrganismo durante 10 minutos. Posteriormente, e após um período mínimo de 18h de incubação a 37°C, foram contabilizadas as unidades formadoras de colónias. De uma maneira geral, concluiu-se que a luz de 940nm, incluída na gama infravermelha do espetro eletromagnético, promoveu uma diminuição no crescimento das células do microrganismo, quando comparada com a luz de 660nm e com o controlo negativo (sem estímulo luminoso). Desta forma, esta alternativa poderia tornar-se viável para ser utilizada em casos de infeção cutânea, mesmo quando são atingidas camadas mais profundas, uma vez que a capacidade de penetração da luz infravermelha na pele é elevada, sendo superior à da luz visível.

No que concerne ao segundo capítulo, o mesmo diz respeito à experiência profissionalizante adquirida durante o estágio em farmácia comunitária, desenvolvido na Farmácia Pedroso, na Covilhã. Nesta secção é apresentado o relatório de estágio, onde são abordadas as diferentes componentes experienciadas e atividades realizadas, e onde é evidenciado o importante papel do farmacêutico comunitário na população.

Palavras-chave

Pele; *Staphylococcus aureus*; Infecção Cutânea; Luz Visível; Luz Infravermelha; Crescimento Bacteriano; Farmácia Comunitária

Abstract

This dissertation, within the scope of the curricular unit designated as an Internship of Integrated Master of Pharmaceutical Sciences, is divided into two main chapters, which address two distinct strands – laboratory research and community pharmacy.

The first chapter refers to the laboratory research component, developed at Health Sciences Research Centre of University of Beira Interior, located at Faculty of Health Sciences of Covilhã. This study was based on the evaluation of the effect of visible and infrared light on the growth of commensal skin bacteria, with particular emphasis on the bacterium *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus is one of the bacteria belonging to the cutaneous microbiota and is often involved in most skin infections. In this type of clinical disease, there are very often necrotic tissues, in which blood circulation is scarce or even absent. In this context, antibiotics appear as an ineffective alternative, since blood supply to these sites is insufficient for making them arriving to these sites. Thus, it is essential to find therapeutic or additional alternatives to antibiotic therapy. It was in this context that this research work was developed, using two lamps emitting light with different wavelengths - 660nm and 940nm. An ATCC strain of *S. aureus* and a clinical strain of the same microorganism, sensitive to methicillin, were used. After the initial inoculum was prepared and left in the orbital shaker, the two lights were irradiated separately to the microorganisms during 10 minutes. Subsequently, and after a minimum period of 18h incubation at 37°C, colony-forming units were counted. In general, it was concluded that the 940nm light, included in the infrared range of the electromagnetic spectrum, promoted a decrease in the growth of the microorganism's cells, when compared to the 660nm light and the negative control (without light stimulus). Thus, this alternative can be envisaged to be used in cases of skin infection, even when deeper layers are reached, since the capacity of infrared light penetrating the skin is huge, being higher than that of visible light.

Regarding to the second chapter, it relates to the professional experience acquired during the internship in community pharmacy, developed at Farmácia Pedroso, in Covilhã. This section presents the internship report, which addresses the different components

experienced and activities carried out, and where the important role of the community pharmacist in the population is highlighted.

Keywords

Skin; *Staphylococcus aureus*; Skin Infection; Visible Light; Infrared Light; Bacterial Growth; Community Pharmacy

Índice

| | |
|--|------|
| Agradecimentos | iii |
| Resumo | v |
| Palavras-chave | vi |
| Abstract | vii |
| Keywords | viii |
| Índice | ix |
| Lista de Figuras | xi |
| Lista de Tabelas | xiii |
| Lista de Acrónimos | xvii |
| Capítulo I – Avaliação do Efeito da Luz Infravermelha e Visível no Crescimento de Bactérias da Pele, particularmente em <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 |
| 1.Introdução | 1 |
| 1.1. Contextualização do Estudo | 1 |
| 1.2. A Luz como uma Abordagem Terapêutica | 1 |
| 1.2.1. Luz Visível e Luz Infravermelha | 2 |
| 1.3. A Pele | 3 |
| 1.3.1. Visão Geral | 3 |
| 1.3.2. Estrutura | 3 |
| 1.3.2.1. Epiderme | 3 |
| 1.3.2.1.1.Constituição Celular da Epiderme | 5 |
| 1.3.2.2. Membrana Basal | 8 |
| 1.3.2.3. Derme | 8 |
| 1.3.2.3.1.Constituição Celular da Derme | 10 |
| 1.3.2.4. Hipoderme | 10 |
| 1.3.3. Anexos da Pele | 11 |
| 1.3.3.1. Glândulas Sudoríparas | 11 |
| 1.3.3.2. Glândulas Sebáceas | 12 |
| 1.3.3.3. Folículos Pilosos (Cabelo/Pelo) | 12 |
| 1.3.3.4. Unhas | 13 |
| 1.3.4. Propriedades Físicas e Funções | 13 |
| 1.3.5. Microbiota da Pele | 15 |
| 1.4. <i>Staphylococcus aureus</i> | 15 |
| 1.4.1. Características Gerais | 15 |

| | | |
|--------|---|----|
| 1.4.2. | Estrutura | 16 |
| 1.4.3. | Epidemiologia | 17 |
| 1.4.4. | Fatores de Virulência | 18 |
| 1.4.5. | Patogénese de Doença | 19 |
| 1.4.6. | Diagnóstico | 26 |
| 1.4.7. | Tratamento | 27 |
| 2. | Objetivo do Estudo | 27 |
| 3. | Materiais e Métodos | 28 |
| 3.1. | Materiais | 28 |
| 3.1.1. | Equipamentos | 28 |
| 3.1.2. | Material de Laboratório | 28 |
| 3.1.3. | Soluções e Meios de Cultura | 29 |
| 3.1.4. | Material Biológico | 29 |
| 3.2. | Métodos | 30 |
| 3.2.1. | Preparação do Inóculo Inicial | 30 |
| 3.2.2. | Repicagem das Estirpes | 30 |
| 3.2.3. | Preparação da Suspensão de Células de <i>S. aureus</i> | 31 |
| 3.2.4. | Preparação dos Meios de Cultura TSA e TSB | 31 |
| 3.2.5. | Curva de Crescimento Bacteriano | 31 |
| 3.2.6. | Ensaio com Aplicação da Luz nas Diferentes Fases de Crescimento | 32 |
| 3.2.7. | Obtenção da Curva OD _{600nm} e UFC | 33 |
| 3.2.8. | Análise Estatística dos Resultados | 34 |
| 4. | Resultados e Discussão | 35 |
| 4.1. | Curva de Crescimento OD _{600nm} em Função do Tempo | 35 |
| 4.2. | Correlação entre OD _{600nm} e UFCs – Curva de Crescimento | 37 |
| 4.3. | Ensaio com Introdução dos Estímulos Luminosos nas Diferentes Fases do Crescimento | 39 |
| 4.4. | Fase de Latência – Estirpe ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i> | 40 |
| 4.4.1. | 1º Ensaio da Fase de Latência | 40 |
| 4.4.2. | 2º Ensaio da Fase de Latência | 43 |
| 4.4.3. | 3º Ensaio da Fase de Latência | 45 |
| 4.5. | Fase Exponencial – Estirpe ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i> | 48 |
| 4.5.1. | 1º Ensaio da Fase Exponencial | 48 |
| 4.5.2. | 2º Ensaio da Fase Exponencial | 51 |
| 4.5.3. | 3º Ensaio da Fase Exponencial | 53 |
| 4.6. | Fase Estacionária – Estirpe ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i> | 55 |
| 4.6.1. | 1º Ensaio da Fase Estacionária | 56 |

| | | |
|---|--|----|
| 4.6.2. | 2º Ensaio da Fase Estacionária | 58 |
| 4.7. | Análise Geral dos Resultados – Estirpe ATCC | 60 |
| 4.8. | Fase de Latência – Estirpe Clínica de <i>Staphylococcus aureus</i> | 62 |
| 4.8.2. | 1º Ensaio da Fase de Latência | 62 |
| 4.8.3. | 2º Ensaio da Fase de Latência | 64 |
| 4.9. | Análise Geral dos Resultados – Estirpe Clínica | 66 |
| 4.10. | Resultados Obtidos na Análise Estatística | 68 |
| 4.11. | Análise Final | 69 |
| 5. | Conclusão | 71 |
| 6. | Referências Bibliográficas | 73 |
| Capítulo II – Estágio em Farmácia Comunitária | | 75 |
| 1. | Introdução | 75 |
| 2. | Organização da Farmácia Pedroso | 75 |
| 2.1. | Contexto Legislativo da Farmácia Comunitária em Portugal | 75 |
| 2.2. | Localização, Horário de Funcionamento e Caracterização da Farmácia Pedroso | 76 |
| 2.3. | Recursos Humanos | 77 |
| 2.4. | Organização de Divisão Física da Farmácia Pedroso | 79 |
| 2.4.1. | Área de Atendimento ao Público e de Exposição de Produtos | 79 |
| 2.4.2. | Área de Receção e Gestão de Encomendas e de Contabilidade | 81 |
| 2.4.3. | Armazém/ <i>Back-Office</i> | 81 |
| 2.4.4. | Gabinetes de Atendimento Personalizado | 81 |
| 2.4.5. | Escritório | 82 |
| 2.4.6. | Laboratório | 82 |
| 2.5. | Equipamentos Informático e de Videovigilância | 82 |
| 3. | Informação e Documentação Científica | 83 |
| 4. | Aprovisionamento | 83 |
| 4.1. | Gestão de Encomendas | 84 |
| 4.1.1. | Pedido de Encomendas | 84 |
| 4.1.1.1. | Fornecedores – Critérios de Seleção | 85 |
| 4.1.1.2. | Tipos de Encomenda | 85 |
| 4.1.2. | Receção de Encomendas | 86 |
| 4.2. | Armazenamento | 87 |
| 4.2.1. | Controlo dos Parâmetros de Temperatura e Humidade | 88 |

| | |
|--|-----|
| 4.3. Controlo dos Prazos de Validade | 88 |
| 4.4. Marcação de Preços | 89 |
| 4.5. Devoluções de Produtos | 89 |
| 5. Medicamentos e Outros Produtos de Saúde | 90 |
| 5.1. Conceitos Importantes a Definir | 90 |
| 6. Dispensa de Medicamentos | 91 |
| 6.1. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica | 92 |
| 6.1.1. Planos de Participação | 94 |
| 6.1.2. Vendas Suspensas | 95 |
| 6.1.2.1. Vendas Suspensas a Dinheiro | 96 |
| 6.1.2.2. Vendas Suspensas a Crédito | 96 |
| 6.1.3. Dispensa de MSRM Especial | 96 |
| 6.1.3.1. Estupefacientes e Psicotrópicos | 97 |
| 6.2. Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica | 98 |
| 6.2.1. Automedicação | 98 |
| 6.3. Aconselhamento e Dispensa de Outros Produtos de Saúde | 101 |
| 6.3.1. Produtos de Dermofarmácia, Cosmética e Higiene Corporal | 101 |
| 6.3.2. Produtos Dietéticos para Alimentação Especial | 102 |
| 6.3.3. Puericultura | 103 |
| 6.3.3.1. Produtos Dietéticos Infantis | 103 |
| 6.3.4. Fitoterapia | 104 |
| 6.3.5. Suplementos Alimentares | 105 |
| 6.3.6. Medicamentos de Uso Veterinário | 105 |
| 6.3.7. Medicamentos Homeopáticos | 106 |
| 6.3.8. Dispositivos Médicos | 107 |
| 7. Relação Farmacêutico – Utente - Medicamento | 107 |
| 7.1. Atendimento ao Público | 108 |
| 7.2. Farmacovigilância | 108 |
| 7.3. Cartões das Farmácias <i>Holon</i> e Programa <i>FarmacoSmart</i> | 109 |
| 7.4. Programa VALORMED | 110 |
| 8. Serviços <i>Holon</i> Prestados na Farmácia Pedroso | 110 |
| 8.1. Consulta Farmacêutica | 111 |
| 8.2. Serviço de Preparação Individualizada de Medicação | 111 |
| 8.3. Serviço de Administração de Vacinas | 111 |

| | |
|--|-----|
| 8.4. Serviço de <i>Check</i> - Saúde | 112 |
| 8.5. Serviço de Nutrição | 113 |
| 8.6. Serviço de Pé Diabético | 113 |
| 8.7. Serviço de Podologia | 113 |
| 8.8. Serviço de Dermofarmácia | 114 |
| 8.9. Serviço de Reabilitação Auditiva | 114 |
| 8.10. Serviço de Aconselhamento ao Viajante | 114 |
| 8.11. Serviço de Cessação Tabágica | 114 |
| 8.12. Serviço de Primeira Dispensa | 115 |
| 9. Programa de Troca de Seringas | 115 |
| 10. Preparação de Medicamentos | 116 |
| 10.1. Medicamentos Manipulados | 116 |
| 10.1.1. Solução de Propranolol a 5mg/mL | 121 |
| 10.1.2. Solução Alcoólica de Ácido Bórico à Saturação | 122 |
| 10.2. Preparações Extemporâneas | 123 |
| 11. Contabilidade e Gestão | 123 |
| 11.1. Processamento de Receituário e Faturação | 123 |
| 12. COVID-19: O Novo Coronavírus | 125 |
| 12.1 Origem | 125 |
| 12.2. Características Estruturais do SARS-CoV-2 | 125 |
| 12.3. Epidemiologia | 126 |
| 12.3.1. Período de Incubação | 126 |
| 12.3.2. Fonte de Infecção | 126 |
| 12.3.3. Vias de Transmissão | 126 |
| 12.3.4. Grupos de Risco | 127 |
| 12.4. Patogénese da Doença | 127 |
| 12.5. Manifestações Clínicas | 128 |
| 12.6. Diagnóstico Laboral | 128 |
| 12.7. Medidas de Prevenção | 129 |
| 12.8. Tratamento | 129 |
| 12.9. Medidas de Contingência Adotadas na Farmácia Pedroso | 130 |
| 12.10. Metodologias Iniciadas Devido à COVID-19 | 131 |

| | |
|--|-----|
| 12.10.1. Farmácia HoloON – Serviço <i>Online</i> | 131 |
| 12.10.1.1. Teleconsultas | 131 |
| 12.10.1.2. <i>Click & Collect</i> e Entregas ao Domicílio | 131 |
| 12.10.2. Dispensa de Medicamentos Hospitalares em Farmácia Comunitária | 131 |
| 12.10.3. Linha 1400 | 131 |
| 13. Actividades Realizadas | 132 |
| 14. Exemplos de Casos Clínicos | 133 |
| 15. Conclusão | 135 |
| 16. Referências Bibliográficas | 136 |
| Anexos | 137 |
| Anexo 1- Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados | 141 |

Lista de Figuras

Capítulo I – Avaliação do efeito da luz infravermelha e visível no crescimento de bactérias comensais da pele, particularmente em *Staphylococcus aureus*´

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estratos da epiderme | 5 |
| Figura 2. Estrutura da pele | 11 |
| Figura 3. Unidade pilosebácea | 13 |
| Figura 4. Folliculite | 20 |
| Figura 5. Furúnculo | 21 |
| Figura 6. Carbúnculo | 21 |
| Figura 7. Abscesso cutâneo na zona da coxa, cuja pústula | 22 |
| Figura 8. Abscesso cutâneo com celulite subjacente | 22 |
| Figura 9. Impetigo nas narinas | 23 |
| Figura 10. Celulite | 24 |
| Figura 11. Celulite na parede abdominal | 24 |
| Figura 12. Síndrome da pele escaldada | 25 |
| Figura 13. Gangrena | 25 |
| Figura 14. Fasceíte necrotizante | 26 |
| Figura 15. Curva de crescimento de <i>Staphylococcus aureus</i> (estirpe ATCC) | 35 |
| Figura 16. Curva de crescimento bacteriano padrão (UFC/mL vs Tempo) | 36 |
| Figura 17. UFC e OD _{600nm} de uma cultura de <i>Staphylococcus aureus</i> em função do tempo | 38 |
| Figura 18. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC | 42 |
| Figura 19. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – estirpe ATCC | 44 |
| Figura 20. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC | 47 |
| Figura 21. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC | 50 |
| Figura 22. Resultados do segundo ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC | 52 |
| Figura 23. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC | 55 |

| | |
|--|----|
| Figura 24. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC | 57 |
| Figura 25. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC | 59 |
| Figura 26. Gráfico de todos os ensaios realizados com a estirpe ATCC de <i>S. aureus</i> | 61 |
| Figura 27. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe clínica | 64 |
| Figura 28. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – estirpe clínica | 66 |
| Figura 29. Gráfico de todos os ensaios realizados (fase de latência) com a estirpe clínica de <i>S. aureus</i> | 67 |

Lista de Tabelas

Capítulo I – Avaliação do efeito da luz infravermelha e visível no crescimento de bactérias comensais da pele, particularmente em *Staphylococcus aureus*

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Valores de OD _{600nm} em função do tempo | 35 |
| Tabela 2. Tabela 2. Valores de OD _{600nm} e de UFC em função do tempo | 38 |
| Tabela 3. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência - controlo negativo (estirpe ATCC)..... | 40 |
| Tabela 4, Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 41 |
| Tabela 5. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 41 |
| Tabela 6. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC | 42 |
| Tabela 7 Resultados do segundo ensaio da fase de latência - controlo negativo (estirpe ATCC) Resultados do segundo ensaio da fase de latência - controlo negativo (estirpe ATCC)..... | 43 |
| Tabela 8. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 43 |
| Tabela 9. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 44 |
| Tabela 10. Resultados gerais do segundo ensaio da fase de latência – estirpe ATCC | 44 |
| Tabela 11. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – controlo negativo (estirpe ATCC) | 45 |
| Tabela 12. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 46 |
| Tabela 13. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 46 |
| Tabela 14. Resultados gerais do terceiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC | 46 |
| Tabela 15. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – controlo negativo (estirpe ATCC) | 48 |
| Tabela 16. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 49 |
| Tabela 17. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 49 |

| | |
|--|----|
| Tabela 18. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC | 50 |
| Tabela 19. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC | 51 |
| Tabela 20. Resultados do segundo ensaio da fase exponencial – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 51 |
| Tabela 21. Resultados do segundo ensaio da fase exponencial – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 52 |
| Tabela 22. Resultados gerais do segundo ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC | 52 |
| Tabela 23. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – controlo negativo (estirpe ATCC) | 53 |
| Tabela 24. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 54 |
| Tabela 25. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 54 |
| Tabela 26. Resultados gerais do terceiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC | 55 |
| Tabela 27. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – controlo negativo (estirpe ATCC) | 56 |
| Tabela 28. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 56 |
| Tabela 29. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 57 |
| Tabela 30. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC..... | 57 |
| Tabela 31. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – controlo negativo (estirpe ATCC) | 58 |
| Tabela 32. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – luz de 940nm (estirpe ATCC) | 58 |
| Tabela 33. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – luz de 660nm (estirpe ATCC) | 59 |
| Tabela 34. Resultados gerais do segundo ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC..... | 59 |
| Tabela 35. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase de latência – estirpe ATCC..... | 60 |
| Tabela 36. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase exponencial – estirpe ATCC..... | 60 |
| Tabela 37. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase estacionária – estirpe ATCC..... | 60 |
| Tabela 38. Resumo de todos os ensaios realizados – estirpe ATCC | 61 |
| Tabela 39. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – controlo negativo (estirpe clínica) | 62 |

| | |
|--|----|
| Tabela 40. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe clínica)..... | 63 |
| Tabela 41. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe clínica) | 63 |
| Tabela 42. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe clínica | 64 |
| Tabela 43. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – controlo negativo (estirpe clínica)..... | 64 |
| Tabela 44. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe clínica)..... | 65 |
| Tabela 45. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe clínica)..... | 65 |
| Tabela 46. Resultados gerais do segundo ensaio da fase de latência – estirpe clínica..... | 65 |
| Tabela 47. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase de latência – estirpe clínica..... | 67 |
| Tabela 48. Resultados obtidos na análise estatística do 1º e 3º ensaios da estirpe ATCC (fase de latência) | 68 |
| Tabela 49. Resultados obtidos na análise estatística dos ensaios da estirpe clínica (fase de latência) | 68 |

Capítulo II – Estágio em Farmácia Comunitária

| | |
|---|-----|
| Tabela 50. Condições passíveis de automedicação | 100 |
|---|-----|

Lista de Acrónimos

Capítulo I - Avaliação do efeito da luz infravermelha e visível no crescimento de bactérias comensais da pele, particularmente em *Staphylococcus aureus*

| | |
|---------------------|--|
| ATCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| CHUCB | Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira |
| CICS | Centro de Investigação em Ciências da Saúde |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| ETA | Toxina Esfoliativa A |
| ETB | Toxina Esfoliativa B |
| FCS | Faculdade de Ciências da Saúde |
| IgG | Imunoglobulina G |
| MRSA | <i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina |
| MSA | <i>Mannitol Salt Agar</i> |
| MSSA | <i>Staphylococcus aureus</i> Sensível à Meticilina |
| NMF | <i>Natural Moisturizing Factors</i> |
| NOD | Domínio de Oligomerização Ligante de Nucleotídeo |
| OD | Densidade Ótica |
| OD _{600nm} | Densidade Ótica lida a 600nm |
| PAMPs | Padrões Moleculares Associados a Patogéneos |
| PBS | Tampão Fosfato-Salino |
| PRRs | Recetores de Reconhecimento de Padrões |
| ROS | Espécies Reativas de Oxigénio |
| RPM | Rotações por Minuto |
| TLRs | Recetores Toll-like |
| TSA | <i>Tryptic Soy Agar</i> |
| TSB | <i>Tryptic Soy Broth</i> |
| TSST-1 | Toxina-1 da Síndrome do Choque Tóxico |
| UBI | Universidade da Beira Interior |
| UFC | Unidades Formadoras de Colónias |

Capítulo II – Estágio em Farmácia Comunitária

| | |
|-----|--------------------------------------|
| AIM | Autorização de Introdução no Mercado |
|-----|--------------------------------------|

Avaliação do Efeito da Luz IV e Visível no Crescimento de *Staphylococcus aureus*

ANF Associação Nacional de Farmácias

BDNP Base de Dados Nacional de Prescrições

| | |
|-----------|---|
| CCM-SNS | Centro de Controlo e Monitorização do Serviço Nacional de Saúde |
| CIMPI-ANF | Centro de Medicamentos Manipulados |
| CNP | Código Nacional do Produto |
| CNPEM | Código Nacional para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos |
| COVID-19 | Doença do SARS-CoV-2 |
| CTT | Correios de Portugal |
| DCI | Denominação Comum Internacional |
| DGAV | Direção Geral de Alimentação e Veterinária |
| ECMO | <i>Extracorporeal Membrane Oxygenation</i> |
| EDP | Energias de Portugal |
| FEFO | <i>First Expire, First Out</i> |
| HDL | <i>High Density Lipoprotein</i> |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| INFARMED | Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. |
| IPSS | Instituição Particular de Solidariedade Social |
| IVA | Imposto sobre o Valor Acrescentado |
| MERS-CoV | <i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i> |
| MM | Medicamento Manipulado |
| MNSRM | Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica |
| MSRM | Medicamento Sujeito a Receita Médica |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PIC | Preço Inscrito na Caixa |
| PRM | Problemas Relacionados com a Medicação |
| PVF | Preço de Venda à Farmácia |
| PVP | Preço de Venda ao Público |
| RAM | Reação Adversa ao Medicamento |
| RNA | Ácido Ribonucleico |
| RNM | Resultados Negativos Associados à Medicação |
| SAMS | Sindicato dos Bancários do Sul e Ilhas |
| SARS-CoV | <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i> |
| SNS | Serviço Nacional de Saúde |
| UNICEF | Fundo das Nações Unidas para a Infância |
| URF | Unidade Regional de Farmacovigilância |
| VIH | Vírus da Imunodeficiência Humana |

Capítulo I – Avaliação do Efeito da Luz Infravermelha e Visível no Crescimento de Bactérias da Pele, particularmente em *Staphylococcus aureus*

1. Introdução

1.1 Contextualização do Estudo

Este estudo aborda a luz como uma possível terapia no âmbito de infecções cutâneas. Para tal, é avaliado o efeito de duas luzes, de comprimentos de onda distintos, no crescimento de células bacterianas de *S. aureus*, um dos microrganismos saprófitas da flora cutânea e frequentemente envolvido em infecções da pele.

Como se sabe, e como será aprofundado em seguida, a pele é, por si só, um órgão complexo e heterogêneo, que apresenta diversas camadas que contribuem para a sua espessura e diversidade. (1) No entanto, depreende-se facilmente que esta característica estrutural acaba por se tornar num entrave ao tratamento de determinadas infecções, uma vez que é necessário ultrapassar-se todas estas secções da pele para que se possa atingir o local da infecção. Por outro lado, aquando do desenvolvimento de infecções cutâneas mais graves, como os abscessos fechados, a gangrena, infecções que afetam o músculo ou a fáscia ou escaras associadas a infecções polimicrobianas, pode haver necrose associada, com conseqüente irrigação sanguínea insuficiente, ou ainda serem zonas mais profundas e mais difíceis de serem alcançadas. (2) Por todos estes fatores, a antibioterapia encontra-se dificultada, uma vez que a concentração de antibiótico nos locais-alvo pode não ser a suficiente para que seja obtido um tratamento eficaz. Assim sendo, torna-se fundamental a pesquisa por novas abordagens terapêuticas que ultrapassem estas limitações e que possam até ser utilizadas, isoladamente ou em simultâneo, com a antibioterapia.

1.2 A Luz como uma Abordagem Terapêutica

Existem alguns estudos que demonstram uma atividade benéfica da luz no âmbito de determinadas infecções, nomeadamente em infecções cutâneas. Neste âmbito, destaca-se a terapia fotodinâmica, que tem vindo a ser cada vez mais utilizada em infecções microbianas localizadas. Esta abordagem terapêutica associa uma fonte de luz visível,

um composto fotossensível que é estimulado pela luz utilizada, e oxigênio. O que resulta da associação destes três componentes é a morte celular das bactérias, uma vez que, ao ser irradiado com a luz, o composto fotossensível (que se acumula nas células-alvo) passa de um estado fundamental para um estado excitado, sendo a energia produzida durante este processo transferida para o oxigênio. Daqui resulta a formação de compostos reativos de oxigênio (ROS), que acabam por induzir a morte das células por produzirem danos irreversíveis ao nível dos seus componentes estruturais (proteínas, lípidos, ácidos nucleicos). É uma terapia cuja eficácia é independente da sensibilidade aos antibióticos e, por esse motivo, pode ser usada em estirpes que tenham diferentes perfis de suscetibilidade (*S. aureus* meticilina-sensível – MSSA – e *S. aureus* meticilina-resistente – MRSA – por exemplo), sendo esta uma vantagem em relação à antibioterapia. Por outro lado, é uma técnica não-invasiva, e, como se destina ao tratamento localizado de infeções, é minimizado o risco de toxicidade para as células do hospedeiro e a eliminação do microbioma do mesmo, contrariamente ao que acontece com os antibióticos. No entanto, uma das principais desvantagens da terapia fotodinâmica é a penetração limitada nos tecidos e o espalhamento da luz. (3) Tal define-se como sendo uma limitação uma vez que a luz chega em menor intensidade aos locais-alvo, tendo menores efeitos terapêuticos consequentes. Aumentando a penetração da luz para locais mais inacessíveis e profundos, a intensidade superior com que chegará aos mesmos irá permitir uma maior eficácia terapêutica. (4)

1.2.1 Luz Visível e Luz Infravermelha

Dentro do espectro eletromagnético, que engloba todos os tipos de radiação eletromagnética, encontram-se, do menor para o maior comprimento de onda, os raios gama, os raios-X, os raios ultravioleta, a luz visível, a luz infravermelha, as micro-ondas, e as ondas de rádio. (5) Para a realização deste estudo foram disponibilizadas duas lâmpadas de comprimentos de onda diferentes, 660nm e 940nm, que são já utilizadas para fins clínicos – efeito cicatrizante em feridas pós-operatórias e úlceras cutâneas, e no tratamento de doenças reumatológicas e dor, respetivamente (usos clínicos mencionados pelo fornecedor na embalagem das luzes). A primeira luz inclui-se na gama da luz visível, radiação que conseguimos ver a olho nu. (5) Já a segunda encontra-se na gama da luz infravermelha, e esta é passível de provocar um aumento de temperatura nos locais onde é irradiada, incluindo a pele. (6)

Comparando ambas as luzes, a principal diferença é o comprimento de onda, e, consequentemente a frequência de cada tipo de luz e a sua energia, uma vez que ambos os parâmetros variam inversamente entre si (quanto maior o comprimento de onda, menor a frequência e, por consequência, menor a energia da radiação). (5)(7) Adicionalmente, há ainda estudos que referem que a penetração da luz nos tecidos é

dependente do comprimento de onda, na medida em que, com o aumento deste último, ocorre uma maior penetração da luz nos tecidos. (8) Por essa ordem de ideias, essa é também uma diferença entre ambas as luzes que serão utilizadas neste estudo.

1.3 A Pele

1.3.1. Visão Geral

A pele constitui-se como o maior órgão do corpo humano e é uma das principais linhas de defesas do organismo contra agentes ambientais externos e nocivos. Apresenta-se como um revestimento complexo, heterogêneo e multifuncional, tendo uma enorme capacidade de adaptação ao meio envolvente. Autorrepara-se em caso de dano ou lesão, sendo, por isso, fundamental para a manutenção e preservação da vida. (1)

1.3.2 Estrutura

Relativamente à sua estrutura, a pele apresenta-se estratificada em três camadas principais - epiderme, derme e hipoderme - que se encontram interligadas entre si e que contribuem para a versatilidade de funções deste órgão. Fazem ainda parte da composição da pele os seus anexos - glândulas sebáceas e sudoríparas, folículos pilosos e unhas. (1)(9)

1.3.2.1 Epiderme

A epiderme é a camada cutânea mais externa e superficial. É avascularizada e encontra-se subdividida em cinco diferentes estratos sobrepostos, que são constituídos por células epiteliais escamosas, queratinizadas e estratificadas. (8) Da profundidade para a superfície, estes estratos designam-se por estrato basal ou germinativo, estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e estrato córneo. Existem ainda autores que consideram um sexto estrato, o estrato disjuncto (zona descamativa onde ocorre a exfoliação natural da pele, resultante do desprendimento das células mais à superfície). Assim, consideram-se os cinco anteriores como os estratos principais da epiderme, que representam os diferentes estágios de diferenciação e maturação progressiva dos queratinócitos na epiderme. (1)(9)

- Estrato Basal ou Germinativo

Este estrato representa a origem de todas as subcamadas superiores da epiderme, estando localizado mais profundamente. É constituído por uma camada única de

células basais vivas, colunares e ancoradas na membrana basal, que se multiplicam através de mitoses, produzindo novos queratinócitos (principais células da epiderme). Estas células vão-se diferenciando e sofrendo transformações ao nível do tamanho e da forma, à medida que migram para a superfície, repondo-se assim os queratinócitos antigos que foram eliminados durante a descamação da pele. Contrariamente às restantes células dos estratos epidérmicos, as células basais não migram em direção à superfície, permanecendo estáticas no estrato germinativo. (1)(9)

- Estrato Espinhoso

O estrato espinhoso apresenta células poliédricas justapostas, cujos bordos celulares se encontram unidos por desmossomas, conferindo-lhes uma aparência espinhosa. Este estrato é formado no decorrer do movimento dos queratinócitos para a superfície da pele. (1)(9)

- Estrato Granuloso

Esta subcamada é um conjunto de 3 a 4 assentadas de células muito achatadas e com uma estrutura granulosa, que se deve essencialmente ao facto de o citoplasma apresentar grânulos basófilos de querato-hialina no seu interior. (1) Estas células granulares são as células mais diferenciadas da pele e apresentam propriedades únicas, já que, neste mesmo estrato, podem estar a decorrer, simultaneamente, duas funções opostas realizadas por células diferentes. Tem-se como exemplo a seguinte situação: enquanto que algumas células perdem o seu citoplasma e estruturas nucleares, outras continuam a produzir queratina. (9)

- Estrato Lúcido

O estrato lúcido, superficial ao estrato anterior, é composto por células achatadas e anucleadas, e apresenta um aspeto translúcido e homogéneo. (1) Esta camada fina e transparente é mais frequentemente encontrada em regiões corporais onde a epiderme é mais espessa, como na zona plantar dos pés ou nas palmas das mãos. (9)

- Estrato Córneo

O estrato córneo é a subcamada mais superficial da pele. É relativamente espessa, já que tem o maior número de camadas celulares. É constituída por corneócitos - células mortas, sem organelos, anucleadas e totalmente queratinizadas - resultantes do

processo de diferenciação dos queratinócitos, cujo núcleo foi perdido durante o processo de migração até à superfície da pele. As suas células são constituídas por água, por uma componente proteica (cuja proteína maioritária é a queratina), e ainda por uma componente lipídica, constituída essencialmente por ceramida, triglicéridos e ácidos gordos. O cimento de natureza proteica que contém, com substâncias de coesão e de retenção hídrica (esfingolípidos e fatores naturais de hidratação/NMF), é responsável pela plasticidade da pele e pela elasticidade da camada córnea. Neste estrato, as células encontram-se parcialmente conectadas entre si, ocorrendo uma descamação gradual com conseqüente eliminação da sujidade e microrganismos depositados à superfície. (1)

Desta forma, as características da epiderme vão-se alterando, conseqüência da diferenciação celular e da progressão contínua das células da camada basal para a superfície. (1)

Acima da epiderme existe ainda uma película hidrolipídica constituída maioritariamente por suor, sebo e resíduos da transformação celular que decorre na epiderme. Esta espécie de unto cobre toda a superfície cutânea, tendo uma ação protetora contra agentes externos (confere um meio ácido à pele, não propício à proliferação de microrganismos) e uma função barreira, sendo um importante entrave à perda de água transepidérmica e à descamação exagerada e excessiva da pele. (1)

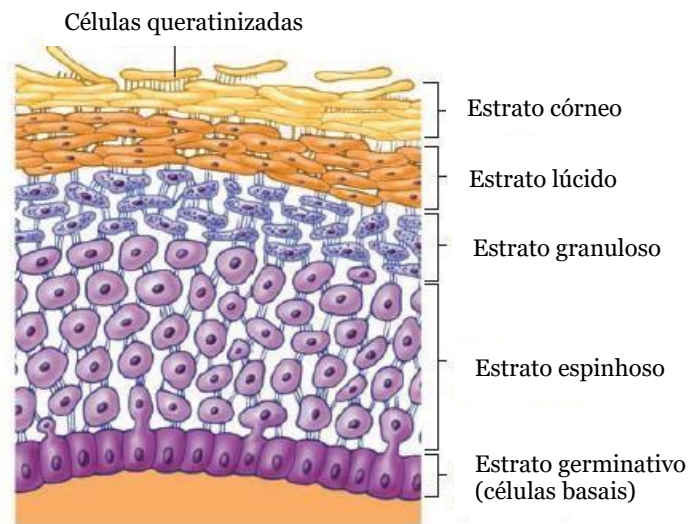


Figura 1. Estratos da epiderme (adaptado) (9)

1.3.2.1.1 Constituição Celular da Epiderme

No que toca à constituição celular da epiderme, a mesma é composta essencialmente por queratinócitos, melanócitos, células de *Merkel* e células de *Langerhans*, tendo cada conjunto celular uma determinada função. (1)

- Queratinócitos

Os queratinócitos são as células maioritárias da epiderme e têm como principal função a produção de queratina, uma proteína complexa fibrosa que está presente nas unhas e no cabelo e que constitui a superfície da pele. São produzidos pelas células basais e sujeitam-se a alterações morfológicas, estruturais e funcionais, no decorrer do processo de queratinização. Neste movimento migratório, estas células vão-se diferenciando e movendo (aparentemente de forma aleatória) para a camada mais superficial da epiderme, ocorrendo a transformação de células viáveis em células mortas no estrato córneo. Inicialmente, no seu processo de formação, os queratinócitos são células arredondadas, mas, à medida que vão migrando para a superfície, vão modificando a sua forma, terminando como células achatadas e alongadas, sem núcleo. Encontram-se ligadas entre si através dos desmossomas - fragmentos fibrosos que mantêm a união firme de duas células - impedindo que as mesmas se desprendam, fornecendo deste modo estabilidade e estrutura à epiderme. (9) Além de serem células produtoras de queratina, os queratinócitos apresentam ainda um importante papel a nível imunológico, já que apresentam recetores de reconhecimento de padrões (PRRs) – recetores Toll-like (TLRs), recetores de Domínio de Oligomerização Ligante de Nucleotídeo-like (NOD) e recetores de manose – que reconhecem padrões moleculares associados a agentes patogénicos (PAMPs) - ácidos nucleicos, flagelina, lipopolissacáridos de bactérias Gram-negativas e peptidoglicano e ácido teicóico das bactérias Gram-positivas. Após este reconhecimento, os PRRs dos queratinócitos são ativados pelos PAMPs, iniciando-se de imediato uma resposta imunitária inata, com produção consequente de péptidos antimicrobianos, citocinas e quimiocinas, substâncias que auxiliam na defesa imunitária do hospedeiro contra os agentes externos nocivos. (10)

- Melanócitos

Os melanócitos, localizados normalmente no estrato basal da epiderme, são células produtoras de melanina, substância responsável pela coloração, escurecimento e bronzeamento da pele. A produção desta substância é estimulada quando existe uma exposição à radiação solar, e, por isso, apresenta-se como uma forma de proteção contra as radiações ultravioleta. Existem duas formas principais deste composto: a eumelanina e a feomelanina. A produção de cada um dos tipos de melanina depende da estimulação de determinadas hormonas ou proteínas, e da ligação das mesmas aos recetores que se encontram nos melanócitos. Estas células, que se intercalam entre os queratinócitos, apresentam prolongamentos dendríticos longos e contêm melanosomas no seu interior (local onde decorre a síntese de melanina). Aquilo que

determina a tonalidade da pele de um indivíduo é exatamente a quantidade de melanina que existe nos queratinócitos. (9)

Relativamente à eumelanina, a sua coloração varia entre castanho e preto, e é o tipo mais abundante no ser humano. A sua produção é estimulada pela exposição à radiação solar, sendo responsável pelo bronzeamento. A sua principal função é a proteção da pele, já que absorve e difunde os raios ultravioleta nocivos. As sardas e as verrugas são exemplos da concentração deste tipo de substância na pele. (9)

No que concerne à feomelanina, a mesma é um pigmento cuja coloração varia de amarelo a avermelhado. A sua localização é muito específica, não estando distribuída de forma disseminada. Encontra-se particularmente concentrada na zona dos mamilos, lábios, na glândula peniana e na vagina. Pode ainda ser encontrada no cabelo, nomeadamente nos cabelos mais avermelhados. (9)

- Células de Merkel

As células de *Merkel* encontram-se localizadas no estrato basal da epiderme e fornecem informação sensorial, funcionando como recetores sensíveis ao toque. Cada uma destas células está conectada a um terminal nervoso, designando-se este conjunto como disco de *Merkel*. Estão distribuídas por toda a região corporal, encontrando-se em maior concentração nas zonas de toque (dedos das mãos e dos pés), lábios e cavidade oral, e parte mais externa dos folículos capilares. Embora a sua função não esteja claramente estabelecida, suspeita-se que sejam células libertadoras de hormonas para o sangue, em resposta a estímulos neurais (células neuro-endócrinas). (9)

- Células de Langerhans

As células de *Langerhans*, derivadas de células originárias da medula óssea, estão intimamente relacionadas com o sistema imunitário, sendo um ponto-chave de ligação entre a pele e a capacidade de imunovigilância e de defesa do organismo. Encontram-se difundidas pelos estratos suprabasais, localizando-se por entre os queratinócitos, e são células de forma dendrítica, apresentando um citoplasma claro e de conteúdo granuloso (grânulos de *Birbeck*). Estas células imunológicas são responsáveis por reconhecerem os antígenos estranhos e nocivos ao organismo, ligando-os posteriormente à sua superfície e processando-os em seguida. Posteriormente, ocorre uma migração destas células da epiderme para o sistema linfático, onde acabam por ser reconhecidas como células dendríticas e onde se tornam células apresentadoras de antígenos, apresentando-os aos linfócitos T. (1)(9)

1.3.2.2 Membrana Basal

A membrana basal é a camada de interface entre a epiderme e a derme, permitindo que ambas fiquem aderidas e interconectadas. Esta estrutura funciona como um filtro seletivo à passagem de determinadas substâncias entre a epiderme e a derme, e por isso tem um papel importante no desenvolvimento de determinadas doenças cutâneas, especialmente naquelas onde ocorre a formação de bolhas. Tal acontece uma vez que, nesta zona, ocorre a deposição de moléculas como as imunoglobulinas e substâncias do sistema do complemento, importantes no desenvolvimento de reações inflamatórias. Estruturalmente, a membrana basal é constituída por três camadas - lâmina lúcida, lâmina densa e lâmina fibroreticular – que contribuem para a adesão e junção da epiderme e da derme. (9)

1.3.2.3 Derme

A derme localiza-se entre a epiderme e a camada de gordura subcutânea (hipoderme). É constituída essencialmente por tecido conjuntivo, cujas características estão intimamente relacionadas com a sua composição: macromoléculas proteicas (fibras de colagénio, elastina, reticulina e fibronectina); mucopolissacarídeos gelificados compostos por glucosaminoglicanos, que retêm a água na derme e que se constituem como uma reserva de hidratação da pele; fibroblastos que participam ativamente na produção de diversas macromoléculas (como o colagénio); células do sistema imunitário (elementos fagocitários, linfócitos, macrófagos tecidulares, plasmócitos e mastócitos). Estas substâncias têm um papel fundamental na proteção, hidratação e elasticidade da pele, permitindo ainda a manutenção da sua forma, mesmo quando sujeita a pressões mecânicas. Todo este conjunto de compostos é suportado por uma rede de vasos sanguíneos e linfáticos, bem como por fibras nervosas. Assim, esta camada está associada à receção de informações sensoriais provenientes do ambiente externo (devido à sua constituição em neurónios sensoriais e nervos), e é responsável pela irrigação sanguínea e consequente nutrição da camada basal epidérmica, permitindo a multiplicação das células vivas do estrato basal da epiderme. O principal constituinte desta camada é o colagénio, uma proteína de composição fibrosa que se encontra associada ao ácido hialurónico. Encontram-se ainda incorporados na derme os anexos da pele – folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas – cuja continuidade prossegue na epiderme. Estruturalmente, a derme pode ser dividida em duas subcamadas principais: a derme profunda ou reticular e a derme papilar, localizada mais à superfície. Ambas são constituídas essencialmente por células, fibras, tecido nervoso, substância fundamental (gel viscoso rico em mucopolissacarídeos) e vasos sanguíneos. (1)(9)

- Derme Papilar

A derme papilar é composta por substância fundamental, tecido conjuntivo laxo e por fibras de colagénio, frouxamente dispostas e orientadas perpendicularmente à camada adjacente. Esta estrutura, mais fina e superficial (relativamente à derme reticular), acompanha a camada basal epidérmica, dando origem às chamadas papilas dérmicas. Estas estruturas são projeções cónicas que apresentam uma rede fina de capilares sanguíneos, arteríolas e vénulas, que nutrem a epiderme e favorecem as trocas metabólicas entre o estrato basal desta camada e a derme. Além dos vasos sanguíneos, as papilas dérmicas contêm ainda terminações nervosas livres com recetores encapsulados, que permitem o reconhecimento das sensações de toque, frio e calor (termorreceptores), dor (nociceptores) e pressão. Neste grupo de recetores corpusculares incluem-se os corpúsculos de *Vater-Paccini*, os discos de *Merkel*, os corpúsculos de *Meissner*, os corpúsculos de *Ruffini* e os corpúsculos de *Krause*. (1)(9)

Os corpúsculos de *Vater-Paccini* são recetores encapsulados, sensíveis à pressão e às vibrações, que estão intimamente associados à receção de estímulos vibráteis e táteis. Encontram-se amplamente distribuídos na derme e no tecido subcutâneo e têm a capacidade de detetar mudanças repentinas de pressão, que levam à alteração da sua forma, com conseqüente desencadeamento de impulsos nervosos. Apresentam o aspeto de uma cebola, devido ao envolvimento por camadas concêntricas de células de *Schwann* modificadas. Os discos de *Merkel* relacionam-se, à semelhança dos anteriores, com a sensibilidade tátil e de pressão, captando também este tipo de sensações. (1)(9) Os corpúsculos de *Meissner* encontram-se localizados na superfície das palmas das mãos e das plantas dos pés, lábios, língua, rosto e zonas genitais, constituindo-se por esse motivo como recetores de toque. Deformam-se com a pressão, e, através da estimulação das terminações nervosas, sinalizam o córtex cerebral acerca da localização e intensidade do estímulo, adaptando-se facilmente. (9) Relativamente aos corpúsculos de *Ruffini*, os mesmos encontram-se na camada subcutânea da pele e são mecanorreceptores ovais que respondem a fortes pressões e movimentos articulares, podendo ainda detetar frio. (9) Os corpúsculos de *Krause* são os recetores térmicos de frio, sendo muito importantes no processo de termorregulação. (9)

- Derme Reticular ou Profunda

A derme profunda ou reticular localiza-se mais profundamente em relação à subcamada anterior e consiste na área mais espessa da derme. É caracterizada por ser uma malha complexa, constituída por feixes tridimensionais de colagénio, firmemente

agrupados e orientados paralelamente em relação à epiderme, fibras de elastina mais espessas e entrecruzadas, fibras de reticulina mais elásticas, substância fundamental e tecido conjuntivo mais denso. Mais internamente, verifica-se uma transição de tecido fibroso para tecido adiposo, já que existe uma maior aproximação à hipoderme. Assim, depreende-se que a derme é maioritariamente constituída por tecido fibroso (contrariamente à epiderme que apresenta tecido epitelial na sua composição), sendo o seu principal componente o colagénio, uma substância fusiforme produzida pelos fibroblastos e cuja função é a de garantir a hidrofília e o suporte da derme e a de fornecer água à epiderme. (1)(9)

1.3.2.3.1 Constituição Celular da Derme

Pensa-se que a maioria das células constituintes da derme são células imunitárias, sendo designadas por dendrócitos dérmicos. Estas moléculas, de aparência dendrítica e fusiforme, apresentam propriedades fagocíticas e antigénicas, contribuindo desta forma para a capacidade de imunovigilância da derme. Podem ainda estar associadas a processos de cicatrização, de coagulação sanguínea e de inflamação, bem como contribuir ativamente para eventos imunológicos que decorram na epiderme. Incluem-se nesta categoria de células dérmicas os macrófagos, os linfócitos T, os mastócitos e os fibroblastos. Os primeiros funcionam como células apresentadoras de antígenos aos linfócitos T, que estão, por sua vez, associados ao desenvolvimento de reações de hipersensibilidade tardia na pele. Já os mastócitos contribuem para as reações de hipersensibilidade imediata, mediadas por imunoglobulina E. (1)(9)

1.3.2.4 Hipoderme

A hipoderme representa a terceira e última camada da pele, localizando-se mais profundamente e imediatamente abaixo da derme. É um tecido complexo e de união aos órgãos internos, sendo maioritariamente formado por células adiposas e tecido conjuntivo. É muitas vezes denominada como a camada de gordura subcutânea da pele e une a derme aos tecidos subjacentes do corpo. Confere suporte às estruturas vasculares e neurais que fornecem as camadas localizadas acima e contribui ainda para a função imunológica da pele. (9)

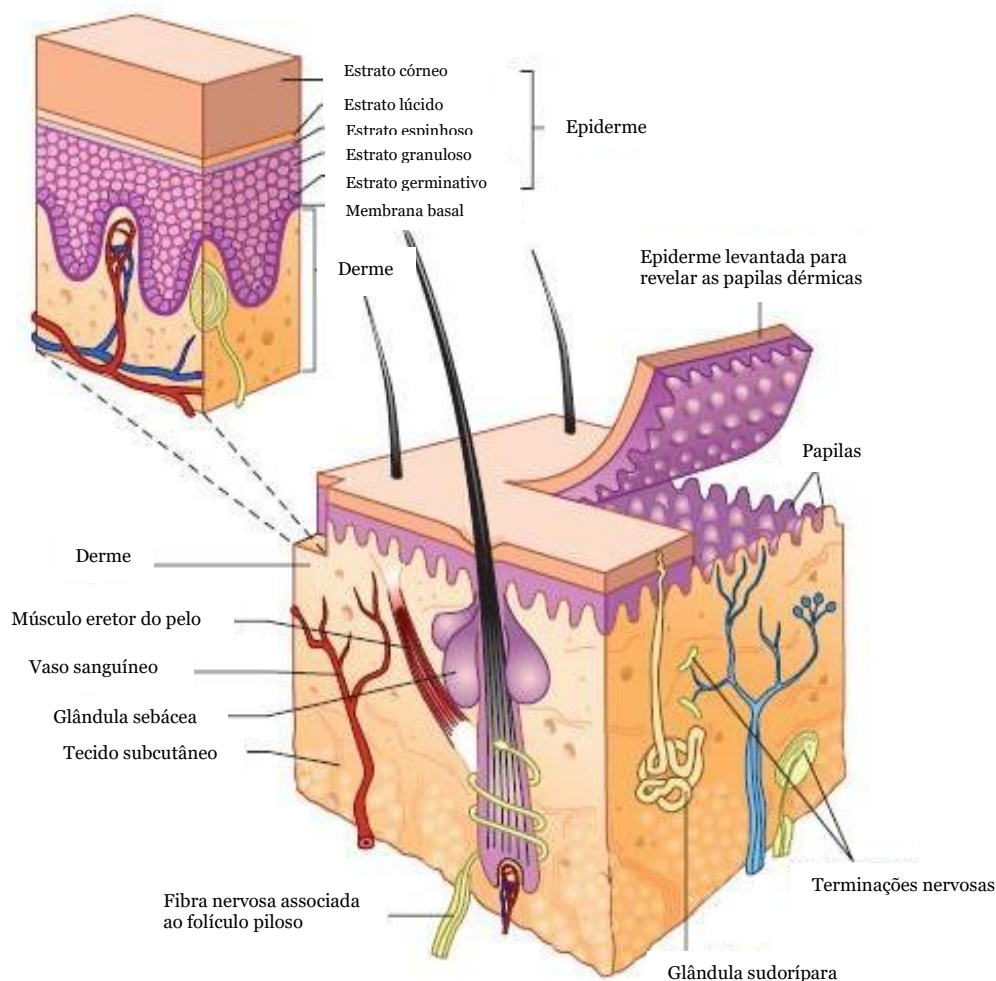


Figura 2. Estrutura da pele (adaptado) (9)

1.3.3 Anexos da Pele

Fazem parte da estrutura da pele os seus anexos ou apêndices - glândulas sudoríparas e sebáceas, folículos pilosos (cabelo e pelo) e as unhas.

1.3.3.1 Glândulas Sudoríparas

As glândulas sudoríparas subdividem-se em dois tipos: glândulas sudoríparas écrinas e glândulas sudoríparas apócrinas. Ambas diferem em relação à sua localização e distribuição, tamanho, número e função.

- Glândulas Sudoríparas Écrinas

As glândulas sudoríparas écrinas são estruturas tubulares simples, originárias da derme, e que drenam diretamente para a superfície sem nenhum folículo piloso associado. São abundantes e estão disseminadas por toda a superfície corporal, exceto nos lábios e na parte externa dos órgãos genitais. Têm como principal função o transporte do suor para a superfície cutânea externa, atuando, deste modo, na termorregulação corporal. (9)

- Glândulas Sudoríparas Apócrinas

Estas estruturas são menos numerosas, mas maiores do que as glândulas sudoríparas écrinas. Estão localizadas na camada dérmica (mais profundamente) e em zonas mais específicas do corpo, não se encontrando amplamente distribuídas. A sua abertura para a superfície é feita através de um folículo piloso, mesmo que não exista pelo presente. Localizam-se principalmente nas virilhas e na zona axilar e produzem uma substância oleosa, que, após ser processada pelas bactérias da pele, origina o chamado odor corporal. (9)

1.3.3.2 Glândulas Sebáceas

As glândulas sebáceas estão amplamente disseminadas por toda a superfície corporal, exceto nas palmas das mãos e plantas dos pés, e segregam uma mistura oleosa – sebo – composta por um conjunto de substâncias lipídicas (triglicéridos, colesterol e cera). A função primordial do sebo (cuja produção é influenciada por fatores hormonais e genéticos) é a lubrificação da pele e do cabelo, evitando ainda a evaporação excessiva da humidade existente no estrato córneo durante o tempo mais frio, contribuindo assim para a manutenção do calor corporal. As glândulas sebáceas têm ainda a particularidade de serem pequenas e de se encontrarem inativas até ser atingida a adolescência e a puberdade. A partir dessa altura ocorre um aumento da produção das hormonas sexuais, com conseqüente estimulação destas glândulas, que aumentam de tamanho. (9)

1.3.3.3 Folículos Pilosos (Cabelo/Pelo)

O pelo e o cabelo originam-se normalmente a partir de um folículo piloso localizado na derme. Toda a sua estrutura consiste não só no folículo piloso em si, mas também na glândula sebácea associada e no músculo eretor do pelo (em alguns casos pode considerar-se ainda a glândula sudorípara apócrina), designando-se este conjunto por unidade pilossebácea. O crescimento do pelo, estrutura queratinizada, centra-se na base ou bolbo do folículo piloso, e apresenta três fases cíclicas distintas: fase anagénica, fase catagénica e fase telogénica. A primeira fase consiste numa etapa de crescimento ativo, enquanto que a segunda se baseia numa atrofia do folículo piloso. A terceira fase, contrariamente à primeira, define-se como uma etapa de repouso, onde não ocorre qualquer crescimento. Para que seja promovido o crescimento do pelo, existe uma rede de vasos sanguíneos associada ao bolbo folicular, garantindo-se deste modo a nutrição e manutenção do folículo piloso. A cor característica do cabelo de cada indivíduo é conseguida graças à transferência dos melanossomas, por parte dos melanócitos localizados no bolbo folicular, para as células da matriz da base do folículo piloso.

Como já referido anteriormente, pertence também à unidade pilosebácea o músculo eretor do pelo, que se encontra localizado sob a glândula sebácea e que tem como função principal a termorregulação corporal, uma vez que a sua contração diminui a área superficial da pele disponível para dissipação do calor corporal, contribuindo assim para a sua preservação. (9)

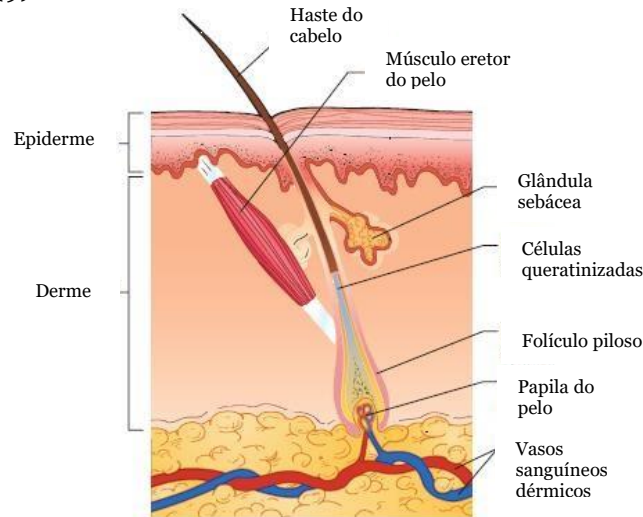


Figura 3. Unidade pilosebácea (adaptado) (9)

1.3.3.4 Unhas

As unhas definem-se como sendo placas endurecidas e de composição queratinosa, que têm como funções a proteção dos dedos das mãos e dos pés e o aumento da destreza. São estruturas resultantes das células mortas da matriz que são empurradas para a superfície e que estão continuamente em crescimento (exceto quando apresentam algum tipo de lesão ou dano). A placa ungueal, uma das estruturas da unha, apresenta uma coloração quase transparente, o que permite conferir a oxigenação sanguínea, já que se visualiza a cor do sangue que percorre a rede vascular dérmica. Além disso, modificações ou anomalias nas unhas podem ser um sinal que permita o diagnóstico de determinadas doenças sistêmicas ou cutâneas. (9)

1.3.4 Propriedades Físicas e Funções

A pele é um órgão complexo e versátil, com diferentes tipos celulares na sua constituição. Tem como principais funções a manutenção e a promoção do bem-estar do organismo, já que dificulta a entrada de microrganismos e de outros agentes nocivos, conferindo proteção em relação ao meio externo e constituindo-se assim como a primeira linha de defesa do corpo humano. Tal deve-se à população celular que contém, dado que a maior parte são células com uma enorme capacidade imunitária (células de *Langerhans*, mastócitos e linfócitos), mas também devido à fina película lipídica que apresenta, uma vez que os ácidos gordos constituintes apresentam uma

grande atividade bactericida. Por outro lado, a função protetora da pele é ainda conseguida graças à flora comensal cutânea, composta por estirpes de microrganismos relativamente inofensivos e que protegem contra estirpes mais virulentas e prejudiciais. Previne ainda que ocorra desidratação, já que limita a perda de água a partir do interior. É um órgão multifuncional com uma enorme capacidade de autorreparação e regeneração celular em caso de dano ou lesão, apresentando a capacidade de iniciar um processo de cicatrização com conseqüente restabelecimento da integridade da barreira cutânea. É também graças à pele que cada indivíduo tem uma aparência única e própria, com características específicas e fundamentais para a identificação de cada um de nós, seja através da coloração da pele ou da própria textura e espessura, que são diferentes de pessoa para pessoa e que variam consoante a região corporal. A termorregulação e a manutenção da homeostasia do organismo são também importantes funções da pele, já que a partir da barreira cutânea são expelidos diversos vapores (vapor de água, dióxido de carbono) ou outras substâncias potencialmente nocivas. A pele é uma cobertura externa do corpo, tendo a capacidade de manifestar tudo aquilo que acontece no interior do organismo. Assim, pode espelhar a existência de doenças sistêmicas que se manifestam cutaneamente, e funciona assim como um sinal de alerta para situações potencialmente mais graves. Além de tudo o que já foi mencionado, a superfície da pele apresenta-se como sendo a interface entre o ambiente externo e o ambiente interno do organismo, sendo um órgão de contacto com o exterior. Graças aos recetores nervosos que abarca, este órgão permite o reconhecimento de diferentes sensações externas (dor, pressão, toque e temperatura), apresentando também uma função somato-sensorial. (1) Esta estrutura pode ainda ser considerada como um órgão endócrino, uma vez que é na mesma que ocorre a síntese da vitamina D, após exposição à radiação solar ultravioleta. Adicionalmente, a pele apresenta um importante papel ao nível do equilíbrio dos fluídos e dos eletrólitos e contribui para o metabolismo da glucose, através das reservas de glicogénio que possui. Assim, a pele é então um sistema altamente dinâmico, onde decorrem interações do foro imunológico, nervoso e endócrino. (1)(9)

No que toca às suas propriedades físicas, a pele não é uma estrutura homogénea, apresentando variações nos diferentes locais do corpo, nomeadamente no que concerne à espessura das camadas, à distribuição das glândulas sudoríparas e ao número e tamanho dos folículos pilosos. (1)

1.3.5 Microbiota da Pele

Uma das principais funções da pele é a proteção contra agentes patogênicos, sendo colonizada por milhões de microrganismos, relativamente inofensivos e até benéficos para o hospedeiro. Todos eles constituem a chamada flora saprófita ou comensal da pele, e incluem-se neste conjunto algumas bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp. e fungos como *Malassezia* spp., entre outros microrganismos. Esta microbiota simbiótica da pele, ao ocupar uma variedade de nichos cutâneos, deixa-os indisponíveis para microrganismos potencialmente nocivos, impedindo assim que ocorra a sua entrada no organismo. Por outro lado, os microrganismos comensais da pele têm ainda a capacidade de alertar os linfócitos T, preparando-os para microrganismos similares mais nocivos. Desta forma, fortalecem o sistema imunitário e auxiliam-no no combate a substâncias externas tóxicas. No entanto, quando ocorre qualquer distúrbio ou desequilíbrio na relação hospedeiro-microrganismo saprófita, derivado de qualquer perturbação endógena ou exógena, é possível que ocorram determinadas infecções ou doenças de pele. (10)

1.4 *Staphylococcus aureus*

1.4.1 Características gerais

Staphylococcus aureus é um coco Gram-positivo, catalase-positivo e coagulase-positivo. (11) Tais características são importantes no diagnóstico deste microrganismo, já que, sendo catalase-positivo, apresenta a enzima catalase que converte o peróxido de hidrogénio em água e oxigénio. Tal reação de conversão leva ao surgimento de umas bolhas, quando se encontra presente o peróxido de hidrogénio. Por outro lado, o facto de ser coagulase-positivo torna-se uma mais-valia na sua identificação, já que *S. aureus* é a espécie mais comum em seres humanos que produz este tipo de enzima. O teste de diagnóstico passa por colocar uma colónia desta bactéria em contacto com uma amostra de plasma. Posteriormente, dá-se a conseqüente ligação da coagulase, produzida pela bactéria, ao fator sérico do plasma, originando-se um coágulo. (12) Esta bactéria, pertencente à família *Micrococcaceae*, é um microrganismo de formato esférico e com 0,5 a 1,5µm de diâmetro, adquirindo geralmente um padrão de disposição microscópico semelhante a cachos de uvas (aglomerados), podendo surgir com outras formas de apresentação menos comuns (em pares, células isoladas ou em cadeias curtas de células). (11)(12) Quando inoculado em gelose-sangue, este microrganismo surge com colónias amarelas ou douradas (devido à produção de pigmentos carotenoides que ocorre durante o seu processo de desenvolvimento),

cremosas, de tamanho médio a grande, lisas, com uma ligeira elevação, translúcidas e beta-hemolíticas. (11)(12) Não apresenta a formação de endósporos no seu crescimento e são células imóveis, tendo a capacidade de crescer numa diversidade de condições: anaerobiose e aerobiose (anaeróbios facultativos), na presença de grandes quantidades de sal e numa gama de temperaturas dos 18 aos 40°C. (12) De uma forma geral, os membros pertencentes ao género *Staphylococcus* são importantes agentes patogénicos humanos, estando implicados em diversas infeções sistémicas fatais (infeções da pele e dos tecidos moles, dos ossos e do trato urinário), e também em infeções oportunistas, que surgem quando o sistema imunitário do hospedeiro se encontra mais enfraquecido. Dentro deste género, *S. aureus* é o membro mais virulento e mais estudado. (11)(12)

1.4.2 Estrutura

Sendo uma bactéria Gram-positiva, *S. aureus* apresenta uma parede celular espessa de peptidoglicano (20-80nm) situada exteriormente à membrana celular, e cuja constituição maioritária são 10 a 12 subunidades alternadas de ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglucosamina (polímero misto de açúcares hexose), ligadas entre si por ligações glicosídicas, e aminoácidos. Esta substância glicana confere uma maior espessura, rigidez e estrutura à parede celular da bactéria e funciona como um fator de virulência, uma vez que apresenta atividade de endotoxina, que estimula a produção de pirogénios endógenos e ativa o sistema imunitário nas suas diferentes componentes. A parede celular tem ainda na sua composição ácidos lipoteicóicos, substâncias específicas desta espécie microbiana que atravessam a parede celular e que se ancoram à membrana celular. Isoladamente, são componentes pouco imunogénicos, mas quando em conjunto com a camada peptidoglicana, os ácidos lipoteicóicos estimulam uma resposta imunitária específica, com a consequente produção de anticorpos. (12)(13) Localizada na parede celular de *S. aureus* está a proteína A, uma proteína específica desta espécie que se constitui como um fator de virulência. (12)

Exteriormente à parede celular encontra-se uma cápsula polissacarídea, comum a todas as espécies pertencentes ao género *Staphylococcus*, e que permite a identificação de 11 serotipos distintos. Os serotipos 5 e 8 são os mais associados a infeções no ser humano, uma vez que a cápsula possibilita a inibição da fagocitose por parte das células do sistema imunitário do hospedeiro e contribui para a virulência destes microrganismos. No que concerne aos serotipos 1 e 2, associam-se a cápsulas polissacarídeas mais grossas e a colónias de aspeto mucoide, não se relacionando tanto com doença em humanos. (12)

Superficialmente, *S. aureus* apresenta proteínas de adesão, que permitem que este microrganismo se ligue às proteínas da matriz do hospedeiro (colagénio, elastina,

fibronectina, fibrinogénio). Estas proteínas de adesão à superfície, que permitem uma maior ligação ao hospedeiro, encontram-se covalentemente ligadas à camada peptidoglicana da parede celular. (12) No que toca à sua membrana citoplasmática, é constituída por um complexo de proteínas e lípidos e ainda por uma pequena quantidade de hidratos de carbono, funcionando principalmente como uma barreira osmótica para a bactéria. (12)

1.4.3 Epidemiologia

S. aureus, cujo reservatório natural é o Homem, é um microrganismo comensal da pele e das superfícies mucosas, da zona anterior das narinas, nasofaringe e orofaringe, da área perianal e do trato gastrointestinal e genito-urinário, podendo ainda colonizar as pregas corporais (zonas mais húmidas) e o cordão umbilical. (11)(12)

No que concerne ao seu modo de transmissão, *S. aureus* ganha facilmente acesso a locais estéreis através de trauma/dano (sendo um organismo comensal da pele, e após a mesma apresentar uma lesão, esta bactéria consegue invadir com facilidade as camadas mais internas deste órgão, com a possibilidade de desenvolvimento de uma consequente infeção), contacto direto pessoa-a-pessoa, ou indireto, através de fómites (objetos contaminados). (11)(12) Este microrganismo tem a capacidade de sobreviver em superfícies secas durante longos períodos, devido à ausência de membrana externa e à presença de uma camada peptidoglicana espessa. (12)

Relativamente aos fatores de risco que contribuem para uma possível contaminação com esta bactéria, incluem-se neste grupo a implantação de corpos estranhos no organismo (próteses, cateteres, suturas) que possibilitam a formação de biofilmes e a consequente disseminação de *S. aureus* a partir destas estruturas, assim como procedimentos cirúrgicos prévios e a administração de antibióticos, uma vez que os mesmos acabam por eliminar muitos dos constituintes da flora normal microbiana, suprimindo-se desta forma o sistema imunitário. (12)

Relativamente aos grupos de risco, consideram-se os bebés (aos quais é associada com frequência a síndrome da pele escaldada), crianças mais pequenas com pobre higiene pessoal (destaca-se nesta população o impetigo e outras infeções de foro cutâneo), mulheres quando menstruadas (síndrome do choque tóxico), doentes com cateteres intravasculares, onde existe uma maior probabilidade de ocorrência de bacteremia e endocardite, e doentes com função pulmonar comprometida ou com antecedentes de infeção respiratória viral (possibilidade de pneumonia). (12)

1.4.4 Fatores de Virulência

Esta espécie bacteriana é bastante virulenta, apresentando uma enorme capacidade de invasão e destruição tecidual, com conseqüente desenvolvimento de infecção e doença. Este perfil de patogenicidade é, em grande parte, devida a todos os fatores de virulência que *S. aureus* apresenta e que lhe permitem sobreviver no local da infecção e escapar ao sistema imunitário do hospedeiro. (11) De uma maneira geral, estes fatores incluem componentes estruturais que facilitam a adesão da bactéria aos tecidos do hospedeiro e evitam a fagocitose, e ainda toxinas e enzimas hidrolíticas. (12)

Relativamente aos componentes estruturais que atuam como fatores de virulência, incluem-se neste conjunto a cápsula polissacarídea, já que inibe a quimiotaxia das células do sistema imunitário associada ao processo de fagocitose. Por outro lado, a designada *slime layer* de *S. aureus* - camada de material extracelular que envolve as bactérias - é um fator de virulência, uma vez que tem uma ação antifagocítica e facilita a adesão da bactéria a corpos estranhos e ao hospedeiro, permitindo a sua entrada no organismo. O peptidoglicano constituinte da parede celular inclui-se também neste contexto, pois, além de apresentar uma atividade antifagocítica e de *endotoxin-like*, estimula a produção de pirogênios endógenos, fornece estabilidade osmótica à célula e está envolvida na formação de abscessos. Por outro lado, também o ácido teicóico é um fator de virulência deste microrganismo, pois liga-se à fibronectina da matriz do hospedeiro, levando ao desenvolvimento de uma resposta por parte do seu sistema imunitário. Por fim, a proteína A é um importante fator de patogenicidade, uma vez que se liga numa orientação incorreta às regiões Fc das imunoglobulinas (IgG), posição não favorável à ocorrência de fagocitose. (12)

No que concerne às toxinas, muitas das infecções causadas por *S. aureus* são devidas à produção destas substâncias. Incluem-se neste grupo as citotoxinas/toxinas citolíticas, as toxinas exfoliativas, as enterotoxinas e a toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1). As primeiras são nocivas para diversos tipos celulares - eritrócitos, fibroblastos, leucócitos, macrófagos, neutrófilos e plaquetas - uma vez que danificam as membranas e são responsáveis pela sua lise. Estão associadas a infecções pulmonares e cutâneas mais severas e incluem as toxinas alfa, beta, delta, gama e a leucocidina *Panton-Valentine*. Relativamente às toxinas exfoliativas - toxina esfoliativa A (ETA) e toxina esfoliativa (ETB) - as mesmas são serino-proteases que clivam as pontes intercelulares no estrato granuloso da epiderme, estando frequentemente associadas, entre outras doenças, à síndrome da pele escaldada estafilocócica. No que toca às enterotoxinas (A-R), estas são substâncias termoestáveis e resistentes às enzimas do trato digestivo, frequentemente encontradas em alimentos contaminados e associadas a intoxicações alimentares. Designam-se por superantígenos, uma vez que estimulam a proliferação dos linfócitos T e a libertação de

citocinas e de mediadores inflamatórios, com consequente aumento do peristaltismo intestinal, perda de fluídos, náuseas e vômitos. Por fim, no que concerne à t TSST-1, e tal como as enterotoxinas, é também designada como sendo um superantígeno. Assim, a proliferação dos linfócitos T e a libertação de citocinas que induz resulta na produção de líquido ou na destruição das células endoteliais, com consequente desenvolvimento da síndrome do choque tóxico. Quer as enterotoxinas quer a TSST-1, ambas superantígenos, ao se ligarem às moléculas de classe II do complexo major de histocompatibilidade e ao estimularem os linfócitos T, provocam sintomas como a hipotensão e a febre. (12)(13)

No que toca às enzimas hidrolíticas, constituem-se como fatores de virulência de *S. aureus* a coagulase, a hialuronidase, a fibrinolisinase, as lipases e as nucleases. A coagulase é uma enzima que participa ativamente na conversão do fibrinogénio do plasma sanguíneo em fibrina, formando-se, por consequência, um coágulo. (12) Embora ainda se desconheça o papel desta enzima na patogenicidade de *S. aureus*, pensa-se que a mesma cause a formação de uma camada de fibrina ao redor do abscesso causado pela bactéria, protegendo-a da fagocitose e localizando a infeção. Deste modo, sendo uma característica específica desta bactéria, o teste da coagulase é uma ótima ferramenta de diagnóstico de *S. aureus*. No que toca à hialuronidase, é responsável pela hidrolisação do ácido hialurónico existente na matriz do tecido conjuntivo, promovendo-se a disseminação do microrganismo para os tecidos subjacentes. A fibrinolisinase é responsável pela dissolução dos coágulos de fibrina, e as nucleases termoestáveis encontram-se associadas à hidrólise do ácido desoxirribonucleico (DNA). Por fim, as lipases estão associadas à hidrólise dos lípidos, permitindo que a bactéria consiga manter-se viável e sobreviver em áreas mais sebáceas do organismo. (12)

1.4.5 Patogénese de Doença

S. aureus encontra-se frequentemente envolvido numa variedade de infeções, destacando-se as infeções da pele e dos tecidos moles, a partir das quais pode atingir tecidos mais profundos e alcançar a corrente sanguínea, com bacteremia resultante e possível disseminação para órgãos mais internos. Esta bactéria pode ainda constituir-se como o agente etiológico de infeções respiratórias, urinárias e ósseas, estando ainda muito associada a infeções adquiridas em ambiente nosocomial. Nesta dissertação vão estar em destaque as infeções cutâneas associadas a este microrganismo. (12)(13)

De um modo geral, uma infeção cutânea inicia-se quando um agente etiológico tem a capacidade de penetrar no estrato córneo, normalmente após a perda da integridade e continuidade da pele, dado que é criada uma porta de entrada para os tecidos internos. Seguidamente, e face à invasão pelo microrganismo, o sistema imunitário do

hospedeiro é ativado, ocorrendo a produção de citocinas inflamatórias, o recrutamento de neutrófilos e a ativação do sistema do complemento, com vista à eliminação do agente patogénico. As infeções cutâneas podem ainda resultar de infeções sistémicas, nas quais ocorre uma disseminação hematogénica a partir do foco infeccioso para a pele, ou ainda através da produção de toxinas por parte dos microrganismos. (13)

No caso específico de *S. aureus*, a doença ocorre por um de dois mecanismos possíveis: através da produção de toxinas ou da invasão direta dos tecidos e posterior proliferação, com conseqüente formação de abscessos e destruição tecidual associada. Em relação à primeira hipótese, mesmo que o microrganismo permaneça localizado num determinado tecido, as toxinas por ele produzidas acabam por disseminar-se, levando ao surgimento de efeitos sistémicos. (11) Desta forma, podem incluir-se nas infeções cutâneas causadas por *S. aureus* a foliculite, os furúnculos, os carbúnculos, os abscessos, as infeções estafilocócicas a partir de feridas, o impetigo bolhoso, a celulite, a síndrome da pele escaldada, a gangrena bacteriana sinérgica e a fascíte necrotizante. (12)(13)

- Foliculite

A foliculite define-se como sendo uma infeção piogénica (produtora de pus), estando localizada nos folículos capilares. Nestas situações, a base do folículo apresenta uma elevação e um tom avermelhado, estando associada uma pequena quantidade de pus abaixo da superfície epidérmica. Quando esta infeção ocorre na pálpebra, designa-se por terçolho. (12)



Figura 4. Foliculite (14)

- Furúnculos

Os furúnculos são uma extensão da foliculite, resultando de uma progressão mais profunda da infeção e inflamação dos folículos pilosos da pele. Tem início dois a quatro dias após a inoculação com o microrganismo e caracteriza-se pela presença de nódulos grandes, dolorosos, com elevação e de conteúdo purulento, que podem drenar de forma espontânea ou recorrendo a meios cirúrgicos. O local da infeção permite que o microrganismo esteja protegido das defesas do hospedeiro, o que é favorável à sua rápida multiplicação e ao surgimento de uma resposta inflamatória intensa, com

recrutamento e influxo de neutrófilos. Posteriormente ocorre a deposição de fibrina, ficando o local da lesão cercado. (11)(12)(13)



Figura 5. Furúnculo (2)

- Carbúnculos

Os carbúnculos surgem quando os furúnculos coalescem e se disseminam para o tecido subcutâneo localizado mais profundamente. Ocorre uma invasão do microrganismo para a corrente sanguínea – bacteremia – com conseqüente aparecimento de sintomas indicativos desta disseminação para outros tecidos (febre e calafrios). (11)(12)



Figura 6. Carbúnculo (15)

- Abcessos

Os abcessos apresentam um conteúdo purulento, de cor amarelada e de aparência cremosa, tendo no seu interior uma grande quantidade de microrganismos e células leucocitárias necróticas. Normalmente existe uma expansão lenta do abscesso, podendo existir a corrosão da pele subjacente, sendo que, a um determinado momento, atingem o seu máximo e acabam por drenar espontaneamente. No caso de a drenagem espontânea do abscesso ser interna, a bactéria pode disseminar-se sistemicamente e ser causadora de infecções mais graves (peritonite, meningite). O tratamento dos abcessos está muito dependente da gravidade e da recorrência da infecção, bem como do surgimento de sintomas que indiquem uma disseminação sistêmica do microrganismo. Se se tratar de uma infecção ligeira, apenas a drenagem do abscesso é suficiente. No caso

de a infecção ser mais severa, ocorrer com maior frequência, ou existir febre, além da drenagem é necessária a administração de antibióticos orais. (13)



Figura 7. Abscesso cutâneo na zona da coxa, cuja pústula se encontra perto de drenagem espontânea (16)



Figura 8. Abscesso cutâneo com celulite subjacente (14)

- Infeções estafilocócicas de feridas

Este tipo de condição surge normalmente após a realização de procedimentos cirúrgicos ou após lesão ou trauma da pele. Tal acontece devido à entrada de microrganismos comensais da pele nas feridas em questão ou até mesmo devido à presença de corpos estranhos nessas lesões, resultando no aparecimento de sinais característicos de infecção: edema, eritema, dor e acumulação de material purulento. No que concerne ao tratamento, o corpo estranho deve ser removido o mais rapidamente possível e a ferida purulenta deve ser drenada. Nos casos em que surja febre ou mau estar geral, aconselha-se antibioterapia oral direcionada para *S. aureus*. (12)

- Impetigo

O impetigo define-se como sendo uma infecção cutânea superficial localizada, limitada à epiderme, e que atinge principalmente crianças mais pequenas, afetando essencialmente o rosto e os membros. Inicialmente verifica-se uma pequena mácula (mancha vermelha achatada), surgindo posteriormente uma pústula, vesícula purulenta de base eritematosa. Por fim, e após a rutura desta pústula, surgem crostas que, normalmente, apresentam uma coloração amarelada. Podem verificar-se simultaneamente vesículas em diferentes estágios de desenvolvimento, devido à disseminação secundária para locais adjacentes da pele. (11)(12) No que toca ao tratamento, podem ser administrados antibióticos, sendo opções a penicilina ou a eritromicina, em caso de alergia à primeira. (13)



Figura 9. Impetigo nas narinas (14)

- Celulite

A celulite é uma infecção que se localiza no tecido subcutâneo e que surge a partir de lesões superficiais pré-existentes (furúnculos, úlceras ou após trauma). Ao instalar-se, progride rapidamente (horas ou dias após o trauma) e de forma severa e caracteriza-se por lesões tumefactas, sensíveis, endurecidas, quentes e avermelhadas, podendo estar presentes à superfície bolhas grandes ou crostas. Os gânglios linfáticos regionais aumentam de tamanho e surgem sintomas que refletem uma disseminação sistémica do microrganismo (mau estar geral, calafrios e febre). O tratamento deve abranger estreptococos e estafilococos, uma vez que os principais microrganismos causadores desta condição são *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes*. (13)



Figura 10. Celulite (16)



Figura 11. Celulite na parede abdominal (2)

- Síndrome da pele escaldada

A síndrome da pele escaldada consiste numa descamação extensiva e disseminada da epiderme e resulta da produção de uma toxina exfoliativa por parte de *S. aureus* – toxina esfoliativa. Esta substância tem a capacidade de destruir as junções intercelulares que existem no epitélio epidérmico, favorecendo-se desta forma a separação da camada superior da epiderme. Esta condição inicia-se de forma abrupta a partir de um eritema perioral localizado, com inflamação e vermelhidão em redor da boca, e disseminando-se para o resto do corpo em dois dias. Caracteriza-se por um deslocamento da pele face a uma ligeira pressão (sinal de *Nikolsky* positivo), e ainda pelo aparecimento de bolhas cutâneas e descamação do epitélio em seguida, o que confere uma aparência semelhante a uma queimadura. (11) As bolhas cutâneas anteriormente referidas contêm no seu interior um líquido claro, não se verificando a presença de quaisquer microrganismos ou de células leucocitárias, uma vez que a doença não é causada pelo microrganismo em si, mas sim pela toxina por ele produzida. O epitélio regressa novamente ao normal ao fim de sete a dez dias, uma vez que é após esse período que são produzidos os anticorpos contra a toxina causadora da infeção. Afeta principalmente recém-nascidos e crianças pequenas, que normalmente demonstram desconforto e irritabilidade, e apresenta uma taxa de mortalidade baixa (<5%). (12)(13) No que concerne ao tratamento, a síndrome da pele escaldada requer

uma constante reposição de fluídos e administração de antibióticos por via parentérica. (13)

Existe ainda uma forma localizada desta infecção designada por impetigo bolhoso, no qual estirpes específicas de *S. aureus* produtores de toxinas estão associadas à formação de bolhas cutâneas superficiais. Contrariamente à síndrome da pele escaldada, nesta forma não disseminada da infecção estas bolhas apresentam microrganismos no seu interior, o eritema apresentado não se estende além das bolhas e o sinal de *Nikolsky* é negativo. Afeta igualmente crianças pequenas e bebês e é altamente transmissível. (12)



Figura 12. Síndrome da pele escaldada (12)

- Gangrena bacteriana sinérgica

A gangrena bacteriana é uma infecção rara, mas destrutiva e geralmente fatal, provocada não só por *S. aureus*, mas também por estreptococos microaerófilos. Normalmente surge após cirurgia (especialmente na zona genital e virilha) e origina-se no local do dreno ou da sutura. Nesta área, a celulite resultante desenvolve-se na pele subjacente e dissemina-se rapidamente, deixando um centro necrótico de coloração preta. Relativamente ao tratamento, o que geralmente acontece é a excisão radical da área necrosada e a administração sistémica de antibióticos. (13)



Figura 13. Gangrena (2)

- Fasceíte necrotizante

A fasceíte necrotizante localiza-se mais profundamente e consiste numa resposta inflamatória face à infeção dos tecidos moles que se encontram situados abaixo da derme. É uma infeção normalmente fatal, altamente tóxica e mista, uma vez que é causada por microrganismos anaeróbios e anaeróbios facultativos. A sua disseminação é muito rápida, atingindo os compartimentos fasciais e comprometendo desta forma o aporte sanguíneo aos órgãos, músculos e outras estruturas corporais. Tal resulta numa fraca oxigenação e conseqüente isquemia destas zonas anatómicas, podendo associar-se a esta condição a gangrena (acompanhada de mionecrose no que toca à camada muscular, e da produção de gás, resultante do metabolismo fermentativo dos microrganismos anaeróbios, nos tecidos – gangrena gasosa). Ocorre deste modo uma necrose generalizada, com comprometimento dos tecidos circundantes. Nestes casos, a excisão radical de toda a área necrótica é fundamental, devendo existir concomitantemente uma terapia antibiótica sistémica e antibioterapia localizada na ferida. (13)



Figura 14. Fasceíte necrotizante (15)

1.4.6 Diagnóstico

A identificação de *S. aureus* é feita recorrendo-se a métodos laboratoriais.

Podem ser utilizadas metodologias de deteção diretas, onde se incluem as técnicas da coloração de Gram e os testes baseados em ácidos nucleicos. Com a coloração de Gram, *S. aureus* é visualizado microscopicamente, observando-se como cocos Gram-positivos, agrupados em aglomerados. No que toca à segunda metodologia, a mesma consiste em testes de amplificação dos ácidos nucleicos da bactéria, para que possa ser detetada a sua presença e posterior identificação em amostras clínicas. (11)(12)

É também possível o diagnóstico deste microrganismo através dos métodos de cultura. Amostras com esta bactéria podem ser inoculadas em meios de cultura onde se favoreça o seu crescimento, como a gelose-sangue (meio de agar enriquecido com sangue de ovelha) ou a gelose-chocolate, e ainda em meios seletivos que são utilizados para isolar *S. aureus* do restante material clínico, sendo exemplo o meio agar de manitol-sal (MSA), que contém o açúcar manitol numa concentração elevada, cloreto de sódio a 7,5% que inibe o crescimento da maior parte dos microrganismos, e um indicador de pH (vermelho de fenol). O que acontece nesta situação é que *S. aureus*, apresentando a capacidade de crescer na presença do açúcar e de o fermentar (contrariamente à maioria de outros estafilococos), produz colónias que são envolvidas por um halo amarelo, característica importante e bastante útil na sua identificação. No que toca aos restantes meios de cultura, as colónias são de tamanho médio a grande, beta-hemolíticas, com uma ligeira elevação, de pigmentação amarelo-esbranquiçada e de aparência cremosa. (11)(12)

É possível ainda, e tendo em conta as características de *S. aureus* (coagulase-positivo, catalase-positivo), proceder à sua identificação através de testes bioquímicos. (12)

1.4.7 Tratamento

De uma maneira geral, se o tipo de infeção cutânea causada por *S. aureus* for localizada e sem a apresentação de sinais sistémicos, o tratamento prende-se com a incisão e drenagem da lesão, se aplicável. Por outro lado, no caso de a área afetada ser mais extensa e surgirem sintomas como febre, calafrios ou outros sinais de disseminação do microrganismo para a corrente sanguínea, deve ser feita antibioterapia oral. Tendo em conta que a maioria das infeções adquiridas na comunidade são causadas por MRSA, a terapia oral pode incluir a combinação trimetoprim-sulfametoxazol, uma tetraciclina de ação prolongada, como a doxiciclina ou a minociclina, a clindamicina ou a linezolida. Para o tratamento por via parentérica, a escolha preferencial é a vancomicina, existindo alternativas como a daptomicina, a tigeciclina ou a linezolida. (12)

2 Objetivo do Estudo

A presente dissertação apresentou como objetivo principal a avaliação do efeito da luz - em particular da luz visível e infravermelha - no crescimento de uma das bactérias comensais da pele mais conhecidas, *Staphylococcus aureus*, um dos principais microrganismos pertencentes à flora saprófita cutânea e um dos agentes etiológicos mais frequentemente envolvidos em infeções cutâneas. Foi utilizada uma estirpe *American Type Culture Collection*, ou abreviadamente ATCC

6538 e uma estirpe clínica deste microrganismo, sendo esta última sensível à metilina e isolada a partir de uma amostra clínica.

Para este tipo de estudo foram utilizadas duas lâmpadas de diferentes comprimentos de onda, o que permitiu comparar ambas em relação ao efeito causado na bactéria. Recorreu-se a uma lâmpada de 660nm (gama do visível) e a uma lâmpada de 940nm (gama do infravermelho), atualmente utilizadas para fins clínicos – efeito cicatrizante de feridas e dores reumáticas, respetivamente.

3 Materiais e Métodos

3.1 Materiais

3.1.1 Equipamentos

- Centrífuga *MiniSpin Eppendorf*, Hamburgo, Alemanha
- Agitador Orbital *Agitorb 200*, Aralab, Lisboa, Portugal
- Estufa *Binder*, Dias de Sousa S.A., Setúbal, Portugal
- Lâmpada *BioBeam™* 940nm, 220V, AMCOR, de aplicação clínica, com respetivos anéis espaçadores (largo e estreito), *SyroLight Ltd.*, Israel
- Lâmpada *BioBeam™* 660nm, 220V, AMCOR, de aplicação clínica, com respetivos anéis espaçadores (largo e estreito), *SyroLight Ltd.*, Israel
- Contador de Colónias *Colony Counter Digital S*, J.P. Selecta S.A., Barcelona, Espanha
- Espetrofotómetro UV-1700 *PharmaSpec*, Shimadzu Corp., Quioto, Japão
- Agitador Vórtex, Labnet International, Inc., Edison, Nova Jersey, Estados Unidos da América
- Balança de Precisão *RADWAG PS 2100.R2*, Radom, Polónia
- Balança de Precisão *KERN PLJ 510-3M*, Albstadt, Alemanha
- Micropipetas de 1000µL e 200µL, Dragon Lab., Pequim, China
- Sistema de água Milli-Q, *Milli-Q*, Millipore, Merck, Darmstadt, Alemanha

3.1.2 Material de Laboratório

- *Eppendorfs* de 1mL
- Tubos de *Falcon* de Plástico de 10mL

- Placas de *Petri*
- Ansa Estéreis
- *Erlenmeyers* de 50mL e de 1L
- Rolhas de Algodão Cardado
- Frascos de Vidro de 1L
- Bico de *Bunsen*
- Pontas para Micropipetas de 200 μ L e de 1000 μ L
- Pipeta Graduada Estéril/Serológica de 5mL
- Pompe
- Cuvetes Descartáveis de 2mL
- Fita de Autoclavagem
- Papel de Alumínio
- Suporte para *Eppendorfs* e para Tubos de *Falcon*
- Rolo de Papel
- Colher de Inox

3.1.3 Soluções e Meios de Cultura

- Meio de Cultura TSA (*Tryptic Soy Agar*), VWR Chemicals, VWR International, LLC, Radnor, Pensilvânia, Estados Unidos da América
- Meio de Cultura TSB (*Tryptic Soy Broth*), HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Einhausen, Alemanha
- PBS 10X, 1.37M NaCl, Fisher Scientific International, Inc., New Hampshire, Estados Unidos da América; 27mM KCl, ChemLab, Zedelgem, Bélgica; 100mM Na₂HPO₄, Fisher Scientific International, Inc., New Hampshire, Estados Unidos da América; 20mM KH₂PO₄, ChemLab, Zedelgem, Bélgica
- Álcool a 70% (V/V), CICS-FCS UBI, Covilhã, Portugal
- Água Milli-Q, Millipore, Merck, Darmstadt, Alemanha
- Lixívia (descontaminação do material), CICS-FCS UBI, Covilhã, Portugal
- Água Destilada, CICS-FCS UBI, Covilhã, Portugal
- Detergente (lavagem do material), CICS-FCS UBI, Covilhã, Portugal

3.1.4 Material Biológico

Para a realização deste estudo, foram avaliadas duas estirpes diferentes de *S. aureus*: uma estirpe ATCC 6538 e uma estirpe clínica gentilmente cedida pelo Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB). A primeira inclui-se numa panóplia de microrganismos padrão de referência e

de origem norte-americana, sendo uma estirpe comercial previamente estudada e inicialmente considerada patogénica. No que toca à estirpe clínica, é originária de uma amostra clínica e foi designada pelas suas características, tal como identificadas pelo serviço de patologia clínica do CHUCB, como MSSA.

3.2 Métodos

O estudo em questão subdividiu-se em diferentes etapas, que serão em seguida analisadas ao pormenor.

3.2.1 Preparação do Inóculo Inicial

Todo o trabalho laboratorial teve como ponto de partida um inóculo inicial de uma estirpe ATCC de *S. aureus*, que se encontrava inicialmente congelada em glicerol. Após o seu descongelamento, inoculou-se uma placa de meio de cultura *Tryptic Soy Agar* (TSA) - através do método de estrias - tendo ficado na estufa durante um período mínimo de 18h. Depois, para que as células de *S. aureus* se adaptassem perfeitamente ao novo meio de cultura, foi feita uma nova inoculação da bactéria para uma nova placa com TSA, tendo sido colocada novamente na estufa. Após este período de incubação e posterior formação das colónias de *S. aureus*, esta última placa de *Petri* foi colocada no frigorífico, tendo sido daqui retiradas, com o auxílio de uma ansa estéril, as colónias que posteriormente seriam utilizadas para a suspensão celular.

3.2.2 Repicagem das Estirpes

A repicagem das estirpes de *S. aureus* é necessária para a obtenção da sua curva de crescimento e para a realização do ensaio em si. Este método consiste na transferência de colónias da bactéria para uma nova placa com meio de cultura TSA. Assim, são fornecidas às bactérias as condições adequadas para a sua multiplicação e para a manutenção da sua viabilidade.

Antes de iniciar este procedimento de repicagem deve garantir-se total assepsia, desinfetando a bancada de trabalho e as mãos com etanol a 70% e trabalhando sempre à chama (bico de *Bunsen*). Depois, deve retirar-se uma colónia isolada, com o auxílio de uma ansa estéril, e, através do método de estrias, inocular numa nova placa de *Petri* identificada e com meio TSA previamente autoclavado. Posteriormente, deve incubar-se a placa na estufa, a 37°C, durante 18-24h, tendo o cuidado de a colocar com o agar voltado para cima (evita-se a influência da condensação do vapor). Para a estirpe clínica de MSSA devem fazer-se duas repicagens, para que as bactérias possam adaptar-se ao novo meio de cultura.

3.2.3 Preparação da Suspensão de Células de *S. aureus*

É necessário preparar-se uma suspensão concentrada de células da cultura. Para tal, retira-se uma colónia isolada da mesma com uma ansa estéril, e ressuspende-se num volume não exato de meio de cultura líquido *Tryptic Soy Broth* – TSB – num tubo de plástico com tampa, com uma capacidade de 10mL. Deve ter-se em atenção que durante todo este procedimento devem manter-se as condições de assepsia e esterilidade, o que inclui trabalhar à chama e flamejar ligeiramente a boca do tubo no bico de *Bunsen*. Da suspensão anteriormente preparada, retiram-se 2mL, após homogeneização, e coloca-se este volume numa cuvete descartável, lendo-se em seguida a densidade ótica a 600nm. Após a obtenção desse valor, fazem-se os cálculos para saber que volume retirar da suspensão celular inicialmente preparada, com vista à obtenção de um volume final de 10mL e de uma densidade ótica que se encontre entre 0.05 e 0.1 (aplicação da fórmula $C_i V_i = C_f V_f$). A gama anteriormente mencionada é um intervalo de valores de densidade ótica fixo. Se este valor for ultrapassado devem fazer-se as diluições necessárias com meio de cultura TSB até ser atingido o valor pretendido, para que todos os ensaios se iniciem de forma uniforme.

3.2.4 Preparação dos Meios de Cultura TSA e TSB

Os meios de cultura TSA e TSB encontram-se inicialmente desidratados, sendo necessária a sua pesagem, hidratação e autoclavagem antes de serem utilizados. Devem pesar-se em quantidade suficiente para um frasco de vidro, dependendo do número de placas a inocular e também do que consta na embalagem do próprio reagente. Após a pesagem de cada um dos meios de cultura, devem hidratar-se os frascos de vidro com água *milli-Q* até ao volume final pretendido e homogeneizar, para posterior autoclavagem. Até à inoculação das placas, é importante manter o frasco de vidro que contém o TSA autoclavado num banho de água a 70°C, para que o mesmo não solidifique. Caso contrário, não seria possível inocular as placas com esse meio.

3.2.5 Curva de Crescimento Bacteriano

A obtenção da curva de crescimento de *S. aureus* foi efetuada apenas com a estirpe ATCC (assumiu-se que, no que concerne à estirpe clínica, não existiriam alterações na curva de crescimento, tendo em conta que se trata da mesma espécie). Esta é uma etapa fundamental que indica as diferentes fases de crescimento da bactéria em questão, permitindo saber a que altura deve ser colocado o estímulo luminoso, com vista a verificar a influência da luz nas diferentes fases de crescimento do microrganismo.

Para este procedimento recorreu-se ao método da densidade ótica. Utiliza-se um espectrofotómetro, fixando-o num comprimento de onda previamente definido, 10 a 15 minutos antes da leitura. A mesma pode fazer-se entre os 540 e os 660nm (zona do

visível) tendo sido selecionado o comprimento de onda dos 600nm. Antes de cada medida, é importante calibrar o aparelho com um branco – meio de cultura isento de inóculo – e só posteriormente é colocada a suspensão celular após ser homogeneizada, recorrendo a agitação no vórtex. No caso de a densidade ótica das amostras celulares de *S. aureus* ser superior a 1.2., deve proceder-se à sua diluição (segundo a lei de *Lambert-Beer*, há uma perda de linearidade nestes casos, não existindo confiança nos valores obtidos). Após ajuste da densidade ótica, retira-se o volume calculado de suspensão e coloca-se num *Erlenmeyer* de 50mL, perfazendo os 10mL de volume final pretendido. Posteriormente, retira-se, do *Erlenmeyer* um volume de 2mL para uma cuvete descartável e mede-se novamente a densidade ótica, sempre a 600nm. Depois desta primeira leitura, coloca-se o *Erlenmeyer* com a suspensão celular num agitador orbital, a 180 rpm e a 37°C. 1h depois, lêem-se novamente as densidades óticas.

Todas estas etapas repetem-se num período de 7h, ao fim do qual é possível obter um gráfico Densidade Ótica a 600nm (OD_{600nm}) vs Tempo (horas), que corresponde à curva de crescimento do microrganismo. Após a visualização desta curva, conseguem estabelecer-se as fases de crescimento da bactéria, dividindo-se estas em fase de latência, fase exponencial e fase estacionária, ao fim das quais será aplicado o estímulo luminoso.

3.2.6 Ensaio com Aplicação da Luz nas Diferentes Fases de Crescimento

Após o procedimento de ajuste da densidade ótica ser realizado, coloca-se o *Erlenmeyer*, já com a suspensão de células de *S. aureus*, no agitador orbital (180 rotações por minuto ou rpm, 37°C), durante um determinado período, dependendo da fase de crescimento onde se quer estudar a influência da luz (1h para a fase de latência, 2h para a fase exponencial e 5:30h para a fase estacionária). Estes intervalos de tempo foram selecionados tendo em conta a curva de crescimento obtida anteriormente.

Depois de passar o tempo necessário, retira-se o *Erlenmeyer* do agitador orbital e é novamente medida a densidade ótica, para verificar se as bactérias ainda se encontram na fase que se pretende estudar. Posteriormente, retiram-se 3mL do conteúdo do *Erlenmeyer*, dividindo-se esse volume por 3 *Eppendorfs* (1mL para cada *Eppendorf*). Os 3 *Eppendorfs* utilizados devem estar identificados e correspondem respetivamente à aplicação da luz de 660nm, à luz de 940nm e ao controlo negativo, no qual não será aplicado qualquer estímulo luminoso. Colocam-se então os 3 *Eppendorfs* a centrifugar, a 13000 rpm durante 2 minutos. Depois da centrifugação terminar, rejeita-se o sobrenadante e ressuspende-se o *pellet* em 1mL de Tampão Fosfato-Salino (PBS) 1X (obtido a partir da solução-mãe PBS 10X, com a aplicação da fórmula $C_i V_i = C_f V_f$,

Avaliação do Efeito da Luz IV e Visível no Crescimento de *Staphylococcus aureus* para um volume final de 1L). Centrifuga-se novamente, nas mesmas condições. Após esta segunda centrifugação,

repete-se a rejeição do sobrenadante e a ressuspensão do *pellet* em PBS 1X. Retira-se 1mL de cada um dos *Eppendorfs*, colocando-se cada mL no centro de uma caixa de *Petri* diferente, vazia e identificada (luz de 660nm, luz de 940nm e controlo negativo). Nas respectivas caixas de *Petri*, colocar a lâmpada com o comprimento de onda correspondente, acoplada com o anel espaçador largo, tal como indicado pelo fabricante. A duração do estímulo deve seguir as indicações do fornecedor, dadas no contexto da aplicação clínica, e, neste caso em particular, é indicado que o tratamento deve ter a duração de 10 minutos, sendo que os primeiros 5 minutos devem ser realizados em modo contínuo e os últimos 5 minutos em modo pulsátil. A aplicação do estímulo luminoso nas bactérias deve seguir estes requisitos. Após os 10 minutos de incidência da luz, retirar 1mL de cada uma das 3 caixas de *Petri* diferentes e colocar esse volume em 3 tubos de *Falcon*, colocando 1mL em cada tubo, previamente preparados com 9mL de PBS 1X (diluição 10^{-1}). Do tubo com a diluição 10^{-1} , retirar 1mL e colocar noutro tubo de *Falcon*, também com 9mL de PBS 1X (diluição 10^{-2}). Repetir estes procedimentos até à diluição 10^{-7} (se fase de latência) ou até à diluição 10^{-9} (se fase exponencial ou estacionária, tendo em conta que nestas 2 fases há uma maior multiplicação das bactérias). Este protocolo realiza-se para cada uma das lâmpadas, de 660 e 940nm, e também para o controlo negativo. Deve ter-se o cuidado de homogeneizar sempre, entre cada diluição. Após todos os tubos de *Falcon* se encontrarem devidamente preparados, retirar 1mL de cada um desses tubos e colocar nas respectivas caixas de *Petri*, de acordo com o estímulo e com a diluição (para cada diluição, em cada um dos estímulos luminosos, colocar 1mL do tubo de *Falcon* em cada uma de duas placas de *Petri*, ou seja, fazer o procedimento em duplicado). Posteriormente deve ser incorporado, em cada placa, meio TSA fundido, deixando as placas em repouso para que o meio possa solidificar – técnica de incorporação ou *pour plate*. Após a solidificação completa do meio, incubar as placas a 37°C, durante, no mínimo, 18h, período após o qual se devem contabilizar as colónias, recorrendo a um contador de colónias.

Para cada uma das fases deve ser realizado mais do que um ensaio, para que exista uma maior fiabilidade nos resultados obtidos. Neste caso, foram feitos pelo menos 2 ensaios para cada fase de crescimento, tendo sido feitos 3 ensaios nos casos em que se obtiveram resultados díspares, por forma a serem obtidos resultados confiáveis.

3.2.7 Obtenção da Curva OD_{600nm} e UFC

Nesta etapa não há aplicação do estímulo luminoso, já que o que se pretende é obter uma curva de crescimento que permita relacionar a densidade ótica (OD) com as unidades

formadoras de colónias (UFC), e não avaliar o efeito da luz nas diferentes fases do crescimento da bactéria.

Para iniciar este procedimento deve ajustar-se a OD da suspensão bacteriana para a gama de intervalos de 0.05 a 0.1. Antes de colocar a suspensão bacteriana no agitador orbital, e após medir a OD_{600nm}, retirar 100µL da suspensão e colocar esse volume num *Eppendorf* com 900µL de PBS 1X (diluição 10⁻¹). Posteriormente, deve colocar-se a restante suspensão no agitador orbital durante 1h. Do *Eppendorf* correspondente à diluição 10⁻¹, retirar 100µL e colocar noutra *Eppendorf* também com 900µL de PBS 1X (diluição 10⁻²). Realizar diluições sucessivas até à diluição 10⁻⁷. Após completar todas as diluições, retirar 1000µL de cada *Eppendorf*, após homogeneizar, e colocar em placas de *Petri* devidamente identificadas com as diferentes diluições (uma placa de *Petri* para cada diluição) e intervalos de tempo (pois todos estes passos se realizam de hora a hora, durante 7h), e apenas para as diluições 10⁻⁵, 10⁻⁶ e 10⁻⁷ (diluições onde geralmente se obtêm números de UFC inferiores a 300, e, portanto, onde é possível existir a contagem das mesmas). Posteriormente coloca-se TSA em todas as placas e deixam-se as mesmas em repouso para que o meio solidifique. Colocam-se as placas na estufa, após solidificação do meio, a 37°C, durante, no mínimo, 18h. Após este período, contabilizar as UFC.

Esta última etapa é importante para que se perceba que número de células se observam em cada fase de crescimento, permitindo também comparar os diferentes resultados que se obtêm após os estímulos nas diferentes fases.

3.2.8 Análise Estatística dos Resultados

Para a realização da análise estatística dos resultados recorreu-se ao Teste de *Dunnnett* para comparações múltiplas, tendo sido utilizado o software *Graphpad Prism 7.03*. O nível de significância estatística estabelecido foi de 5%, o que significa que foram considerados estatisticamente significativos os valores para os quais $p < 0,05$.

Esta análise foi feita tendo em conta o primeiro e terceiro ensaios da fase de latência da estirpe ATCC e os dois ensaios realizados para a estirpe clínica, também da mesma fase de crescimento. Optou-se por analisar os resultados obtidos nesta fase em específico, uma vez que, de todas as fases de crescimento analisadas, a fase de latência foi a mais interessante, como iremos verificar na secção seguinte.

4 Resultados e Discussão

4.1 Curva de Crescimento OD_{600nm} em Função do Tempo

Numa primeira fase, foi obtida a curva de crescimento do microrganismo em questão (estirpe ATCC). Para tal, foi preparada uma suspensão bacteriana e colocada num agitador orbital, a 180 rpm e a 37°C, após ser lida a sua densidade ótica inicial no espectrofotómetro, a 600nm. Em intervalos de 1 hora, retiraram-se 200µL da cultura de bactérias para uma cuvete e diluiu-se este volume em 1800µL de meio de cultura líquido, tendo sido lidas as diferentes densidades óticas durante um período de 7 horas.

Tais valores foram registados, tendo sido construída uma tabela (Tabela 1.) e, posteriormente, a curva de crescimento respetiva. Desta forma estabeleceu-se a relação entre a densidade ótica da cultura e o tempo decorrido. Não existiu a aplicação de qualquer estímulo luminoso, uma vez que só se pretendia verificar as diferentes fases de crescimento da bactéria em questão, para uma melhor compreensão de quando introduzir o estímulo luminoso.

Tabela 1. Valores de OD_{600nm} em função do tempo

| Tempo (horas) | Densidade ótica (OD) _{600nm} |
|---------------|---------------------------------------|
| 0 | 0,05 |
| 1 | 0,21 |
| 2 | 1,16 |
| 3 | 1,44 |
| 4 | 1,70 |
| 5 | 2,15 |
| 6 | 1,73 |
| 7 | 1,33 |

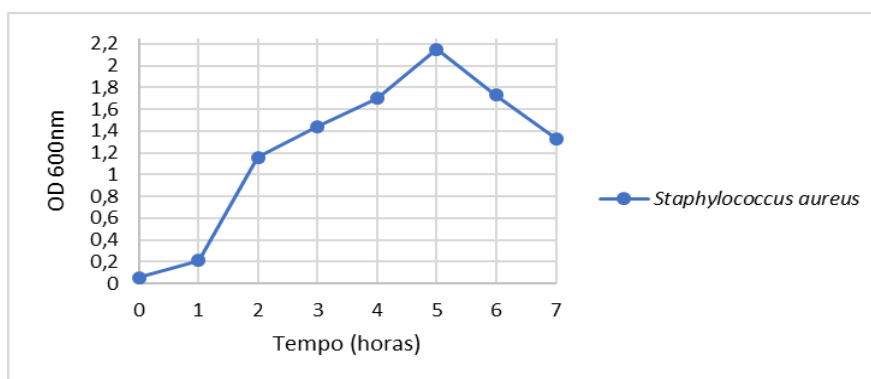


Figura 15. Curva de crescimento de *Staphylococcus aureus* (estirpe ATCC)

Para contextualizar, numa curva de crescimento microbiano consta geralmente uma fase de latência (Lag), uma fase exponencial (Log), uma fase estacionária e uma fase de declínio ou morte celular. Na primeira etapa, as bactérias encontram-se num processo de adaptação ao novo meio, e, por isso, ocorre a produção de substâncias que auxiliam a esse processo, não se verificando uma multiplicação celular significativa. A fase seguinte - fase exponencial - caracteriza-se por uma taxa de crescimento celular constante e de divisão celular rápida, uma vez que a concentração elevada em nutrientes permite que as células microbianas proliferem, apresentando-se como uma fase de crescimento ativo. A fase estacionária surge quando determinados nutrientes, essenciais ao desenvolvimento da população celular, se esgotam ou escasseiam, ou ainda quando são produzidas substâncias tóxicas que acabam por se acumular e que suprimem a divisão das células bacterianas, sendo prejudiciais à continuação da sua proliferação. Nesta fase não ocorre multiplicação celular (o crescimento das células sofre uma desaceleração, acabando mesmo por parar), e normalmente os microrganismos recorrem às suas reservas endógenas para manterem a viabilidade durante algum tempo. Por fim, e quando estas reservas se esgotam, inicia-se a fase de declínio ou morte celular, com uma conseqüente diminuição das células viáveis. (13) Apresenta-se em seguida uma curva de crescimento bacteriano padrão, na qual é possível diferenciar todas as fases de crescimento anteriormente mencionadas.

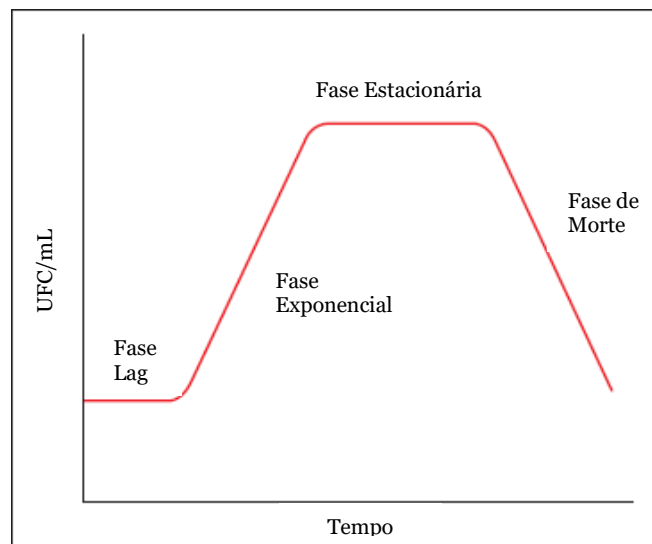


Figura 16. Curva de crescimento bacteriano padrão (UFC/mL vs Tempo) (adaptado) (13)

Relacionando a curva de crescimento padrão acima, com a curva de crescimento obtida para *S. aureus*, representada na Figura 15., verifica-se que a fase de latência e a fase exponencial são as fases de crescimento mais facilmente identificáveis nesta

última. Relativamente à fase estacionária, a mesma não se encontra bem definida na curva obtida na Figura 15., uma vez que não é visível uma paragem e um estagnamento no crescimento celular. Ao invés disso, verifica-se uma ligeira desaceleração na taxa de proliferação celular, seguida por um pico de crescimento das células e posterior declínio, entrando de imediato na fase de morte celular.

Assim, foi possível diferenciar as diferentes fases de crescimento do microrganismo e, deste modo, tornou-se mais claro quando deveria ser introduzido o estímulo luminoso, com a finalidade de ser estudada a influência dos dois tipos de luzes nas diferentes etapas de desenvolvimento do microrganismo. À exceção da fase estacionária, que não se encontra bem definida na curva obtida, todas as fases são passíveis de identificação. Analisando-se a curva de crescimento obtida (Figura 15.), definiu-se que 1 hora depois de a cultura estar em contínua homogeneização no agitador orbital, as células seriam irradiadas com as duas luzes para se verificar o efeito das mesmas na fase de latência de *S. aureus*. Para verificar a influência da luz na fase exponencial do microrganismo, 2 horas após a colocação da suspensão celular no agitador orbital (a meio da fase exponencial – *middle exponential*), seriam aplicados os diferentes estímulos luminosos. Por fim, e para ser analisado o microrganismo na fase estacionária, o estímulo luminoso seria aplicado 5 horas e meia após a suspensão de células se encontrar sob agitação contínua.

4.2 Correlação entre OD_{600nm} e UFCs – Curva de Crescimento

Posteriormente, foi feita uma curva de crescimento que permitiu correlacionar a OD_{600nm} com as UFC, em determinados intervalos de tempo e num período de 7h. Tal foi necessário para se perceber que número de células – log – se observou em cada fase de crescimento, além de permitir ainda uma comparação entre os diferentes resultados obtidos após a aplicação dos estímulos nas diferentes fases do crescimento. Desta forma, esta curva de crescimento funciona como uma ponte entre os valores de OD_{600nm} obtidos na curva inicial (referenciada no ponto 3.2.5.) e os valores de UFC/mL que se obtiveram aquando da aplicação do estímulo propriamente dito. Para a obtenção desta curva foram feitas diversas diluições sucessivas, por forma a permitir uma melhor contabilização das UFC e a obtenção de resultados mais exatos.

Foram apenas registados e tidos em conta os valores de UFC que se situaram entre as 30 e as 300 colónias, sendo que, deste modo, apenas as diluições 10⁻⁶ e 10⁻⁷ cumpriram este intervalo de valores. A tabela obtida e a respetiva curva encontram-se apresentadas em seguida.

Tabela 2. Tabela 2. Valores de OD_{600nm} e de UFC em função do tempo

| Tempo (horas) | Densidade ótica (OD) _{600nm} | Diluição | UFC/mL | Média das UFC |
|---------------|---------------------------------------|------------------|----------------------|----------------------|
| 0 | 0,135 | 10 ⁻⁶ | 8,90x10 ⁷ | 6,95x10 ⁷ |
| | | 10 ⁻⁷ | 5,00x10 ⁷ | |
| 1 | 0,251 | 10 ⁻⁶ | 9,00x10 ⁷ | 8,00x10 ⁷ |
| | | 10 ⁻⁷ | 7,00x10 ⁷ | |
| 2 | 0,773 | 10 ⁻⁶ | 1,31x10 ⁸ | 1,46x10 ⁸ |
| | | 10 ⁻⁷ | 1,60x10 ⁸ | |
| 3 | 0,935 | 10 ⁻⁶ | 6,70x10 ⁷ | 6,85x10 ⁷ |
| | | 10 ⁻⁷ | 7,00x10 ⁷ | |
| 4 | 1,124 | 10 ⁻⁶ | 8,00x10 ⁷ | 1,10x10 ⁸ |
| | | 10 ⁻⁷ | 1,40x10 ⁸ | |
| 5 | 1,284 | 10 ⁻⁶ | 7,90x10 ⁷ | 4,45x10 ⁷ |
| | | 10 ⁻⁷ | 1,00x10 ⁷ | |
| 6 | 1,386 | 10 ⁻⁶ | 5,70x10 ⁷ | 6,85x10 ⁷ |
| | | 10 ⁻⁷ | 8,00x10 ⁷ | |
| 7 | 1,410 | 10 ⁻⁶ | 7,90x10 ⁷ | 8,95x10 ⁷ |
| | | 10 ⁻⁷ | 1,00x10 ⁸ | |

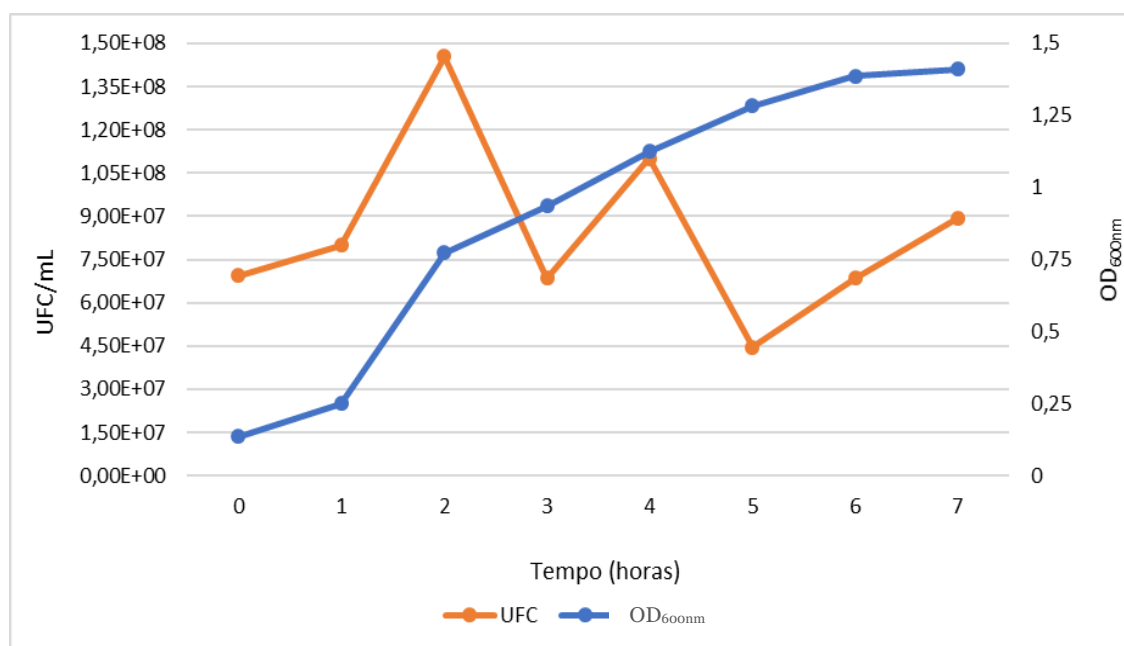


Figura 17. UFC e OD_{600nm} de uma cultura de *Staphylococcus aureus* em função do tempo

Observando o gráfico obtido na Figura 17., depreende-se facilmente que existe uma certa discrepância entre os valores obtidos para as UFC/mL (linha a laranja) e para a OD_{600nm} (linha a azul). Das 0 às 2 horas foi quando se verificou uma maior semelhança entre ambos os parâmetros, uma vez que, na primeira hora, ocorreu um aumento de forma semelhante em ambos os casos, e na segunda hora

existiu um crescimento exponencial nos dois casos. No entanto, a partir das 2 horas, as duas curvas não são sobreponíveis. Depois da segunda hora, a curva representativa das UFC/mL apresenta 2 picos, associados a duas fases posteriores de diminuição de valores, enquanto que a curva da OD_{600nm} se mantém relativamente estável, demonstrando uma ligeira elevação de valores, com tendência a desacelerar entre a sexta e a sétima hora.

4.3 Ensaio com Introdução dos Estímulos Luminosos nas Diferentes Fases do Crescimento

Após a obtenção e análise cuidadosa da curva de crescimento do microrganismo em questão, e definidas as fases de crescimento do mesmo, passou-se à realização do ensaio propriamente dito, no qual ocorreu a irradiação das células de *S. aureus*, após um determinado período, com duas luzes de dois comprimentos de onda diferentes (660nm e 940nm). Para cada fase de crescimento foram feitos 2 a 3 ensaios, realizados em dias diferentes, para que os resultados obtidos pudessem ser mais fiáveis e rigorosos.

Inicialmente, procedeu-se ao protocolo de ajuste da OD (importante que a densidade ótica se situe entre os 0,05 e os 0,1), leu-se a OD inicial da cultura celular e colocou-se o respetivo *Erlenmeyer* no agitador orbital durante 1, 2 ou 5 horas e meia (dependendo se a fase de crescimento a estudar fosse a fase de latência, exponencial ou estacionária, respetivamente), a 37°C e a 180 rpm. Após o intervalo de tempo selecionado, foi então retirada a suspensão celular da bactéria e leu-se novamente a sua OD. Posteriormente, retiraram-se 3mL desta suspensão e subdividiu-se este volume em *Eppendorfs* de 1mL cada (1mL em cada *Eppendorf*). Procedeu-se à centrifugação dos mesmos (13000rpm durante 2 minutos), rejeitou-se o sobrenadante de cada um e ressuspendeu-se o *pellet* resultante em 1mL de PBS 1X. Fez-se nova centrifugação, com repetição de todos os procedimentos anteriores. Após a segunda centrifugação, retirou-se 1mL de cada um dos *Eppendorfs* e colocou-se este volume numa caixa de *Petri* vazia e devidamente identificada com o estímulo luminoso (660nm e 940nm) ou com o controlo negativo (aqui não houve a introdução de qualquer uma das fontes luminosas). As luzes foram então direcionadas com o intuito de irradiarem as respetivas caixas de *Petri* que continham a suspensão de células de *S. aureus*, sendo que a incidência dos estímulos luminosos foi feita durante 10 minutos (5 minutos em modo contínuo e 5 minutos em modo pulsátil, por esta ordem). Após este intervalo de tempo, retirou-se todo o volume de suspensão contido nas caixas de *Petri* (1mL) e introduziu-se o mesmo em 3 tubos de *Falcon* diferentes (para os 660nm, 940nm e controlo negativo), previamente preparados com 9mL de PBS 1X, resultando

numa diluição de 10^{-1} . Fizeram-se assim diluições sucessivas de cada estímulo e do controlo negativo até à diluição 10^{-7} , na qual a suspensão celular foi diluída 7 vezes com PBS 1X. Depois de todos os tubos de *Falcon* se encontrarem com as respetivas diluições efetuadas para os 3 tipos de parâmetros, retirou-se de cada um 1mL do seu conteúdo e colocou-se em caixas de *Petri* identificadas com o estímulo e com a diluição respetiva (para cada diluição foi feito um duplicado, para melhor fiabilidade nos resultados). Posteriormente, em cada placa foi incorporado meio TSA fundido e deixou-se que o mesmo solidificasse por completo para seguinte incubação das placas a 37°C , durante 24 horas, na estufa. Após esse intervalo de tempo, foram contabilizadas as colónias recorrendo-se a um contador de colónias. O registo das UFC/mL foi feito para todos os ensaios efetuados, e as tabelas e gráficos respetivos serão em seguida apresentados.

4.4 Fase de Latência – Estirpe ATCC de *Staphylococcus aureus*

Para a fase de latência em específico foram feitos 3 ensaios, uma vez que os resultados obtidos nos primeiros dois ensaios não foram concordantes um com o outro. Para cada ensaio foi feita a contabilização das UFC/mL e em seguida registados todos os valores, referentes às luzes de 660nm, 940nm e ao controlo negativo. Os mesmos serão apresentados em seguida, em formato de tabela, acompanhados pelos respetivos gráficos.

4.4.1 1º Ensaio da Fase de Latência

- Controlo Negativo

Tabela 3. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência - controlo negativo (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|-----------|----------|-------|-------------------|--------------------|-------|--------------|
| 10^{-1} | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-2} | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-3} | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-4} | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-5} | 212 | 223,5 | 100000 | $2,24 \times 10^7$ | 7,349 | 7,299 |
| | 235 | | | | | |
| 10^{-6} | 28 | 23,5 | 1000000 | $2,35 \times 10^7$ | 7,371 | |
| | 19 | | | | | |
| 10^{-7} | 1 | 1,5 | 10000000 | $1,50 \times 10^7$ | 7,176 | |
| | 2 | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 4. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 96 | 104 | 100000 | 1,04X10 ⁷ | 7,017 | 6,919 |
| | 112 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 7 | 11 | 1000000 | 1,10X10 ⁷ | 7,041 | |
| | 15 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 0 | 0,5 | 10000000 | 5,00X10 ⁶ | 6,699 | |
| | 1 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 5. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | 7,534 |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 39 | 39 | 1000000 | 3,90X10 ⁷ | 7,591 | |
| | 39 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 2 | 3 | 10000000 | 3,00X10 ⁷ | 7,477 | |
| | 4 | | | | | |

Os valores finais de Log10 de cada parâmetro (assinalados a negrito), que representam o número de células observadas, foram obtidos tendo apenas em conta os valores de contagem de colónias situados abaixo dos 300. Tal fez-se uma vez que valores acima deste número implicavam uma maior probabilidade de erro, dado o elevado número de colónias presentes. Assim, para diminuir a chance de engano e aumentar a fiabilidade dos resultados, optou-se por ter em conta valores cujo limite máximo fossem as 300 colónias. Recorrendo-se aos valores finais obtidos em cada parâmetro, procedeu-se à

construção de um gráfico que permitiu visualizar a influência dos diferentes estímulos ou da sua ausência na fase de latência de *S. aureus*. O mesmo apresenta-se em seguida, acompanhado da respetiva tabela que auxiliou à sua construção.

Tabela 6. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|------------------------------------|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 7,299 |
| Luz de 660nm | 7,534 |
| Luz de 940nm | 6,919 |

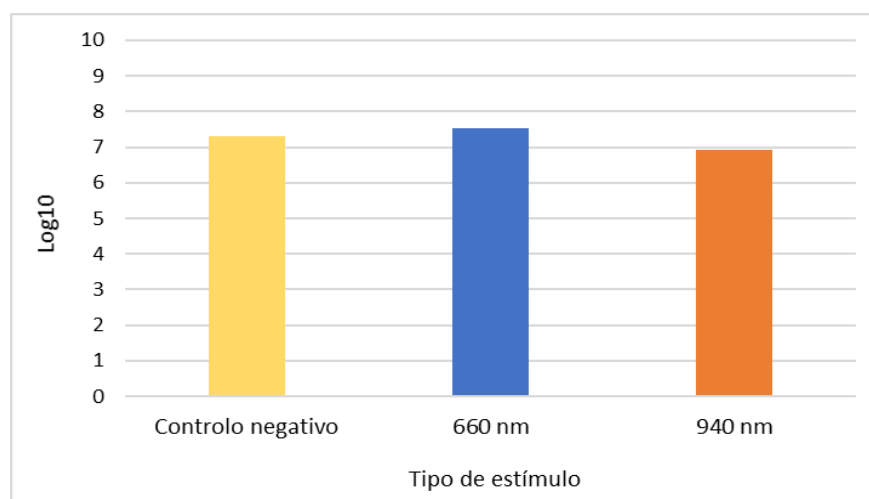


Figura 18. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC

Após observação do gráfico obtido com os resultados do primeiro ensaio da fase de latência, verificou-se que o número de células de *S. aureus* aumentou quando introduzida a luz de 660nm (luz visível), em relação ao controlo negativo. Relativamente à luz de 940nm, verificou-se que a mesma promoveu a diminuição do número de células do microrganismo relativamente ao controlo negativo, no qual não foi introduzido qualquer estímulo luminoso. Quando comparados ambos os estímulos luminosos (660 e 940nm), a luz de 660nm está associada a um maior número de células bacterianas. Assim, de uma forma geral, neste primeiro ensaio da fase de latência verificou-se que, dos três parâmetros, aquele onde existiu um maior crescimento das células bacterianas foi a luz de 660nm.

4.4.2 2º Ensaio da Fase de Latência

- Controlo Negativo

Tabela 7. Resultados do segundo ensaio da fase de latência - controlo negativo (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|--------------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | Contaminação | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 31 | 31 | 1000000 | 3,10X10 ⁷ | 7,491 | 7,547 |
| | Contaminação | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 4 | 4 | 10000000 | 4,00X10 ⁷ | 7,602 | — |
| | Contaminação | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 8. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 98 | 95 | 100000 | 9,50X10 ⁶ | 6,978 | — |
| | 92 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 10 | 10 | 1000000 | 1,00X10 ⁷ | 7,000 | 7,125 |
| | 10 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 4 | 2,5 | 10000000 | 2,50X10 ⁷ | 7,398 | — |
| | 1 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 9. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|-----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 146 | 132,5 | 100000 | 1,325x10 ⁷ | 7,122 | 7,205 |
| | 119 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 14 | 15,5 | 1000000 | 1,55x10 ⁷ | 7,190 | |
| | 17 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 1 | 2 | 10000000 | 2,00x10 ⁷ | 7,301 | |
| | 3 | | | | | |

Tabela 10. Resultados gerais do segundo ensaio da fase de latência – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|------------------------------------|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 7,547 |
| Luz de 660nm | 7,205 |
| Luz de 940nm | 7,125 |

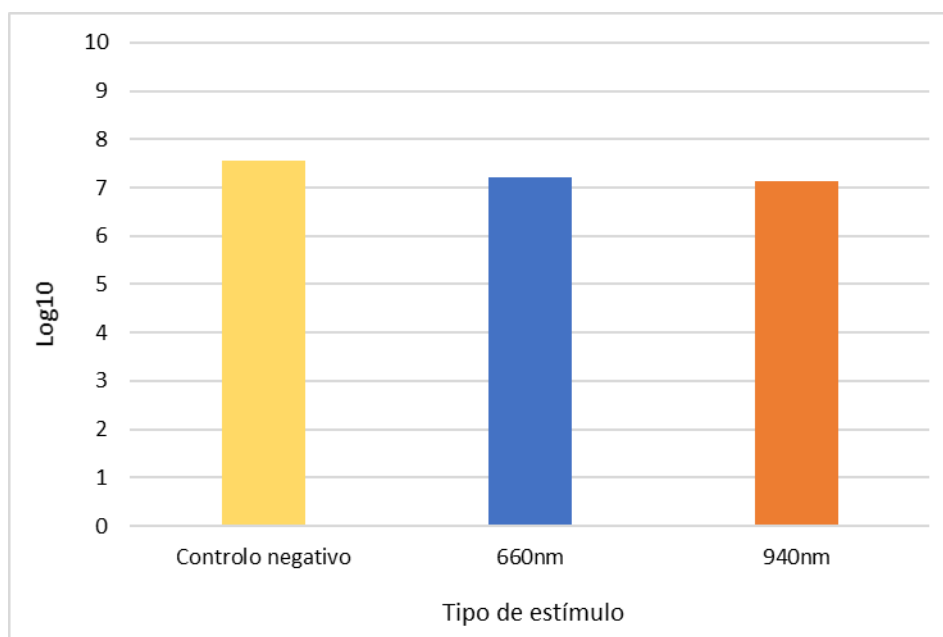


Figura 19. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – estirpe ATCC

O gráfico relativo ao segundo ensaio da fase de latência de *S. aureus* revela que, à semelhança da Figura 18., a luz de 940nm está associada a um menor número de células bacterianas, quando comparada com a luz de 660nm. No entanto, há dois aspetos que não são concordantes entre ambos os ensaios. No primeiro ensaio, verificou-se que a luz de 660nm era o estímulo que provocava um aumento do crescimento celular, enquanto que, neste segundo ensaio, o parâmetro associado à existência de um maior número de células foi o controlo negativo, ou seja, quando não houve a aplicação de qualquer estímulo luminoso. Outro fator que difere entre um e outro gráfico é o facto de a diferença existente entre a luz de 660nm e a luz de 940nm ser mais notável no primeiro ensaio da fase de latência do que no gráfico relativo ao segundo ensaio.

Dado que ambos os ensaios da fase de latência não foram totalmente concordantes entre si, e uma vez que, no decorrer do segundo ensaio ocorreu uma contaminação referente ao controlo negativo, foi feito um terceiro ensaio, por forma a que os resultados fossem mais concisos e fiáveis.

4.4.3 3º Ensaio da Fase de Latência

- Controlo Negativo

Tabela 11. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – controlo negativo (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|-----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | ≥300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | 296 | 296,5 | 10000 | 2,965x10 ⁶ | 6,472 | |
| | 297 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 24 | 37 | 100000 | 3,70x10 ⁶ | 6,568 | |
| | 50 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 3 | 3,5 | 1000000 | 3,50x10 ⁶ | 6,544 | 6,528 |
| | 4 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 0 | 0 | 10000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

Avaliação do Efeito da Luz IV e Visível no Crescimento de *Staphylococcus aureus*

- Luz de 940nm

Tabela 12. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|-----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | 200 | 205,5 | 10000 | 2,055X10 ⁶ | 6,313 | 6,577 |
| | 211 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 16 | 22 | 100000 | 2,20X10 ⁶ | 6,342 | |
| | 28 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 3 | 3 | 1000000 | 3,00X10 ⁶ | 6,477 | |
| | 3 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 1 | 1,5 | 10000000 | 1,50X10 ⁷ | 7,176 | |
| | 2 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 13. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 26 | 28 | 100000 | 2,80X10 ⁶ | 6,447 | 6,742 |
| | 30 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 1 | 3 | 1000000 | 3,00X10 ⁶ | 6,477 | |
| | 5 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 1 | 2 | 10000000 | 2,00X10 ⁷ | 7,301 | |
| | 3 | | | | | |

Tabela 14. Resultados gerais do terceiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|------------------------------------|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 6,528 |
| Luz de 660nm | 6,742 |
| Luz de 940nm | 6,577 |

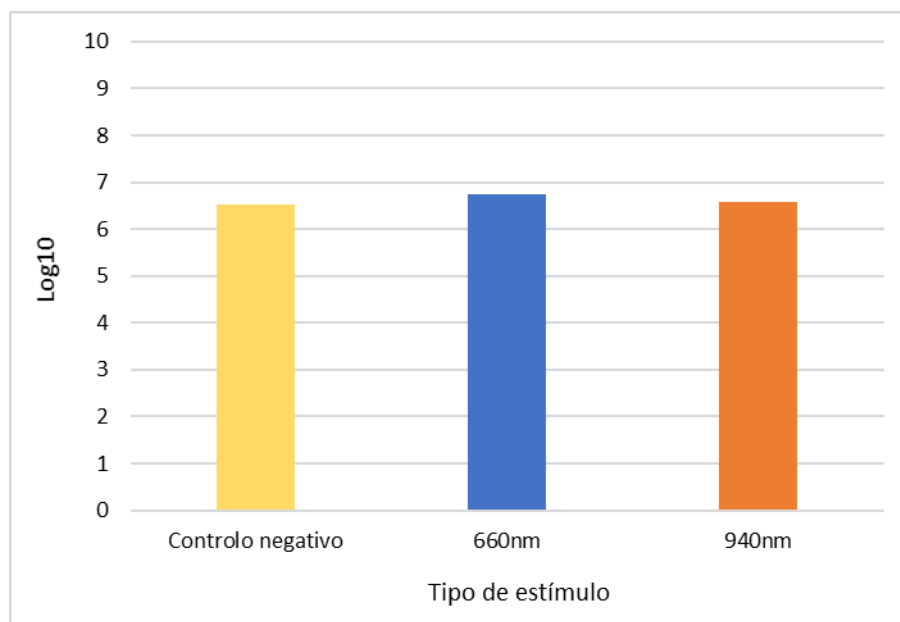


Figura 20. Resultados do terceiro ensaio da fase de latência – estirpe ATCC

É, desde logo, notável a diferença entre o Log10 obtido com a luz de 660nm e o Log10 obtido com a luz de 940nm. Comparando ambos os parâmetros, é perceptível que o estímulo de comprimento de onda menor está associado à existência de um maior número de células de *S. aureus*. Já relativamente ao controlo negativo, onde se encontra o valor de Log10 mais baixo (menor número de células), observa-se que ambas as luzes permitiram um crescimento celular superior.

Olhando para o gráfico representado acima, e comparando com os dois gráficos já representados anteriormente, detetam-se algumas semelhanças, mas também algumas diferenças. Desde logo, o que é comum aos três gráficos referentes aos três ensaios da fase de latência é o facto de a luz de 660nm promover o crescimento das células do microrganismo, em comparação à luz de 940nm. Observando os gráficos de outra perspectiva, e excetuando o último gráfico (figura 20.), percebe-se que a luz de 940nm permite, de algum modo, a diminuição ou o abrandamento do crescimento das células de *S. aureus*, já que, em comparação com o controlo negativo o valor de Log10 associado é menor. No terceiro esquema representativo de todos os resultados deste último ensaio, embora a luz de 940nm esteja associada a um número de células superior ao controlo negativo, a luz de 660nm encontra-se com valores bem mais elevados, apresentando uma diferença notável relativamente à não aplicação de qualquer estímulo.

Assim, e de um modo geral, na fase de latência da estirpe ATCC de *Staphylococcus aureus*, a luz de 660nm promove a proliferação e o crescimento destas células, enquanto que a luz de 940nm abranda, inibe ou diminui esta multiplicação.

4.5 Fase Exponencial – Estirpe ATCC de *Staphylococcus aureus*

Tendo já sido analisada a influência de ambas as luzes na fase de latência do microrganismo, é importante verificar agora a influência destes estímulos na fase exponencial. Um passo diferente do procedimento referido no ponto 4.3. foi o facto de terem sido realizadas mais duas diluições adicionais em duplicado - diluição 10^{-8} e 10^{-9} . Tal foi executado uma vez que, em princípio, nesta fase iria existir um maior número de células, já que se trata de uma fase de multiplicação ativa. Foram feitos três ensaios para esta fase de crescimento, à semelhança da fase anterior.

4.5.1 1º Ensaio da Fase Exponencial

- Controlo Negativo

Tabela 15. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – controlo negativo (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 99 | 90 | 1000000 | 9,00x10 ⁷ | 7,954 | 7,911 |
| | 81 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 18 | 12 | 10000000 | 1,20x10 ⁸ | 8,079 | 7,911 |
| | 6 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0,5 | 100000000 | 5,00x10 ⁷ | 7,699 | 7,911 |
| | 1 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

Avaliação do Efeito da Luz IV e Visível no Crescimento de *Staphylococcus aureus*

- Luz de 940nm

Tabela 16. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 129 | 133 | 1000000 | 1,33X10 ⁸ | 8,124 | 8,346 |
| | 137 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 14 | 14,5 | 10000000 | 1,45X10 ⁸ | 8,161 | |
| | 15 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 2 | 2,5 | 100000000 | 2,50X10 ⁸ | 8,398 | |
| | 3 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0,5 | 1000000000 | 5,00X10 ⁸ | 8,699 | |
| | 1 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 17. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|-----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 98 | 102,5 | 1000000 | 1,025X10 ⁸ | 8,011 | 8,225 |
| | 107 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 15 | 15,5 | 10000000 | 1,55X10 ⁸ | 8,190 | |
| | 16 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 1,0 | 100000000 | 1,00X10 ⁸ | 8,000 | |
| | 2 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0,5 | 1000000000 | 5,00X10 ⁸ | 8,699 | |
| | 1 | | | | | |

Tabela 18. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|------------------------------------|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 7,911 |
| Luz de 660nm | 8,225 |
| Luz de 940nm | 8,346 |

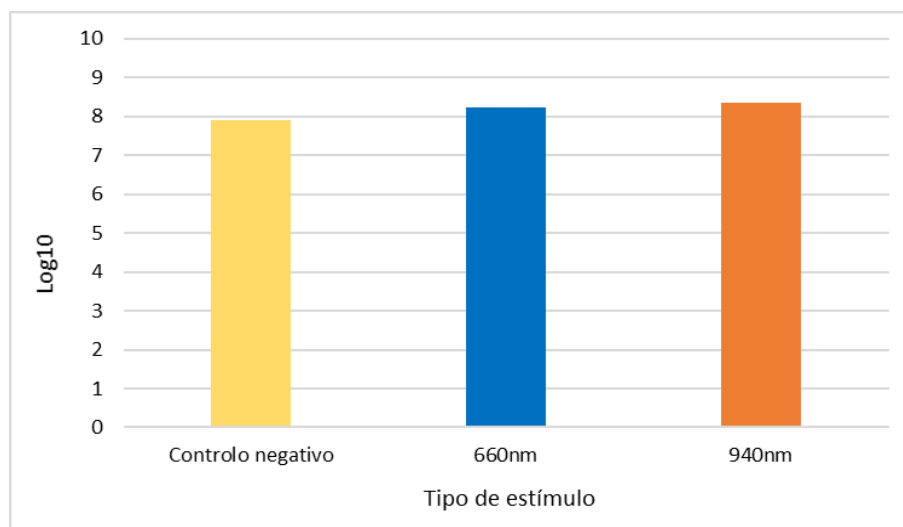


Figura 21. Resultados do primeiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC

Após observação do gráfico apresentado acima, observam-se algumas diferenças relativamente aos gráficos anteriores. Neste caso, tanto o estímulo de 660nm como o estímulo de 940nm promovem a multiplicação das células de *S. aureus*, quando comparados com o controlo negativo. Tal só se demonstrou no gráfico representado na figura 20., que representa o terceiro ensaio da fase de latência. Adicionalmente, outra grande diferença é o facto de o estímulo de 940nm estar associado a um valor superior de Log10, relativamente ao estímulo de menor comprimento de onda. Até aqui, a luz de 660nm sempre esteve associada a valores de Log10 superiores aos da luz de 940nm e, portanto, a uma maior multiplicação celular.

4.5.2 2º Ensaio da Fase Exponencial

- Controlo Negativo

Tabela 19. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 61 | 62 | 1000000 | 6,20x10 ⁷ | 7,792 | |
| | 63 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 7 | 6 | 10000000 | 6,00x10 ⁷ | 7,778 | 7,785 |
| | 5 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0 | 100000000 | 0 | — | |
| | 0 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 20. Resultados do segundo ensaio da fase exponencial – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|-----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 181 | 195,5 | 100000 | 1,955x10 ⁷ | 7,291 | |
| | 210 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 26 | 23,5 | 1000000 | 2,35x10 ⁷ | 7,371 | 7,221 |
| | 21 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 0 | 1 | 10000000 | 1,00x10 ⁷ | 7,000 | |
| | 2 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0 | 100000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 21. Resultados do segundo ensaio da fase exponencial – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | 7,699 |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | |
| | >300 | — | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 86 | 90 | 1000000 | 9,00X10 ⁷ | 7,954 | |
| | 94 | — | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 11 | 13 | 10000000 | 1,30X10 ⁸ | 8,114 | |
| | 15 | — | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0,5 | 100000000 | 5,00X10 ⁷ | 7,699 | |
| | 1 | — | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | |
| | 0 | — | | | | |

Tabela 22. Resultados gerais do segundo ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|------------------------------------|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 7,785 |
| Luz de 660nm | 7,699 |
| Luz de 940nm | 7,221 |

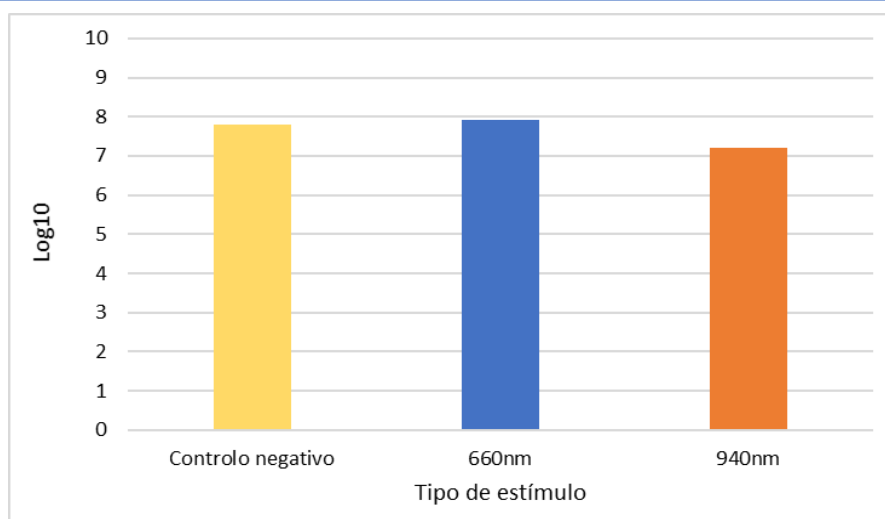


Figura 22. Resultados do segundo ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC

No segundo ensaio da fase exponencial verificou-se, à semelhança do primeiro e terceiro ensaios da fase de latência, que a luz de 660nm se encontra associada a valores de Log10 mais elevados, o que, por consequência, significa um maior número de células da bactéria estudada. Relativamente à luz de 940nm, este parâmetro encontra-se associado a uma menor proliferação celular em comparação com a luz de 660nm e com o controlo negativo, o que indica que este comprimento de onda não favoreceu, neste ensaio, o crescimento da bactéria. Foi também notória a diferença entre ambos os estímulos luminosos na cultura bacteriana.

4.5.3 3º Ensaio da Fase Exponencial

- Controlo Negativo

Tabela 23. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – controlo negativo (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|-----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 154 | 154,5 | 100000 | 1,545X10 ⁷ | 7,189 | |
| | 155 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 12 | 14,5 | 1000000 | 1,45X10 ⁷ | 7,161 | |
| | 17 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 2 | 3 | 10000000 | 3,00X10 ⁷ | 7,477 | 7,276 |
| | 4 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0 | 100000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 24. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 65 | 66,5 | 100000 | 6,65x10 ⁶ | 6,823 | 7,540 |
| | 68 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 9 | 10 | 1000000 | 1,00x10 ⁷ | 7,000 | |
| | 11 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 0 | 1,5 | 10000000 | 1,50x10 ⁷ | 7,176 | |
| | 3 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 1 | 100000000 | 1,00x10 ⁸ | 8,000 | |
| | 2 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0,5 | 1000000000 | 5,00x10 ⁸ | 8,699 | |
| | 1 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 25. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 57 | 58,5 | 100000 | 5,85x10 ⁶ | 6,767 | 7,624 |
| | 60 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 4 | 4,5 | 1000000 | 4,50x10 ⁶ | 6,653 | |
| | 5 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 2 | 2,5 | 10000000 | 2,50x10 ⁷ | 7,398 | |
| | 3 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 1 | 100000000 | 1,00x10 ⁸ | 8,000 | |
| | 2 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 1 | 2 | 1000000000 | 2,00x10 ⁹ | 9,301 | |
| | 3 | | | | | |

Tabela 26. Resultados gerais do terceiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|---|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 7,276 |
| Luz de 660nm | 7,624 |
| Luz de 940nm | 7,540 |

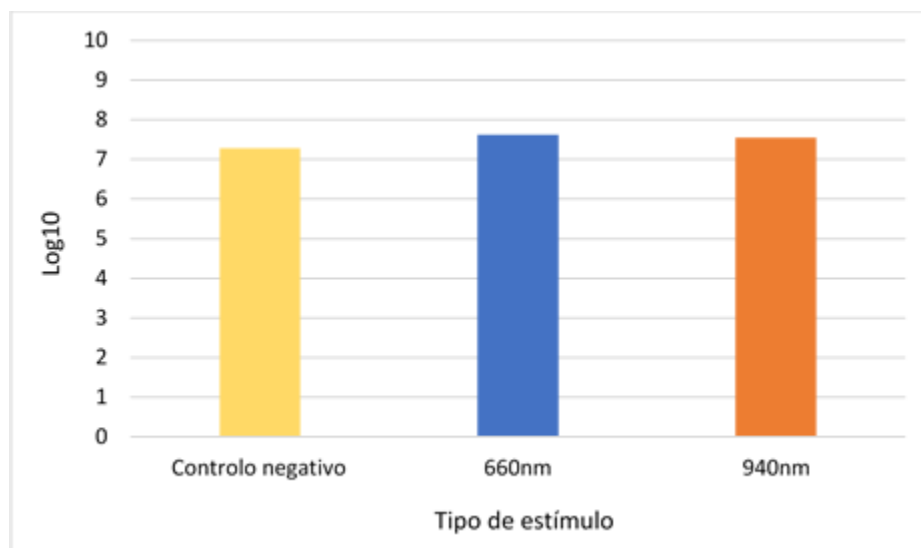


Figura 23. Resultados do terceiro ensaio da fase exponencial – estirpe ATCC

Tal como no segundo ensaio da fase exponencial, também no terceiro ensaio se verificou que a luz de 660nm favoreceu o crescimento das células de *S. aureus*, em comparação ao controlo negativo e à luz de 940nm. No entanto, neste ensaio, os valores de Log10 de ambos os estímulos luminosos são muito próximos, estando as duas luzes acima do controlo negativo, no que toca à quantidade de células presentes. Comparando a luz de 940nm com o controlo negativo, verifica-se que este último se encontra associado a um menor número de células.

4.6 Fase Estacionária – Estirpe ATCC de *Staphylococcus aureus* Tal como para a fase de crescimento analisada anteriormente, também na fase estacionária foram feitas duas diluições adicionais (10^{-8} e 10^{-9}). Foram realizados apenas dois ensaios, por uma questão de tempo limitado. Tal pôde ser feito uma vez que os resultados obtidos em ambos os ensaios, no que concerne aos estímulos luminosos, foram relativamente semelhantes.

4.6.1 1º Ensaio da Fase Estacionária

- Controlo Negativo

Tabela 27. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – controlo negativo (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 84 | 71 | 100000 | 7,10X10 ⁶ | 6,851 | 6,947 |
| | 58 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 8 | 6,5 | 1000000 | 6,50X10 ⁶ | 6,813 | |
| | 5 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 0 | 1,5 | 10000000 | 1,50X10 ⁷ | 7,176 | |
| | 3 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0 | 100000000 | 0 | — | |
| | 0 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | |
| | 0 | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 28. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|-----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | 99 | 110,5 | 100000 | 1,105X10 ⁷ | 7,043 | 7,061 |
| | 122 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 5 | 5,5 | 1000000 | 5,50X10 ⁶ | 6,740 | |
| | 6 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 1 | 2,5 | 10000000 | 2,50X10 ⁷ | 7,398 | |
| | 4 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0 | 100000000 | 0 | — | |
| | 0 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | |
| | 0 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 29. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁵ | 175 | 177 | 100000 | 1,77X10 ⁷ | 7,248 | |
| | 179 | | | | | |
| 10⁻⁶ | 13 | 18,5 | 1000000 | 1,85X10 ⁷ | 7,267 | |
| | 24 | | | | | |
| 10⁻⁷ | 0 | 0,5 | 10000000 | 5,00X10 ⁶ | 6,699 | 7,071 |
| | 1 | | | | | |
| 10⁻⁸ | 0 | 0 | 100000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |
| 10⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

Tabela 30. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|---|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 6,947 |
| Luz de 660nm | 7,071 |
| Luz de 940nm | 7,061 |

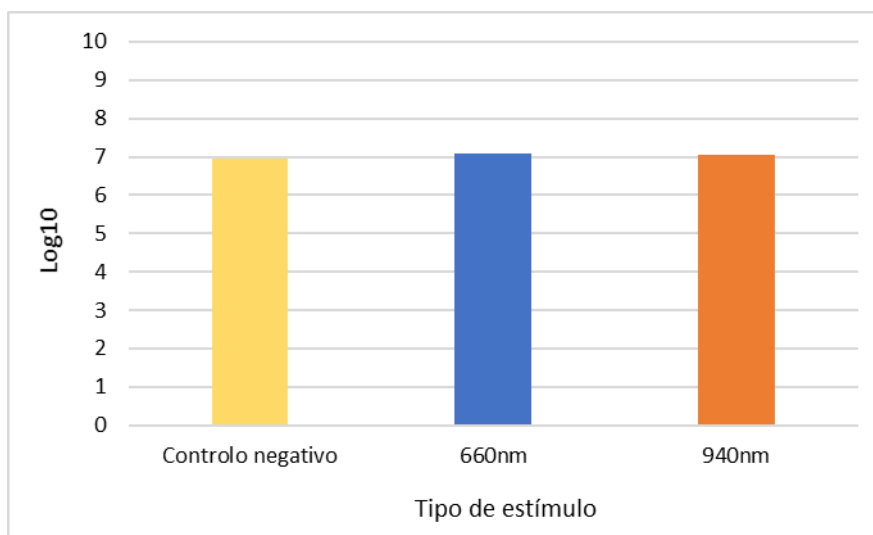


Figura 24. Resultados do primeiro ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC

Observando o gráfico acima, percebe-se facilmente que existe uma semelhança entre todos os resultados obtidos em cada parâmetro, sendo essa proximidade de valores

ainda mais notória entre a luz de 660nm e a luz de 940nm. Ainda assim, o estímulo de menor comprimento de onda apresenta um valor de Log10 mais elevado, comparativamente ao outro estímulo luminoso, indicando que existiu um maior crescimento celular com a luz de 660nm do que com a de 940nm. Relativamente ao controlo negativo, ambas as luzes apresentaram uma quantidade de células superior.

4.6.2 2º Ensaio da Fase Estacionária

- Controlo Negativo

Tabela 31. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – controlo negativo (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 51 | 65 | 1000000 | 6,50x10 ⁷ | 7,813 | 7,945 |
| | 79 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 3 | 7 | 10000000 | 7,00x10 ⁷ | 7,845 | 7,945 |
| | 11 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 1,5 | 100000000 | 1,50x10 ⁸ | 8,176 | 7,945 |
| | 3 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 32. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – luz de 940nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 51 | 57 | 1000000 | 5,70x10 ⁷ | 7,756 | 7,756 |
| | 63 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 8 | 6,5 | 10000000 | 6,50x10 ⁷ | 7,813 | 7,756 |
| | 5 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 0,5 | 100000000 | 5,00x10 ⁷ | 7,699 | 7,756 |
| | 1 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 33. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – luz de 660nm (estirpe ATCC)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 84 | 92 | 1000000 | 9,20X10 ⁷ | 7,964 | |
| | 100 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 4 | 5,5 | 10000000 | 5,50X10 ⁷ | 7,740 | 7,901 |
| | 7 | | | | | |
| 10 ⁻⁸ | 0 | 1 | 100000000 | 1,00X10 ⁸ | 8,000 | |
| | 2 | | | | | |
| 10 ⁻⁹ | 0 | 0 | 1000000000 | 0 | — | — |
| | 0 | | | | | |

Tabela 34. Resultados gerais do segundo ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|------------------------------------|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 7,945 |
| Luz de 660nm | 7,901 |
| Luz de 940nm | 7,756 |

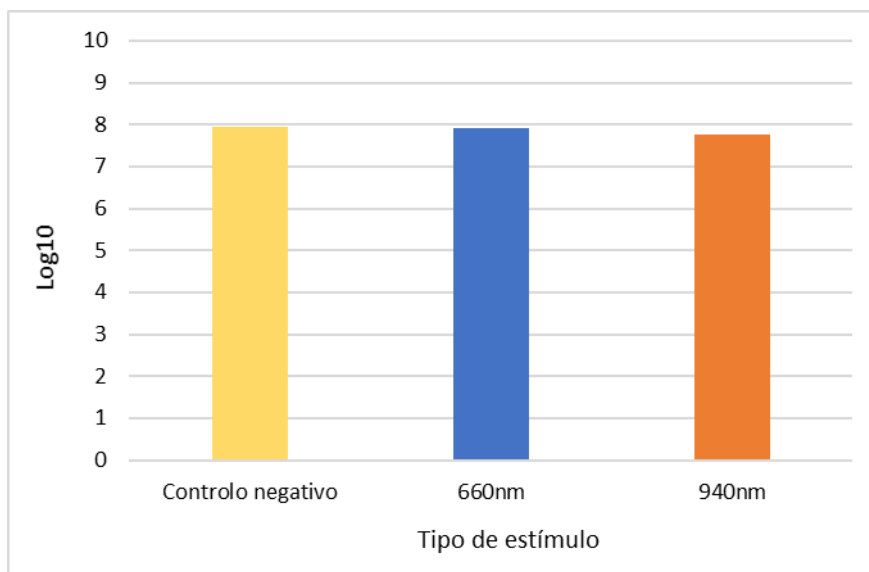


Figura 25. Resultados do segundo ensaio da fase estacionária – estirpe ATCC

Olhando para o gráfico obtido, identificam-se algumas semelhanças com o gráfico relativo ao primeiro ensaio da mesma fase de crescimento. Desde logo, o facto de a luz de 660nm ter proporcionado um crescimento celular superior, com um maior número de células de *S. aureus*, comparativamente à luz de 940nm. Ambos os estímulos se encontraram abaixo do controlo negativo, o que indica que este parâmetro foi o que esteve associado a um maior valor de Log10. Embora a diferença entre as duas luzes seja mais notória neste último gráfico, ambas se encontraram na situação de a luz de 660nm promover um maior crescimento de *S. aureus* do que a de 940nm.

4.7 Análise Geral dos Resultados – Estirpe ATCC

Por forma a compreender melhor todos os resultados obtidos em cada um dos ensaios, e a influência da variável luz em cada uma das diferentes fases do crescimento, apresentam-se em seguida as tabelas resumo e o respetivo gráfico, onde se encontram registados todos os valores obtidos.

Tabela 35. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase de latência – estirpe ATCC

| Fase de latência | | | | | |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|--------------|----------------------|
| | 1º ensaio | 2º ensaio | 3º ensaio | Média | Desvio-padrão |
| Controlo negativo | 7,299 | 7,547 | 6,528 | 7,125 | 0,531 |
| 660nm | 7,534 | 7,205 | 6,742 | 7,160 | 0,398 |
| 940nm | 6,919 | 7,125 | 6,577 | 6,874 | 0,277 |

Tabela 36. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase exponencial – estirpe ATCC

| Fase exponencial | | | | | |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|--------------|----------------------|
| | 1º ensaio | 2º ensaio | 3º ensaio | Média | Desvio-padrão |
| Controlo negativo | 7,911 | 7,785 | 7,276 | 7,657 | 0,336 |
| 660nm | 8,225 | 7,699 | 7,624 | 7,849 | 0,328 |
| 940nm | 8,346 | 7,221 | 7,540 | 7,702 | 0,580 |

Tabela 37. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase estacionária – estirpe ATCC

| Fase estacionária | | | | |
|--------------------------|------------------|------------------|--------------|----------------------|
| | 1º ensaio | 2º ensaio | Média | Desvio-padrão |
| Controlo negativo | 6,947 | 7,945 | 7,446 | 0,706 |
| 660nm | 7,071 | 7,901 | 7,486 | 0,587 |
| 940nm | 8,346 | 7,221 | 7,408 | 0,492 |

Resumindo numa única tabela todas as médias de todas as fases de crescimento, obtém-se um gráfico representativo de todo o trabalho laboratorial, que reflete bastante bem a influência das diferentes luzes nas células de *S. aureus*.

Tabela 38. Resumo de todos os ensaios realizados – estirpe ATCC

| | Média | | | Desvio-padrão | | |
|--------------------------|----------|-------------|--------------|---------------|-------------|--------------|
| | Latência | Exponencial | Estacionária | Latência | Exponencial | Estacionária |
| Controlo negativo | 7,125 | 7,657 | 7,446 | 0,531 | 0,336 | 0,706 |
| 660nm | 7,160 | 7,849 | 7,486 | 0,398 | 0,328 | 0,587 |
| 940nm | 6,874 | 7,702 | 7,408 | 0,277 | 0,580 | 0,492 |

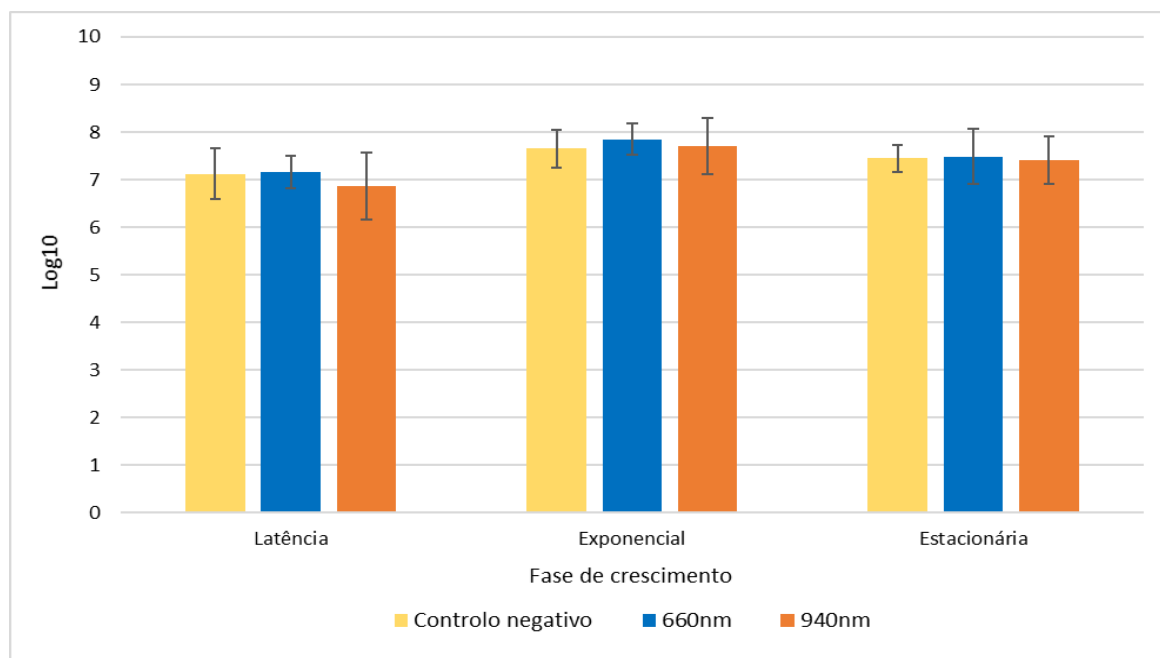


Figura 26. Gráfico de todos os ensaios realizados com a estirpe ATCC de *S. aureus*

Como se pode observar pelo gráfico da figura acima, em todas as fases de crescimento a luz de 660nm teve uma maior influência na multiplicação e proliferação celular da estirpe ATCC de *S. aureus*, relativamente à luz de 940nm e também ao controlo negativo, onde não houve a aplicação de qualquer estímulo luminoso. Em relação aos desvios-padrão apresentados, os valores não são demasiado elevados, o que, de certa forma, significa que existe uma certa homogeneidade nos resultados obtidos em cada ensaio realizado.

4.8 Fase de Latência – Estirpe Clínica de *Staphylococcus aureus*

Por uma questão de tempo e disponibilidade, escolheu-se verificar a influência dos diferentes estímulos luminosos apenas numa fase de crescimento de uma estirpe clínica de *S. aureus* (metecilina-sensível), isolada de uma amostra biológica. Selecionou-se a fase de latência, uma vez que foi nesta que ambas as luzes se demonstraram mais influentes, no que diz respeito ao crescimento celular. Observando o gráfico acima (figura 26.), percebe-se que foi na fase de latência que houve uma maior disparidade, no que toca ao efeito causado na bactéria, entre as duas luzes. Para as restantes fases de crescimento, embora tenha existido alguma diferença entre ambos os estímulos, a mesma não foi tão notória como para a primeira etapa do crescimento. Tal como para a fase de latência da estirpe ATCC, também para a mesma fase da estirpe clínica foram feitas diluições até 7 vezes (10^{-7}).

4.8.1 1º Ensaio da Fase de Latência

- Controlo Negativo

Tabela 39. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – controlo negativo (estirpe clínica)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|-----------|----------|-------|-------------------|--------------------|-------|--------------|
| 10^{-1} | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10^{-2} | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10^{-3} | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10^{-4} | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10^{-5} | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | — | | | | |
| 10^{-6} | 34 | 37,5 | 1000000 | $3,75 \times 10^7$ | 7,574 | 7,739 |
| | 41 | | | | | |
| 10^{-7} | 6 | 8 | 10000000 | $8,00 \times 10^7$ | 7,903 | |
| | 10 | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 40. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe clínica)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 42 | 46 | 1000000 | 4,60X10 ⁷ | 7,663 | 7,603 |
| | 50 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 3 | 3,5 | 10000000 | 3,50X10 ⁷ | 7,544 | 7,603 |
| | 4 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 41. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe clínica)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|-------------|
| 10 ⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10 ⁻⁶ | 42 | 55,5 | 1000000 | 5,55X10 ⁷ | 7,744 | 7,810 |
| | 69 | | | | | |
| 10 ⁻⁷ | 5 | 7,5 | 10000000 | 7,50X10 ⁷ | 7,875 | 7,810 |
| | 10 | | | | | |

Tabela 42. Resultados gerais do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe clínica

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|------------------------------------|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 7,739 |
| Luz de 660nm | 7,810 |
| Luz de 940nm | 7,603 |

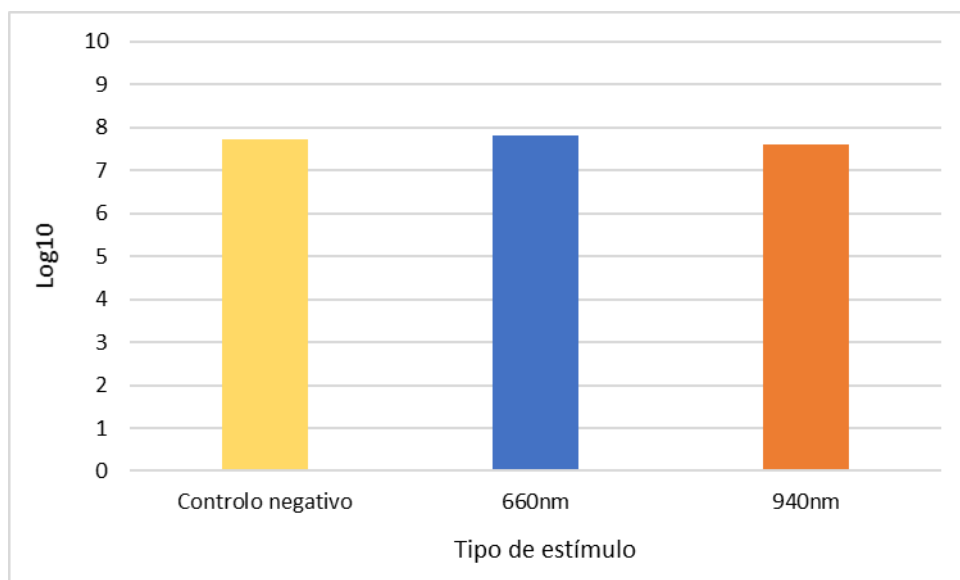


Figura 27. Resultados do primeiro ensaio da fase de latência – estirpe clínica

Observando o gráfico da figura 27., compreende-se que, tal como a maioria dos ensaios anteriores, a luz de 660nm favoreceu um crescimento das células de *S. aureus*. Relativamente ao controlo negativo e à luz de 660nm, este mesmo estímulo de menor comprimento de onda obteve resultados de Log10 superiores, o que pressupõe que o mesmo confere um meio mais favorável à multiplicação celular. Já no que toca à luz de 940nm, e comparando com o controlo negativo, verifica-se que, de certa forma, este parâmetro promoveu uma diminuição do crescimento de *S. aureus* ou até mesmo a morte das suas células, dados os seus valores de Log10 serem os menores dos três parâmetros.

4.8.2 2º Ensaio da Fase de Latência

- Controlo Negativo

Tabela 43. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – controlo negativo (estirpe clínica)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|-----------|----------|-------|-------------------|---------------------|-------|--------------|
| 10^{-1} | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-2} | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-3} | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-4} | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-5} | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10^{-6} | 89 | 105,5 | 1000000 | $1,055 \times 10^8$ | 8,023 | 8,032 |
| | 122 | | | | | |
| 10^{-7} | 9 | 11 | 10000000 | $1,10 \times 10^8$ | 8,041 | 8,032 |
| | 13 | | | | | |

- Luz de 940nm

Tabela 44. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 940nm (estirpe clínica)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁶ | 94 | 95 | 1000000 | 9,50X10 ⁷ | 7,978 | 8,077 |
| | 96 | | | | | |
| 10⁻⁷ | 10 | 15 | 10000000 | 1,50X10 ⁸ | 8,176 | |
| | 20 | | | | | |

- Luz de 660nm

Tabela 45. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – luz de 660nm (estirpe clínica)

| Diluição | Contagem | Média | Fator de diluição | UFC/mL | Log10 | Valor final |
|------------------------|----------|-------|-------------------|----------------------|-------|--------------|
| 10⁻¹ | >300 | — | 10 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻² | >300 | — | 100 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻³ | >300 | — | 1000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁴ | >300 | — | 10000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁵ | >300 | — | 100000 | — | — | — |
| | >300 | | | | | |
| 10⁻⁶ | 80 | 88 | 1000000 | 8,80X10 ⁷ | 7,944 | 7,949 |
| | 96 | | | | | |
| 10⁻⁷ | 10 | 9 | 10000000 | 9,00X10 ⁷ | 7,954 | |
| | 8 | | | | | |

Tabela 46. Resultados gerais do segundo ensaio da fase de latência – estirpe clínica

| Tipo de estímulo (quando presente) | Valor final de Log10 |
|---|----------------------|
| Controlo negativo (sem estímulo) | 8,032 |
| Luz de 660nm | 7,949 |
| Luz de 940nm | 8,077 |

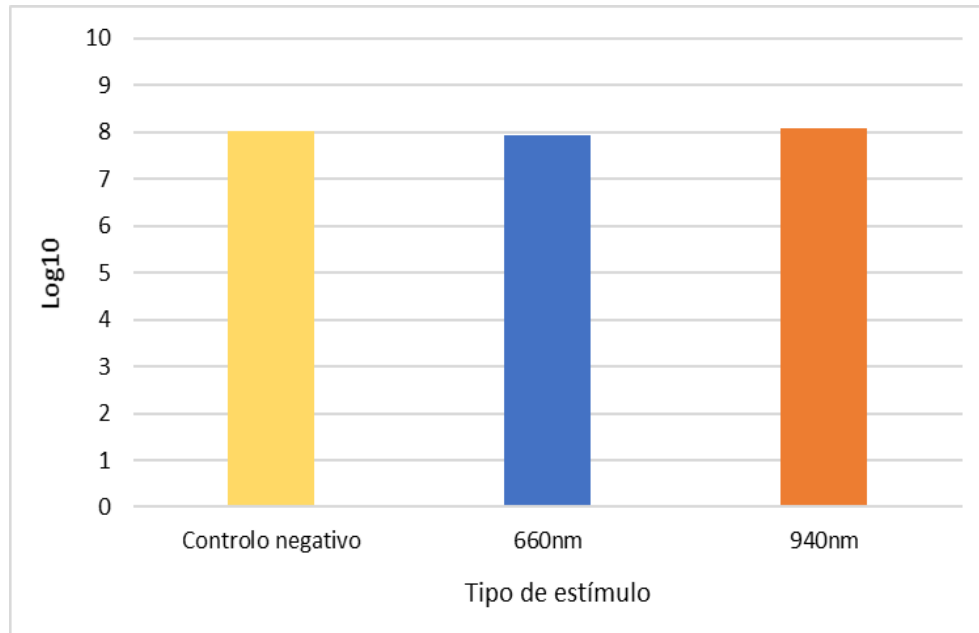


Figura 28. Resultados do segundo ensaio da fase de latência – estirpe clínica

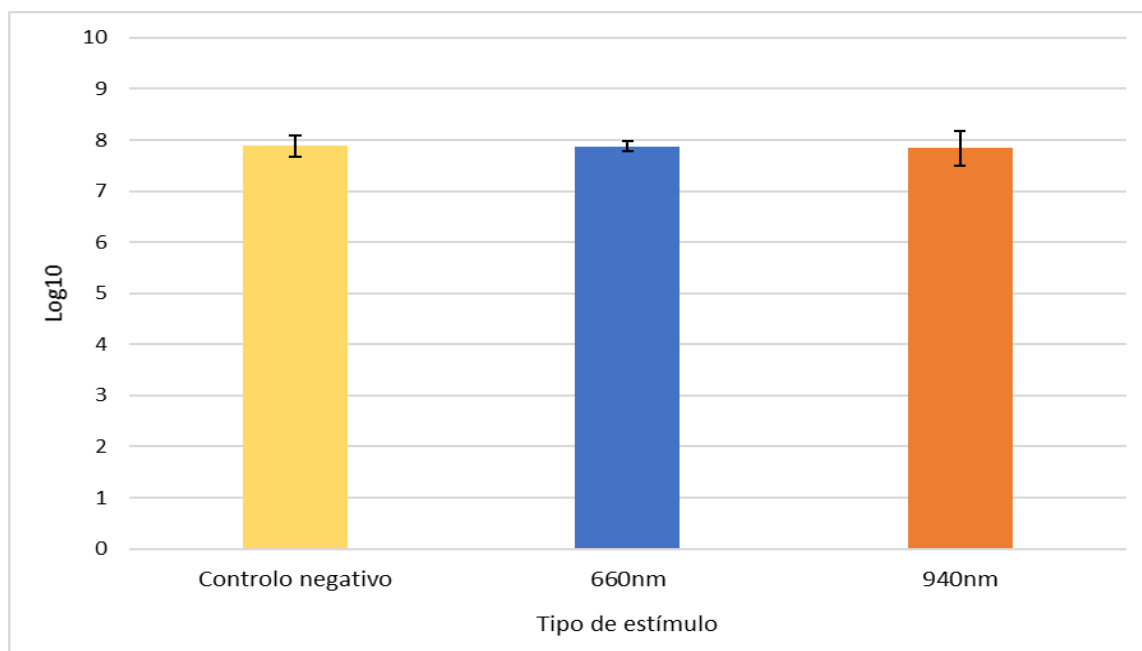
Comparando este último gráfico com o gráfico anterior, onde se demonstravam os resultados obtidos no primeiro ensaio da fase de latência com a estirpe clínica, é visível uma diferença. Recordando a figura 27., a luz de 660nm foi aquela onde o crescimento celular foi mais evidente. Neste último caso, verificou-se o oposto, ou seja, a luz de 940nm foi o estímulo que provocou uma maior multiplicação de *S. aureus*, em detrimento do controlo negativo e da luz de 660nm. A luz de menor comprimento de onda esteve, por sua vez, associada a menores valores de Log10 e, portanto, a um menor número de células da bactéria.

4.9 Análise Geral dos Resultados – Estirpe Clínica

Tal como para a estirpe ATCC, fez-se a análise de todos os resultados obtidos em cada um dos 2 ensaios efetuados para a estirpe clínica meticilina-sensível. Os mesmos apresentar-se-ão em formato de tabela, com os respetivos valores de desvio-padrão associados, acompanhados pelo gráfico final. Tais esquemas foram construídos tendo por base apenas a fase de latência, já que, para a estirpe clínica da bactéria, foi apenas essa a fase de crescimento que se analisou.

Tabela 47. Resumo de todos os resultados obtidos nos ensaios da fase de latência – estirpe clínica

| Fase de latência | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------|-------|---------------|
| | 1º ensaio | 2º ensaio | Média | Desvio-padrão |
| Controlo negativo | 7,739 | 8,032 | 7,885 | 0,208 |
| 660nm | 7,810 | 7,949 | 7,880 | 0,099 |
| 940nm | 7,603 | 8,077 | 7,840 | 0,335 |

Figura 29. Gráfico de todos os ensaios realizados (fase de latência) com a estirpe clínica de *S. aureus*

Recordando novamente o gráfico da figura 26. e a tabela 38., no qual se apresentaram todos os valores associados à estirpe ATCC, e comparando em particular as colunas representativas da fase de latência com as últimas acima obtidas, é perceptível que os valores médios de Log₁₀ obtidos na estirpe ATCC foram inferiores aos da estirpe clínica. Tal significa que qualquer um dos parâmetros (controlo negativo, luz de 660nm e luz de 940nm) teve uma influência superior no crescimento do microrganismo quando foi utilizada a estirpe clínica metilina-sensível de *S. aureus*. Adicionalmente, e embora tenha sido notória uma proximidade entre os resultados de Log₁₀ de todos os parâmetros na fase de latência da estirpe clínica (o que é perceptível pelos valores de desvio-padrão apresentados), a luz de 660nm continuou a demonstrar-se com uma maior influência ao nível do crescimento da bactéria, comparativamente à luz de 940nm. A diferença mais notória em relação à fase de latência da estirpe ATCC é o facto de o controlo negativo se encontrar com valores de Log₁₀ ligeiramente superiores aos da luz de 660nm, e, por esse motivo, se poder inferir que, na estirpe clínica, o

crescimento foi ainda mais estimulado quando não houve a aplicação de nenhum estímulo luminoso.

4.10 Resultados Obtidos na Análise Estatística

Para a análise estatística dos resultados, foram apenas tidos em conta o primeiro e terceiro ensaios da fase de latência da estirpe ATCC, e os dois ensaios da mesma fase de crescimento da estirpe clínica. Abordou-se esta fase em específico, uma vez que, e como já mencionado acima, foi aquela onde se verificou uma diferença mais notória entre a luz de 660nm e a luz de 940nm, relativamente ao efeito causado no crescimento da bactéria. Desta forma, revelou-se como a fase mais interessante para ser analisada neste contexto.

Tabela 48. Resultados obtidos na análise estatística do 1^o e 3^o ensaios da estirpe ATCC (fase de latência)

| Estirpe ATCC | |
|------------------------------------|----------------------------|
| | Valor de P ajustado |
| Controlo negativo vs. 660nm | 0,2032 |
| Controlo negativo vs. 940nm | 0,098 |

Tabela 49. Resultados obtidos na análise estatística dos ensaios da estirpe clínica (fase de latência)

| Estirpe Clínica | |
|------------------------------------|----------------------------|
| | Valor de P ajustado |
| Controlo negativo vs. 660nm | 0,9999 |
| Controlo negativo vs. 940nm | 0,997 |

Observando os valores acima representados, verifica-se que as diferenças obtidas entre os resultados dos ensaios analisados foram consideradas como não significativas ($p > 0,05$), para um grau de confiança de 95%. No entanto, na tabela 48., há um resultado muito próximo de ser significativo, resultado esse que representa a comparação entre o controlo negativo e a luz de 940nm nos ensaios da estirpe ATCC ($p = 0,098$). Tal indica que, caso fossem utilizadas mais estirpes, provavelmente iria conseguir-se uma significância estatística a este nível.

4.11 Análise Final

Tendo em conta todos os resultados obtidos, quer da estirpe clínica, quer da estirpe ATCC de *Staphylococcus aureus*, é possível depreender-se que, de uma maneira geral e simplista, a luz de 660nm aumenta o crescimento desta estirpe bacteriana, enquanto que a luz de 940nm diminui/inibe o seu desenvolvimento. Alguma literatura, além dos artigos mencionados na introdução desta dissertação, refere que quanto maior o comprimento de onda, maior a penetração da radiação na pele. (8)(17) Assim, a luz de 940nm tem uma maior capacidade de penetrar na pele do que a luz de 660nm. Tendo isto em conta, uma hipótese que pode explicar estes resultados tem a ver com isto mesmo, ou seja, com a capacidade de a luz infravermelha penetrar mais profundamente em relação à luz visível. Tal pode resultar num maior aumento da temperatura no interior da bactéria, tornando desfavorável a sua proliferação. Há estudos que demonstram que determinadas moléculas, quando estimuladas pela luz infravermelha, aumentam a temperatura e têm um efeito inibitório no crescimento de bactérias. De uma forma mais pormenorizada, isto acontece porque as bactérias transformam estas moléculas em iões negativos que, quando irradiados com a luz infravermelha, absorvem-na e aumentam a temperatura ao seu redor, levando à morte das células bacterianas. (6)(18) Os mesmos princípios nos quais estes estudos assentam podem servir como uma possível justificação para aquilo que foi obtido neste estudo em particular.

Desta forma, a luz de 940nm poderia ser utilizada a nível clínico, como uma possível opção terapêutica em infeções cutâneas causadas por *S. aureus*, uma vez que a mesma diminui ou está associada, na maioria dos ensaios, a menores valores de Log₁₀. Uma vez que esta luz infravermelha inibe o crescimento da bactéria em praticamente todas as suas fases do crescimento, é uma possível candidata para o tratamento de infeções que se encontrem em qualquer fase de desenvolvimento. Assim, e tendo em conta que muitas infeções cutâneas apresentam tecidos necrosados associados que impedem a utilização de antibioterapia, por diminuírem a eficácia deste tipo de tratamentos, a luz de 940nm, ao penetrar em maior profundidade na pele, surge como uma possibilidade plausível. Por outro lado, e recordando a fase introdutória desta dissertação, na qual foram abordados todos os tipos de infeções da pele causadas por *S. aureus*, pode optar-se por esta alternativa terapêutica isoladamente em infeções mais superficiais, como por exemplo em casos de impetigo, ou associada a antibioterapia local ou oral, em infeções mais profundas e mais graves, como o caso das infeções de feridas e abscessos. A utilização deste tipo de radiação apresenta também vantagens em relação a outros tipos de abordagens, uma vez que é uma alternativa não invasiva, mais barata,

de curta duração (neste estudo foi feita a irradiação durante 10min, tal como indicado pelo fornecedor da lâmpada), e que pode ser realizada sem a necessidade de um acompanhamento por parte de um profissional de saúde e no conforto da casa do utente, sem que o mesmo tenha de se deslocar a qualquer unidade de saúde. Também o facto de não serem administrados quaisquer tipos de fármacos é, por si só, uma mais valia no que toca à ocorrência de efeitos adversos ao medicamento e de interações medicamentosas, uma vez que não existe a absorção de nenhum componente para a corrente sanguínea com este tipo de tratamento.

Olhando para outra perspectiva, já alguns estudos foram publicados no âmbito da aplicação da luz como uma terapia possível para *S. aureus*. A maioria dos estudos assenta na terapia fotodinâmica, já anteriormente referida, que consiste na conjugação de diferentes aspetos – fotossensibilizadores (compostos sensíveis à luz), luz na gama do visível e oxigénio. De uma forma muito geral, esta abordagem surge como sendo eficaz, uma vez que se baseia na produção de ROS que são prejudiciais para as células do microrganismo e que acabam por induzir a sua morte. Esta alternativa terapêutica já foi utilizada para o tratamento de diversos tipos de condições patológicas, como diferentes tipos de cancros, mas atualmente utiliza-se com mais frequência em infeções localizadas. Reforçando o que foi dito na introdução, a vantagem da utilização desta fototerapia incide no facto de a mesma ser independente dos perfis de suscetibilidade aos antibióticos da estirpe, sendo utilizada quer em MSSA quer em MRSA. No entanto, esta abordagem terapêutica apresenta a limitação de não conseguir penetrar em profundidade nos tecidos e de existir uma disseminação da luz, atingindo os locais-alvo com menor intensidade. (3) Comparando esta alternativa terapêutica com aquilo que foi estudado nesta dissertação, e sabendo-se que a maioria dos estudos associados à terapia fotodinâmica incluem apenas luzes na gama do visível, surge aqui uma possibilidade de uma conjugação destas duas diferentes terapias. Dado que uma das limitações da terapia fotodinâmica é a incapacidade de penetrar mais profundamente nos tecidos, uma perspectiva futura poderia ser a utilização de terapia fotodinâmica com a substituição da luz visível pela luz infravermelha (representada neste estudo pela luz de 940nm) que, como já foi referido, apresenta uma maior capacidade de penetração na pele. Poderiam utilizar-se de igual forma os fotossensibilizadores, sensíveis ao comprimento de onda da luz infravermelha, e o oxigénio, por forma a serem formadas as ROS, tóxicas para as células do microrganismo, e assim criar-se-ia um conjunto de condições desfavoráveis à multiplicação das células de *S. aureus*, uma vez que, por si só, a luz de 940nm, sem qualquer fotossensibilizador associado nem oxigénio, já apresenta uma capacidade de diminuir o crescimento celular, por uma possível desestabilização no crescimento

celular induzido pelo aumento da temperatura. (6)(18) Por outro lado, já há estudos que indicam uma diminuição do espalhamento da luz num determinado meio quando utilizada a luz infravermelha. O mecanismo de ação subjacente é o seguinte: quando usada esta radiação, existe um aumento da temperatura associado, que leva à expansão do meio e à conseqüente diminuição do espalhamento da luz nesse mesmo meio. Assim, há uma maior intensidade de luz que chega aos locais-alvo, com um aumento na eficácia terapêutica. (4)

Como uma perspectiva futura, pode ser utilizada a luz de 940nm numa estirpe de *S. aureus* resistente à meticilina, uma vez que nesta dissertação apenas foi estudada a influência da luz numa estirpe clínica sensível a este antibiótico. *S. aureus* é um microrganismo pertencente à flora saprófita humana, que está frequentemente envolvido em infecções da pele, como já foi referido anteriormente. No entanto, o mesmo pode adquirir resistências a determinados antibióticos e tornar-se num problema, originando infecções em meio nosocomial e também na comunidade, sendo esta uma realidade cada vez mais frequente. Assim, tornou-se lógico iniciar este estudo em estirpes sensíveis à meticilina e, após observação dos resultados obtidos na mesma, deixar uma porta aberta para um posterior estudo com estirpes resistentes, cuja implementação de tratamentos e terapêuticas eficazes tem sido cada vez mais desafiante e complicada. (19)

Referindo agora as limitações deste estudo, as mesmas prendem-se com o facto de os resultados obtidos espelharem um ambiente *in vitro*, no qual apenas estão incluídas as células do microrganismo. Não se sabe até que ponto os resultados obtidos seriam iguais caso este estudo fosse feito num ambiente *in vivo*, ou seja, num ambiente cutâneo, com todos os componentes da pele associados. Por outro lado, ambas as luzes foram testadas num contexto não infeccioso, e, portanto, é incerta a influência que as mesmas iriam ter num quadro de infecção cutânea. Outra limitação do estudo, que poderá também ser encarada como uma perspectiva futura, está associada com o estudo da estirpe clínica ter sido apenas realizado ao nível da fase de latência e não em todas as fases de crescimento da bactéria, devido a uma questão de tempo e disponibilidade. Para um estudo mais completo e para complementar os resultados até então obtidos, seria importante verificar a influência de ambas as luzes nas restantes fases de desenvolvimento da bactéria desta estirpe.

5 Conclusão

Com base nos resultados obtidos neste estudo e tendo em conta a sua discussão anterior, é possível referir que o objetivo deste estudo foi alcançado, uma vez que foi

verificado o efeito das luzes infravermelha e visível no crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus*, um dos microrganismos comensais da pele frequentemente associado a infecções cutâneas.

Foram utilizadas duas estirpes do mesmo microrganismo, uma estirpe ATCC e uma estirpe clínica isolada a partir de uma amostra clínica, sensível à meticilina. Em ambas as amostras, os resultados obtidos foram concordantes entre si e demonstraram que a luz de 940nm - luz infravermelha - se associou a valores de Log₁₀ inferiores em relação à luz de 660nm - luz visível - e ao controlo negativo, onde não houve a aplicação de qualquer estímulo luminoso. Tal significa que houve um menor número de células bacterianas e, conseqüentemente, menos crescimento bacteriano, quando as células foram irradiadas com a luz de maior comprimento de onda. Desta forma, foi perceptível que a luz de 940nm promoveu uma diminuição do crescimento celular em relação à luz de 660nm e ao controlo negativo.

Os resultados obtidos neste estudo possibilitam a realização de futuros ensaios dentro da área, que devem ter em conta as limitações de outros estudos já efetuados e tentar ultrapassá-las. Investigações futuras poderão incluir um estudo mais aprofundado da estirpe clínica nas suas diversas fases de crescimento, bem como a influência destas luzes na estirpe de *S. aureus* resistente à meticilina, uma vez que a sua resistência a diversos antibióticos dificulta o tratamento, sendo uma realidade cada vez mais emergente e preocupante. Assim, torna-se fundamental a procura por terapias mais eficazes. Por outro lado, o estudo *in vivo* deve ser uma abordagem a considerar, uma vez que neste estudo foram apenas realizados ensaios *in vitro*. Mais tardiamente, e após a realização dos estudos em tecidos cutâneos saudáveis, seria interessante efetuar-se uma análise na presença de tecidos infetados, para que, de certa forma, se avaliasse a eficácia da luz infravermelha de forma mais real.

Referências Bibliográficas

- (1) – Barata, E. (2002). *Cosméticos. Arte e Ciência*. 1ª edição, Lidel.
- (2) – Ramakrishnan, K., Salinas, R., Higuaita, N. (2015). Skin and Soft Tissue Infections. *American Family Physician*. 92(6): 474-483
- (3) - Grunenwald, C., Bennett, M., Skaar, E. (2018). Non-conventional therapeutics against *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Spectrum*. 6: 1-29
- (4) – Hsieh, Z., Fan, C., Ho, Y., Li, M., Yeh, C. (2020). Improvement of light penetration in biological tissues using na ultrasound-induced heating tunnel. *Scientific reports*. 10: 17406-17414
- (5) – NASA. (2013). The Electromagnetic Spectrum. Acedido a 6 de dezembro de 2020, em: <https://imagine.gsfc.nasa.gov/science/toolbox/emspectrum1.html>
- (6) – Barolet, D., Christiaens, F., Hamblin, M. (2016). Infrared and Skin: Friend or Foe. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 155: 78-85.
- (7) – Jacques, S. (2013). Optical properties of biological tissues: a review. *Physics in Medicine and Biology*. 58: 37-61.
- (8) – Ash, C., Dube, M., Donne, K., Bashford, T. (2017). Effect of wavelength and beam width on penetration in light-tissue interaction using computational methods. *Lasers in Medical Science*. 32: 1909-1918
- (9) – Grossman, S., Porth, C. (2013). *Porth's Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*. 9ª edição, Lww.
- (10) – Grice, A.E., Segre, A.J. (2011). The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 9(4): 244-253.
- (11) – Forbes, B., Sahm, D., Weissfeld, A. (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 12ª edição, Mosby Elsevier.
- (12) – Murray, P., Rosenthal, K., Pfaller, M. (2012). *Medical Microbiology*. 7ª edição, Mosby Elsevier.
- (13) – Goering, R., Dockrell, H., Zuckerman, M., Roitt, I., Chiodini, P. (2012). *Mims' Medical Microbiology*. 5ª edição, Saunders Elsevier
- (14) – Clebak, K., Malone, M. (2018). Skin Infections. *Primary Care: Clinics in Office Practice*. 45: 433-454.
- (15) – Marques, S., Abbade, L. (2020). Severe bacterial skin infections. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 95: 407-417.
- (16) – Mistry, R. (2013). Skin and Soft Tissue Infections. *Pediatric Clinics of North America*. 60: 1063-1082.
- (17) – Krutmann, J., Bouloc, A., Sore, G., Bernard, B., Passeron, T. (2017). The skin aging exposome. *Journal of Dermatological Science*. 85: 152-161.
- (18) – Yang, Z., He, P., Wang, Y., Bai, H., Wang, S., Xu, J., Zhang, Xi. (2017). Supramolecular Radical Anions Triggered by Bacteria In Situ for Selective Photothermal Therapy. *56: 16239-16242*.

Avaliação do Efeito da Luz IV e Visível no Crescimento de *Staphylococcus aureus*
(19) - Lakhundi, S., Zhang, K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 31: 1-103.

Capítulo II – Estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução

Desde cedo que a profissão farmacêutica existe. No entanto, a sua função tem vindo a ser cada vez mais centralizada no utente e no seu bem-estar. Data de 1449 a existência de farmacêuticos em Portugal, designados nesta altura como boticários, tendo em conta que a sua principal tarefa seria a preparação officinal de medicamentos, daí a designação de Farmácia de Oficina, dada às farmácias daquele tempo. (1) Mais tarde, e com o surgimento dos Cuidados Farmacêuticos, por volta de 1990 (2), foi possível uma mudança neste panorama. O utente passou a estar no centro da atividade farmacêutica e a própria profissão acabou por ganhar uma maior diversidade. Atualmente, a farmácia comunitária é um serviço de proximidade para com o utente, estando integrada numa rede de cuidados primários à disposição de quem mais necessita. Esta disponibilidade e confiança que é depositada no farmacêutico comunitário confere um maior valor à profissão, permitindo que este seja o primeiro contacto por parte do utente sempre que exista alguma questão de saúde que o preocupe ou da qual necessite de mais informação. Um dos principais objetivos da atividade farmacêutica é, sem dúvida, promover o uso racional do medicamento, diminuindo os problemas relacionados com a medicação (PRM), que muitas vezes se traduzem em consequentes resultados negativos associados à mesma (RNM).

O estágio realizado na Farmácia Pedroso, que decorreu entre 3 de fevereiro e 12 de junho de 2020, perfazendo um total de 800 horas, permitiu colocar em prática toda a teoria que foi lecionada durante os 5 anos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Por outro lado, permitiu também o primeiro contacto com o mundo do trabalho, com a própria profissão farmacêutica e com aquele que é o dia-a-dia de uma Farmácia Comunitária. Assim, foi dada uma visão integrada daquela que será uma realidade futura, e o que será estar integrada numa equipa de profissionais focados essencialmente no utente e nas suas necessidades.

Em seguida, apresentam-se em pormenor todas as etapas deste estágio, divididas por secções, consoante o assunto abordado.

2. Organização da Farmácia Pedroso

2.1. Contexto Legislativo da Farmácia Comunitária em Portugal

A profissão farmacêutica vai muito mais além do simples ato de dispensa do medicamento. A mesma consiste também na promoção do uso adequado e responsável

do medicamento, no aconselhamento ao utente, na oferta de serviços que melhorem a sua qualidade de vida, no esclarecimento de dúvidas e questões referentes à farmacoterapia do utente, na gestão e acompanhamento do seu tratamento farmacológico, na elaboração de formações de sensibilização na comunidade, com a realização de rastreios, entre outras atividades. Estando, deste modo, o ato farmacêutico voltado principalmente para o utente, é importante que o mesmo seja regulado por leis que permitam a uniformidade desta profissão.

O Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, atualmente em vigor, consiste na apresentação do regime jurídico das farmácias de oficina. Nele são referidos diferentes aspetos das mesmas, divididos em 10 capítulos. Pode aqui encontrar-se informação relativamente à dispensa de medicamentos e aos locais onde essa dispensa pode ser realizada, possíveis proprietários de farmácias e todos os aspetos legais em torno dessa propriedade, composição do quadro profissional e respetivas funções, abertura de farmácias ao público e o necessário para que tal aconteça, funcionamento geral de uma farmácia e o seu encerramento, entre outros pontos igualmente importantes.

Outro dos documentos importantes no contexto da profissão farmacêutica é o Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, onde se encontram, entre outros aspetos, os direitos e os deveres gerais dos farmacêuticos. Incluído nestes últimos, encontra-se o dever para com o bem-estar e saúde do utente, sendo esta a principal responsabilidade do farmacêutico, devendo a mesma sobrepor-se aos seus interesses pessoais ou comerciais.

Existem outros documentos importantes no contexto legislativo que podem ser consultados, embora não sejam específicos da área da farmácia comunitária, como por exemplo o Código do Trabalho.

2.2. Localização, Horário de Funcionamento e Caracterização da Farmácia Pedroso

A Farmácia Pedroso, pertencente ao grupo *Holon*, encontra-se localizada na Rua Comendador Campos Melo 11-13, 6200-066 Conceição, Covilhã. Sendo pertencente ao grupo *Holon*, tal como supracitado, apresenta protocolos de atendimento específicos.

No exterior da farmácia encontra-se o símbolo “cruz verde” e a designação “farmácia Pedroso”, ambos indicativos da presença deste estabelecimento. Está também descrito o horário de funcionamento, sendo este das 8h às 20h, diariamente. Também no exterior se encontram outras informações relevantes, como o nome da diretora técnica e a escala com a indicação dos turnos das farmácias do município que se encontram de serviço. Além de tudo isto, ainda são apresentados os serviços prestados pela farmácia, sendo estes os seguintes: consulta farmacêutica, que inclui os serviços de

aconselhamento ao viajante e de cessação tabágica, a preparação individualizada da medicação, administração de vacinas e de medicamentos injetáveis, serviços de nutrição, de podologia, do pé diabético, de dermofarmácia e da primeira dispensa, e, por fim, a determinação de parâmetros bioquímicos fisiológicos e de parâmetros físicos, designados conjuntamente como o serviço de *check* saúde, onde se inclui a determinação da pressão arterial, glicose, colesterol total, colesterol *High Density Lipoprotein* (HDL), triglicéridos, teste de gravidez, teste de função respiratória e rigidez arterial. Todos estes serviços, anteriormente mencionados, encontram-se apresentados numa das duas montras que se encontram voltadas para o exterior, cujo objetivo é o de expor determinada informação para o utente. A farmácia Pedroso apresenta ainda um postigo, que confere maior segurança aquando do atendimento ao público, sendo particularmente utilizado no serviço noturno.

2.3. Recursos Humanos

O quadro profissional da Farmácia Pedroso é constituído pelos proprietários da mesma e por uma equipa multidisciplinar e diversificada cujos membros integrantes são a diretora técnica, três farmacêuticos, sendo um deles o farmacêutico adjunto substituto, e uma técnica de farmácia. Além destes profissionais, incluem-se ainda uma nutricionista, um podologista, uma enfermeira e uma farmacêutica, com o intuito de oferecerem os serviços de consultas de nutrição, de podologia, do pé diabético e dermofarmácia, respetivamente. Por fim, mas não menos importante, está também incluída nesta equipa uma funcionária de limpeza que assegura as condições de higiene da farmácia, sendo este serviço realizado diariamente.

Deste modo, no que toca aos recursos humanos, a Farmácia Pedroso vai ao encontro do que está estabelecido, tendo em conta o panorama legislativo. Segundo o artigo 23º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, com alterações feitas pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto, a farmácia deve dispor de, pelo menos, um diretor técnico e de outro farmacêutico, sendo que os farmacêuticos devem ser os constituintes maioritários. Relativamente ao quadro não farmacêutico, referido no artigo 24º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, com alterações feitas pela Lei n.º 16/2013, de 8 de fevereiro, os farmacêuticos podem ter o auxílio de técnicos de farmácia ou de outros profissionais devidamente habilitados, como é o caso da nutricionista, do podologista e da enfermeira acima mencionados. Assim, o conteúdo de ambos os artigos referidos corresponde à realidade da Farmácia Pedroso.

Relativamente às funções de cada profissional de saúde, são deveres do diretor técnico, de acordo com o artigo 21º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de agosto, os seguintes:

- 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, 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, em permanência, o asseio e a higiene;*
- 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. (3)*

Quando o diretor técnico apresenta incompatibilidades que o impeçam de estar presencialmente na farmácia, todas estas funções passam a ser assumidas pelo farmacêutico adjunto substituto.

Em relação aos técnicos de farmácia e farmacêuticos, o que os diferencia a nível de funções é o facto de os primeiros não poderem assumir o cargo de diretores técnicos, contrariamente aos farmacêuticos, e também de, no modelo *Holon*, não poderem exercer o serviço de consulta farmacêutica. À exceção destas duas tarefas, os técnicos de farmácia têm as mesmas funções dos farmacêuticos, no que toca ao atendimento ao público, à dispensa de medicamentos e ao aconselhamento ao utente.

É importante mencionar que todos os profissionais que se encontram a exercer funções na farmácia Pedroso, nomeadamente aqueles que se encontram na zona de atendimento ao público, apresentam-se devidamente identificados, com um cartão onde se encontra referido o nome e a categoria profissional que desempenham.

2.4. Organização e Divisão Física da Farmácia Pedroso

Relativamente ao seu interior, a farmácia Pedroso apresenta-se, tal como todas as outras farmácias pertencentes ao grupo *Holon*, com um *design* mais minimalista, o que permite aumentar o espaço. Concordando com o que vem descrito na alínea 2) do artigo 29º do Decreto-Lei nº 307/2007, de 31 de agosto, a farmácia Pedroso encontra-se dividida em 3 pisos distintos (nomeados, para melhor facilidade de compreensão por -1, 0 e 1), estando cada piso orientado para uma determinada função. De uma maneira geral, no piso -1 encontra-se a zona laboratorial e um gerador, no piso 0 encontra-se a zona de atendimento ao público e de exposição de produtos, instalações sanitárias para uso dos utentes, o *back-office/armazém* e gabinetes de atendimento personalizado, e, por fim, o último piso destina-se à gestão e receção de encomendas, mas também inclui uma zona de escritório, uma zona de cacifos, uma zona de repouso, copa, instalações sanitárias para uso dos profissionais da farmácia, e é também onde está instalado o equipamento de videovigilância. Cada uma destas áreas será caracterizada, com maior pormenor, nos pontos seguintes.

2.4.1. Área de Atendimento ao Público e de Exposição de Produtos

Esta área encontra-se no piso 0, piso esse que enquadra a entrada principal da farmácia e que permite o acesso de todos os utentes à mesma. Encontram-se à disposição 4 balcões de atendimento, sendo que um dos balcões permite que o utente esteja confortavelmente sentado enquanto é atendido, caso seja um utente que, por algum motivo em especial ou apenas por opção, não queira estar de pé durante todo o ato farmacêutico. É importante referir que todos os balcões de atendimento são individualizados, encontrando-se devidamente distanciados uns dos outros, o que permite que o utente tenha confiança e se sinta suficientemente resguardado para abordar qualquer assunto com os profissionais de saúde, o que pode ser benéfico numa abordagem posterior dos mesmos. Relativamente à área de exposição de produtos, esta encontra-se dividida tendo em conta a finalidade e o tipo desses mesmos produtos. Deste modo, categorizam-se as secções de Dermofarmácia e Dermocosmética; secção Capilar, onde se encontram expostos todos os produtos de aplicação no cabelo; secção da Sexualidade, onde se encontram produtos de aplicação na zona íntima, desde preservativos (métodos contraceptivos de barreira) a produtos de lavagem da zona íntima; secção de Higiene Oral, onde se encontram todos os tipos de produtos para limpeza e desinfeção da cavidade bucal, dentes e próteses dentárias, como colutórios, elixires, pastas dentífricas, entre outros produtos; secção de Ortopedia, onde estão expostos todos os produtos que facilitem a mobilidade e o movimento; secção de Medicação Familiar, que

se encontra atrás de dois dos balcões de atendimento, não sendo facilmente acedidos pelos utentes, onde estão expostos a maior parte dos medicamentos não sujeitos a receita médica, ou MNSRM; secção Sénior, na qual se encontram produtos idealizados para a população geriátrica, desde suplementos alimentares, fraldas para a incontinência urinária, aparelhos para medição da tensão arterial e câmaras expansoras para auxiliar na técnica inalatória; secção de Primeiros Socorros, onde estão expostos produtos tais como soro fisiológico, pomadas e cremes cicatrizantes para feridas, álcool etílico a 70 e a 96% (v/v), água oxigenada, compressas, pensos rápidos, entre outros, cuja utilização principal dos mesmos reside na lavagem, desinfeção e tratamento de feridas, encontrando-se também nesta secção produtos como a acetona e o óleo de amêndoas doces; secção Pés e Pernas, cujo conteúdo são produtos colocados nestas zonas do corpo, com o objetivo de facilitar a mobilidade e aliviar algum tipo de desconforto associado; secção Bebê e Mamã, onde estão expostos produtos associados ao cuidado do bebé e da própria mãe, desde produtos para banho e de cuidado da pele do bebé, fraldas, chupetas, leite em pó, cremes para a muda da fralda, toalhetas de limpeza, proteções de silicone e creme para mamilos gretados, entre outros produtos de Puericultura. Além de todas as secções anteriormente mencionadas, existem ainda na farmácia Pedroso duas montras de exposição de produtos, designadas por zonas de destaque, estrategicamente colocadas no meio da zona de atendimento ao público, onde são colocados produtos aos quais se pretende dar uma maior visibilidade, e conseqüentemente incentivar a sua compra, por parte do utente. Embora não sejam locais de exposição de produtos, encontram-se também na zona de atendimento, por trás dos balcões e por baixo das secções de exposição, gavetas de arrumação para diversos produtos. Por fim, encontram-se junto aos balcões de atendimento, na lateral dos mesmos, pequenas vitrinas de exposição de produtos, que normalmente estão associados a campanhas promocionais, e que, estando mais visíveis, são facilmente acedidos pelo utente, tendo em conta que se encontram colocados junto a um local onde o mesmo irá permanecer durante mais tempo.

É ainda importante referir que a farmácia Pedroso apresenta ainda na zona de atendimento ao público algumas cadeiras, onde os utentes se podem sentar enquanto esperam pela sua vez de atendimento, e também uma balança eletrónica, destinada para a pesagem dos utentes.

2.4.2. Área de Recepção e Gestão de Encomendas e de Contabilidade

É nesta zona que são geridas, recebidas, analisadas e validadas todas as encomendas que chegam à farmácia. Após todas estas etapas, todos os produtos são arrumados no armazém ou na zona de atendimento, no local apropriado para a exposição de produtos, dependendo da sua localização habitual.

2.4.3. Armazém/*Back-Office*

No mesmo piso da zona de atendimento, encontra-se a área de armazenamento e aprovisionamento de medicamentos. Nesta, apresentam-se gavetas de arrumação deslizantes, numeradas, e cujo conteúdo em medicamentos está organizado por ordem alfabética da denominação comercial. Aqui, encontram-se também estantes de arrumação com diferentes finalidades: um móvel onde estão arrumados os medicamentos que têm maior rotatividade e que são mais vendidos, ou que dão maior rentabilidade à farmácia; móvel das validades, onde se encontram os medicamentos cujo prazo de validade se encontra próximo do fim (intervalo de meio ano); móvel de pomadas e também de produtos relacionados com a medição da glicémia, como tiras, lancetas, sensores de medição; móvel dos excessos, onde se encontram arrumados os medicamentos que se encontram em excesso e que, por esse motivo, não conseguem ser armazenados nas devidas gavetas por falta de espaço nas mesmas; móvel dos xaropes; móvel dos medicamento cujo acondicionamento secundário é demasiado grande para que possam ser armazenado nas gavetas de arrumação; móvel das reservas, subdividido em reservas pagas e não pagas, onde se encontram colocados todos os produtos reservados para os utentes, devidamente identificados com o talão de reserva, onde se apresentam o número da reserva, o nome do utente, o produto reservado e a quantidade pedida.

Todos os produtos que necessitem de conservação no frio, como por exemplo as insulinas, são colocados no frigorífico que se encontra também neste local.

2.4.4. Gabinetes de Atendimento Personalizado

Localizados na zona de atendimento ao público, estão dois gabinetes de atendimento personalizado, essencialmente reservados para os serviços de consulta farmacêutica, consultas de podologia, do pé diabético, de nutrição, medições da tensão arterial e de outros parâmetros fisiológicos, como colesterol e triglicéridos, serviços de *check* saúde e administração de medicamentos injetáveis e de vacinas. Nestes gabinetes, o ambiente é mais reservado e menos exposto do que na zona de atendimento, o que permite ao

farmacêutico abordar o utente de uma forma mais fácil e sem tantos constrangimentos por parte deste último, permitindo um diálogo mais privado.

2.4.5. Escritório

Nesta zona, encontrada no mesmo piso da área de gestão e receção de encomendas, são realizadas todas as tarefas associadas à contabilidade, faturação e gestão da farmácia. Além disso, é também no escritório que se processa a recolha e posterior registo, semanal ou quinzenalmente, dos dados de temperatura e humidade, permitindo um maior controlo destes parâmetros, que são importantíssimos na conservação e manutenção das características intrínsecas dos medicamentos e dispositivos médicos.

2.4.6. Laboratório

Esta divisão encontra-se no piso -1 da farmácia, onde também está colocado um gerador, cuja função é garantir todo o funcionamento normal do estabelecimento em caso de falência elétrica.

Este laboratório foi idealizado para que fosse possível a realização de medicamentos manipulados e de preparações extemporâneas. No entanto, atualmente não se encontra em funcionamento, tendo em conta que existe no Fundão uma farmácia, também pertencente ao grupo *Holon*, a Farmácia Diamantino, para onde são enviados todos os pedidos de medicamentos manipulados das restantes farmácias do grupo localizadas na zona centro (farmácias Pedroso, São João e *Holon Covilhã*).

2.5. Equipamento Informático e de Videovigilância

A farmácia Pedroso apresenta o *software Sifarma2000*, sendo uma ferramenta de gestão e atendimento das farmácias comunitárias, indispensável para todo o funcionamento e logística da farmácia. Este *software*, instalado em todo o equipamento informático da farmácia Pedroso, suporta ainda o aconselhamento dado pelos farmacêuticos e técnicos de farmácia, na medida em que fornece informações relativas à posologia, contra-indicações, precauções, indicações terapêuticas, interações medicamentosas e outras indicações que são relevantes no ato da dispensa do medicamento ao utente.

Relativamente ao equipamento de videovigilância, encontram-se disseminadas por toda a área da farmácia, câmaras que permitem visualizar todo o ambiente do estabelecimento na sua totalidade.

3. Informação e Documentação Científica

A profissão farmacêutica, incluída no âmbito da saúde, encontra-se em constante desenvolvimento e progressão. Deste modo, é importante que todos os farmacêuticos e técnicos de farmácia estejam devidamente atualizados, não só a nível científico, mas também a nível ético e legal (4), para que possam esclarecer qualquer questão que seja levantada pelos utentes, dando-lhes uma resposta esclarecedora e confiante. Toda a informação obtida por estes profissionais de saúde deve ser informação fidedigna e confiável, de documentos oficiais, para que exista uma total credibilidade naquilo que está a ser transmitido ao utente e uma qualidade máxima no serviço que está a ser prestado.

Segundo o artigo 37º do Decreto-Lei nº. 307/2007, de 31 de agosto, é obrigatório que, em todas as farmácias, esteja presente a Farmacopeia Portuguesa, seja em papel, em formato eletrónico ou *online*, a partir de um sítio da Internet que seja reconhecido pelo INFARMED, podendo também encontrar-se nas instalações das farmácias outros documentos, desde que indicados pelo mesmo. (3) Além destas fontes bibliográficas, e de acordo com a 3ª edição das Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (2009), são ainda obrigatórios o Prontuário Terapêutico e o Resumo das Características dos Medicamentos, que devem ser acedidos no momento da dispensa dos fármacos. (4)

Além de toda esta documentação científica, existe ainda na Farmácia Pedroso o Formulário Galénico Português, o Índice Nacional Terapêutico, o *Simposium* Terapêutico, o Mapa Terapêutico, Tecnologia Farmacêutica (1º Volume, 6ª edição), e bibliografia relativa a áreas específicas, tais como Biologia Celular e Molecular, Microbiologia, Histologia, Fisiologia Humana, Patofisiologia, Química-Física e Química Orgânica, que pode ser consultada sempre que seja necessário.

É imprescindível que o farmacêutico tenha uma formação rigorosa, continuada e prolongada no tempo, com atualizações constantes de toda a informação que possa ser útil para melhorar os serviços prestados na comunidade. Além de um estudo e pesquisa aprofundados de todas as fontes bibliográficas supracitadas, é importante e relevante que estes profissionais de saúde tenham presença assídua em congressos, simpósios, cursos de formação científica e técnica, e outros encontros científicos e profissionais (4), já que os mesmos têm em vista a disseminação do conhecimento e a garantia de uma atualização profissional constante.

4. Aprovisionamento

Aprovisionar significa, de uma maneira geral, abastecer-se ou suprir-se de um determinado produto. Assim sendo, tal implica que se estabeleça uma relação entre os

fornecedores e a própria empresa que necessita desses mesmos produtos, tendo como objetivo geral a sua venda e consequente obtenção de lucro.

Transpondo toda esta logística e gestão administrativa para o ambiente da farmácia em particular, este aprovisionamento deve ser feito tendo em conta a procura e a rentabilidade dos produtos, sendo que, produtos com maior procura ou maior rotatividade e produtos que, por si só, são mais rentáveis para a farmácia, deverão apresentar-se em maior quantidade.

4.1. Gestão de Encomendas

As encomendas são realizadas, conferidas e recebidas tendo como objetivo principal o aprovisionamento de todos os medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde, para que não haja rutura de *stock* e consequente falta desses produtos na farmácia. Para tal, é importante que exista uma boa gestão no que toca à área relativa às encomendas, para garantir a dispensa de todos os produtos que são requisitados pelos utentes, contribuindo, de certa forma, para a fidelização dos clientes na farmácia, permitindo um seguimento mais próximo dos mesmos por parte do farmacêutico e, consequentemente, um melhor aconselhamento por este profissional de saúde.

Desta forma, podem ser realizadas 4 tipos de encomendas principais: instantâneas, diretas, diárias e manuais. As mesmas serão pormenorizadamente explicadas em seguida.

4.1.1. Pedido de Encomendas

Todas as encomendas devem ser realizadas de forma ponderada e de acordo com as necessidades da farmácia no momento da encomenda, para que não exista um excesso de produtos e consequente acumulação dos mesmos, mas também para que a procura não seja superior à oferta por parte da farmácia e o utente não consiga ter acesso ao produto no momento exato da sua requisição.

Deste modo, está previamente definido, em suporte informático, no *software Sifarma2000*, um *stock* máximo e mínimo, específico de cada produto existente na farmácia Pedroso. Tal permite que seja automaticamente criada uma encomenda daquele produto caso o mesmo apresente um *stock* inferior ao *stock* mínimo, garantindo, deste modo, a possível dispensa do mesmo ao utente, caso seja necessário. Por outro lado, após análise do *stock* máximo, pode prevenir-se a aglomeração de um dado produto que apresente menor rotatividade e que, eventualmente, poderá passar do prazo de validade, não podendo ser dispensado tal ocorrer.

4.1.1.1. Fornecedores – Critérios de Seleção

É através dos fornecedores que a farmácia consegue obter todos os produtos que foram previamente encomendados, de acordo com as necessidades da mesma. Na farmácia Pedroso existem dois fornecedores principais: Empifarma, Produtos Farmacêuticos, S.A. e a OCP Portugal, S.A. – Sede e Armazém. Pode recorrer-se a outros fornecedores além dos referidos, normalmente em casos de encomendas diretas. No caso particular da farmácia Pedroso, são mensalmente realizados este tipo de encomendas diretamente aos laboratórios fabricantes, sendo exemplos a *Pierre Fabre*, *Caudalie* e outros, estando, na sua maioria, associados à área da Dermocosmética e Dermofarmácia.

A seleção dos fornecedores supracitados foi estrategicamente pensada e analisada, tendo em conta determinados critérios, entre os quais o preço de custo à farmácia, ou seja, o preço que a farmácia terá de pagar por aquele produto e as facilidades desse pagamento, a disponibilidade de *stock* e os tipos de produto disponíveis, a rapidez na entrega, o número de entregas diárias, a atribuição de descontos ou bonificações e as condições de devolução de produtos, quando a mesma é necessária.

4.1.1.2. Tipos de Encomendas

De um modo geral, existem quatro tipos distintos de encomendas que podem ser realizadas, sendo estas as encomendas instantâneas, as encomendas diretas e as encomendas diárias.

Relativamente às encomendas instantâneas, são aquelas que são realizadas quando se necessita de algum produto em específico, sendo necessário verificar previamente se esse mesmo produto se encontra disponível nos fornecedores selecionados antes de proceder à sua encomenda nesses mesmos fornecedores. Normalmente, este tipo de encomendas é realizado quando há rutura de *stock* de um determinado produto, não se encontrando na farmácia, mas que o mesmo é necessário para ser dispensado para um utente.

No que toca às encomendas diretas, as mesmas são realizadas diretamente ao fornecedor, quando há indisponibilidade dos produtos noutros armazenistas ou caso a encomenda diária já tenha sido realizada, podendo efetuar-se recorrendo ao *software Sifarma2000* ou telefonando diretamente para o fornecedor.

As encomendas diárias são, como o nome indica, realizadas diariamente. No caso da farmácia Pedroso, são efetuadas duas encomendas diárias: uma encomenda que deverá ser feita até ao 12:00h de cada dia e outra encomenda que deverá ser realizada até às 18:00h de cada dia. Assim, e para que as encomendas diárias reflitam as necessidades da farmácia em termos de produtos, é criada automaticamente pelo *Sifarma2000* uma lista de aquisição dos mesmos, sendo que esta lista tem em conta os *stocks* mínimo e

máximo, específicos para cada produto, e que foram previamente definidos de acordo com a sua rotatividade, pelo diretor técnico ou pelo farmacêutico substituto. Com a dispensa dos produtos aos utentes, o *stock* dos mesmos vai diminuindo, até que, ao atingir o *stock* mínimo pré-estipulado, esse produto é automaticamente colocado na lista proposta pelo *Sifarma2000*, para que possa ser encomendado. Deste modo, pretendem-se colmatar as faltas de produtos na farmácia ou mesmo evitar-se a rutura de *stock* dos mesmos. Antes do envio da encomenda diária ao fornecedor, deve analisar-se e validar-se a proposta da lista de produtos que foi criada pelo *Sifarma2000*, alterando-a caso seja necessário. Nesta análise deve ter-se sempre em atenção o *stock* atual do produto e o número de vendas que foram feitas do mesmo no último mês, para que se possa ter uma estimativa da quantidade de produto que deverá ser encomendada. Pode também ser útil a consulta de gráficos, nos quais é permitido verificar a sazonalidade e a evolução do consumo de determinados produtos, no último ano.

4.1.2. Receção de Encomendas

Após a entrega das encomendas, é importante que todo o processo de receção das mesmas seja feito de forma metódica e criteriosa. Em primeiro lugar deve verificar-se se todas as encomendas se fazem acompanhar da respetiva fatura ou guia de remessa e se todos os produtos se encontram nas devidas condições, com as embalagens íntegras, e nas quantidades pedidas e faturadas. Para iniciar a introdução da encomenda no sistema, deve selecionar-se o número da mesma, colocar-se o respetivo valor e o número de embalagens, de acordo com o que vem apresentado na fatura respetiva. Depois, deve ser lido opticamente o código QR do produto (Normativa Europeia que impede a falsificação dos medicamentos), ou, caso este não se encontre presente, o Código Nacional do Produto (CNP), verificando sempre o Preço de Venda à Farmácia (PVF) e o Preço de Venda ao Público (PVP) e o prazo de validade, especialmente se o *stock* do produto for pequeno, devendo alterar-se caso seja necessário ou introduzir-se quando não há *stock* do produto, o Preço Inscrito na Caixa (PIC), quando os produtos não são de venda livre. No que toca aos MNSRM, o PVP deve ser introduzido de forma manual, tendo em conta o IVA do produto e o seu PVF respetivo. No final de tudo isto, deve confirmar-se se o número de embalagens e o valor final coincide com aquilo que vem na fatura, e se todos os produtos têm localização definida. Após a validação e a receção da encomenda, são impressas etiquetas para os produtos de venda livre que se encontrem na zona de atendimento, e que são facilmente acedidos pelos utentes.

Para produtos que são encomendados via telefone e que, portanto, não estão registados no sistema informático, ou para produtos rateados, ou seja, produtos que se encontram

esgotados, mas que a farmácia pode receber por apresentar um nível de compras superior naquele fornecedor, é necessário realizar-se uma encomenda manual dos mesmos para que possa ser feita a sua receção. Este tipo de situações é facilmente identificável, já que, na fatura que acompanha a encomenda respetiva, esses produtos surgem com o símbolo #, antes do código CNP específico do produto. Nestes casos, cria-se então uma encomenda manual destes produtos, introduzindo-se manualmente os seus códigos CNP e colocando-se a quantidade respetiva, que deve ser igual à quantidade faturada, aprovando-se em seguida e transferindo-se para a área da receção de encomendas, para que a mesma possa ser conferida e validada.

Em todo este processo, é importante mencionar que se prioriza a receção dos produtos que necessitem de refrigeração para se manterem viáveis, e dos produtos que se encontram reservados, para que a sua dispensa ao utente seja feita o mais rapidamente possível.

4.2. Armazenamento

Após a receção das encomendas, todos os produtos contidos nas mesmas devem ser arrumados, tendo em conta a localização previamente definida em cada ficha do produto, sendo armazenados em locais onde possam manter-se viáveis e nas condições ótimas de conservação. Deste modo, todos os produtos termolábeis, e que, portanto, necessitem de refrigeração, devem ser armazenados no frigorífico. Já os produtos que podem ser conservados à temperatura ambiente são armazenados em gavetas (que se encontram devidamente numeradas), por ordem alfabética do nome comercial, podendo também, dependendo do tipo de produto, ficarem expostos na zona de atendimento ao público, caso sejam de venda livre (MNSRM, produtos de dermocosmética, entre outros), sendo que estes são colocados nas prateleiras de exposição de acordo com o objetivo terapêutico a que se destinam.

No momento de armazenar os produtos, deve ter-se em conta a aplicação da estratégia “first expire, first out” - FEFO. Tal significa que os produtos que apresentem um prazo de validade mais curto e mais próximo de terminar devem ser dispensados em primeiro lugar, relativamente aos produtos que apresentem prazos de validade mais longos.

O armazenamento correto dos produtos permite que, aquando do atendimento, seja mais fácil localizar os mesmos, permitindo uma resposta e uma dispensa mais rápidas ao utente, já que, na ficha de cada produto se encontra definida a sua localização respetiva.

4.2.1. Controlo dos Parâmetros de Temperatura e Humidade

Segundo o Manual de Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária, no que toca ao armazenamento, todas as instalações farmacêuticas devem garantir que as condições de iluminação, temperatura, humidade e ventilação estão asseguradas, não comprometendo deste modo a viabilidade de todos os produtos e permitindo a sua correta conservação.

Assim, para permitir um maior controlo sobre estes parâmetros, essencialmente da temperatura e da humidade, é feita semanalmente, a medição dos mesmos na Farmácia Pedroso, recorrendo ao *software Rotronic HW3*.

O registo da temperatura é feito com o auxílio de três sensores (pertencentes a termo-higrómetros que permitem esta leitura), que se encontram divididos, estando um na zona de atendimento, outro na zona de armazenamento e outro no frigorífico. Neste último, a temperatura deverá situar-se acima dos 2°C e abaixo dos 8°C, e na zona de atendimento e *back-office/armazém* este parâmetro deverá encontrar-se entre 15°C e 25°C.

Relativamente à recolha dos dados de humidade, os termo-higrómetros permitem esse registo. Na zona de atendimento, este parâmetro deverá estar na gama dos 30°C-60°C e no frigorífico entre os 0°C e os 100°C.

Após a recolha e o registo de todas as leituras dos diferentes locais da farmácia, esses mesmos dados são impressos e guardados num dossiê próprio para o efeito, devidamente identificado. Tal permite que, em caso de uma inspeção por parte do INFARMED à farmácia, seja demonstrado que todos os parâmetros necessários à conservação dos produtos se mantêm dentro do suposto.

4.3. Controlo dos Prazos de Validade

Monitorizar os prazos de validade de todos os produtos é uma tarefa crucial no ambiente farmacêutico, quer do ponto de vista da farmácia, quer na perspetiva do próprio utente, já que, caso os produtos passem de validade, é desvantajoso o seu consumo por parte deste último devido à elevada probabilidade de surgimento de efeitos adversos. No que toca à farmácia, um produto fora do seu prazo de validade não permite que o mesmo seja dispensado ou devolvido ao fornecedor, não se obtendo lucro com ele.

O *software Sifarma2000* permite criar uma listagem de produtos cuja validade expire nos 6 meses seguintes. Esta lista é impressa mensalmente, permitindo um controlo apertado relativamente às validades.

Após obtenção desta lista, todos os produtos incluídos na mesma são observados em relação ao seu prazo de validade. Após esta comparação, se o prazo de validade entre o

que consta no produto e o que consta na listagem diferir, é permitida a sua correção e atualização posterior. Os produtos que se encontrem no intervalo dos 6 meses para o término do prazo de validade serão mudados de localização (quer fisicamente, quer na ficha do produto), sendo colocados no móvel específico das validades, permitindo que a sua dispensa seja priorizada, relativamente aos mesmos produtos que tenham um prazo de validade mais prolongado. Se se verificar que o produto não será escoado até ao seu prazo de validade terminar, é feita uma nota de devolução ao fornecedor, podendo existir diferentes possibilidades decorrentes desta devolução: obtenção de uma nota de crédito, obtenção do mesmo produto com uma validade mais alargada ou obtenção de outro produto que apresente o mesmo valor.

4.4. Marcação de Preços

Aquando da receção de encomendas, verificam-se duas situações distintas, no que toca à marcação dos preços: os medicamentos sujeitos a receita médica, MSRM, apresentam-se com o PIC, e o seu PVP encontra-se fixado por decreto-lei, tal como o que acontece para os MNSRM participados, encontrando-se isto descrito na alínea 1), do artigo 103º do Decreto- Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto; por outro lado, no que toca aos produtos de venda livre e aos MNSRM não participados, a marcação dos preços é feita no ato da receção da encomenda, tendo em conta o PVF, o IVA do produto e a margem de comercialização da farmácia para aquele produto. Após a validação da encomenda, os produtos de venda livre que ficarão visíveis na zona de atendimento ao público serão etiquetados, com as etiquetas que são impressas automaticamente pelo *Sifarma2000*.

4.5. Devoluções de Produtos

A devolução de produtos é uma tarefa frequentemente realizada na farmácia, por diversos motivos, sendo que essa devolução tem um prazo máximo de 5 dias para ser efetuada. Normalmente, as razões mais comuns para estas devoluções ocorrerem são produtos danificados aquando do transporte, produtos cuja quantidade é superior à quantidade encomendada, produtos com prazos de validade reduzidos, ou que estão a expirar ou já expiraram, recolha voluntária de lotes de produtos por recomendação do INFARMED ou do titular da Autorização de Introdução no Mercado (AIM), produtos pedidos por engano ou enviados à farmácia sem terem sido encomendados, produtos cujo preço faturado é incorreto ou produtos cuja embalagem se encontra incompleta. Após se verificar uma das situações acima mencionadas, e com o auxílio do *software Sifarma2000*, é emitida uma nota de devolução ao fornecedor, selecionando a secção “Encomendas” e posteriormente “Gestão de Devoluções”, onde devem ser preenchidas

algumas informações importantes, tais como a identificação do produto que se pretende devolver, o lote e a quantidade a devolver, o motivo da devolução, o preço do produto, a data da devolução e a identificação do fornecedor. Deve atualizar-se a data e a hora, para que o transporte do produto a devolver seja feito no dia seguinte.

Assim que a devolução seja confirmada e validada, a nota de devolução é impressa em triplicado, sendo que o original deve ser entregue ao fornecedor, o duplicado para o distribuidor que irá transportar o produto a devolver, e o triplicado é arquivado na farmácia que fez a devolução. Quer o original, quer o duplicado devem ser devidamente assinados pelo farmacêutico responsável pela devolução e carimbados com o carimbo da farmácia antes de serem entregues aos respectivos responsáveis.

Posteriormente, a devolução poderá ser aceite ou não pelo fornecedor, sendo que, caso seja aceite, é emitida uma nota de crédito à farmácia ou é enviado um produto substituto (igual produto com validade superior, caso o motivo de devolução tenha sido o prazo de validade a expirar, ou um produto diferente com igual valor ao produto devolvido), sendo feita, desta forma, a regularização da devolução. Se, pelo contrário, o fornecedor não aceitar a devolução, o produto é devolvido à farmácia, sendo que, posteriormente tem de dar-se quebra desse mesmo produto, para que possa sair do *stock*. Depois, o mesmo é colocado no contentor da VALORMED para que possa ser feita a sua incineração.

5. Medicamentos e Outros Produtos de Saúde

A farmácia é o local primordial de dispensa de medicamentos e de outros produtos de saúde, assim como de aconselhamento e de informação ao utente. Para tal, o farmacêutico é o profissional de saúde mais experiente no que toca ao medicamento, devendo estar constantemente atualizado relativamente a esta área. No entanto, o seu conhecimento deve alargar-se além do medicamento, já que a farmácia disponibiliza ao utente outros produtos de saúde, sendo necessário reter e transmitir informações sobre os mesmos. Neste sentido, é imprescindível abordar alguns conceitos relevantes que estarão constantemente presentes no ambiente da farmácia.

5.1. Conceitos Importantes a Definir

Desde logo, torna-se crucial definir o que é um medicamento. Segundo o artigo 3º do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, um medicamento define-se como sendo “toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a

estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”. (5) Por outro lado, é também muito importante distinguir entre medicamento de referência (denominado, tradicionalmente, como medicamento de marca) e medicamento genérico, já que ambas as realidades podem ser opções terapêuticas e torna-se fundamental informar os utentes das diferenças entre estas duas possibilidades. Assim, um medicamento de referência é então, segundo o decreto-lei acima mencionado, um “medicamento que foi autorizado com base em documentação completa, incluindo resultados de ensaios farmacêuticos, pré-clínicos e clínicos”. Por outro lado, um medicamento genérico define-se como sendo um “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) Uma importante diferença que importa salientar entre estes dois conceitos, e que não foi anteriormente referida, baseia-se na questão económica, já que normalmente o medicamento genérico apresenta um PVP mais baixo, relativamente ao PVP do medicamento de referência.

Olhando noutra perspetiva, dispositivos médicos e medicamentos são conceitos que se encontram presentes no ambiente farmacêutico, sendo importante diferenciá-los. Tendo por base o site do INFARMED, entendem-se por dispositivos médicos todos os produtos que tenham o objetivo comum dos medicamentos (prevenção, diagnóstico ou tratamento), mas que não apresentam ações farmacológicas, metabólicas ou imunológicas para atingir esse mesmo objetivo, sendo, neste aspeto, distinto dos medicamentos. (6)

Relativamente aos medicamentos manipulados, área frequentemente abordada na farmácia, podem ser referidos dois conceitos importantes neste âmbito: preparado oficial e fórmula magistral. Ambos refletem dois modos diferentes de preparação de medicamentos manipulados. No que toca ao preparado oficial, e segundo o artigo 3º do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, este define-se de uma forma geral como sendo um método de preparação que tem por base documentos oficiais para esse efeito, sejam eles uma farmacopeia ou outro formulário oficial. Por outro lado, uma fórmula magistral constitui-se como sendo um medicamento que é preparado tendo por base uma receita médica, não recorrendo por isso a documentos oficiais de preparação de medicamentos manipulados. (5)

6. Dispensa de Medicamentos

Segundo o Manual das Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária, a dispensa de medicamentos, quer sejam sujeitos a receita médica ou não, implica que

seja realizado o ato profissional da cedência dos mesmos, devendo esta ser devidamente acompanhada de informações indispensáveis à correta utilização dos medicamentos, assim como de qualquer aconselhamento farmacêutico que seja considerado relevante.

(4)

No caso de serem MSRMs, esta dispensa só poderá ser realizada mediante a apresentação da prescrição médica respetiva. Por outro lado, no caso dos MNSRMs, esta dispensa pode efetuar-se no âmbito da solicitação pelo utente, para efeitos de automedicação, ou por aconselhamento ou indicação farmacêutica.

É importante mencionar que a dispensa de medicamentos deve ser realizada da forma mais completa possível, para que o utente possa ter acesso a todas as informações relevantes relativamente à sua farmacoterapia. Por outro lado, durante este ato profissional, o farmacêutico deve também avaliar a medicação dispensada, com vista a identificar e resolver possíveis PRMs, tendo sempre como objetivo primordial o bem-estar e a proteção do utente.

6.1. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

Tal como a designação indica, e como já foi anteriormente mencionado, os MSRMs só podem ser cedidos mediante a apresentação de uma prescrição médica. Tendo por base o artigo 114º do Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto, estão sujeitos a receita médica todos os medicamentos que:

- a) Possam constituir um risco para a saúde do doente, direta ou indiretamente, mesmo quando usados para o fim a que se destinam, caso sejam utilizados sem vigilância médica;*
- b) Possam constituir um risco, direto ou indireto, para a saúde, quando sejam utilizados com frequência em quantidades consideráveis para fins diferentes daquele a que se destinam;*
- c) Conttenham substâncias, ou preparações à base dessas substâncias, cuja atividade ou reações adversas seja indispensável aprofundar;*
- d) Destinem-se a ser administrados por via parentérica. (5)*

No ato da dispensa, é dever do farmacêutico validar a prescrição médica que lhe é apresentada pelo utente, podendo esta apresentar-se de diferentes maneiras:

- Prescrição eletrónica materializada, impressa em formato de papel;
- Prescrição eletrónica desmaterializada, ou receita sem papel, facilmente acessível através de equipamentos eletrónicos, podendo, deste modo, ser enviada para o telefone do utente, via SMS;

- Prescrição manual, redigida à mão pelo médico prescritor; tem sido cada vez menos utilizada, e apenas em determinados casos excepcionais, definidos no artigo 8.º da Portaria n.º 224/2015, de 27 de julho. (7)

Tal como referido anteriormente, é dever do farmacêutico ou do técnico de farmácia validar a prescrição médica, sendo que, para isso, é necessário verificar diferentes aspetos, tendo em conta o tipo de prescrição que é apresentada.

Se se tratar de uma prescrição eletrónica, a mesma deve ser validada se apresentar:

- Numeração, que corresponde ao número único da receita médica que é atribuído pela Base de Dados Nacional de Prescrições (BDNP);
- Identificação do local de prescrição e do médico prescritor, ambas as disponibilizadas pela BDNP;
- Identificação do utente;
- Entidade financeira responsável pelo pagamento da comparticipação da receita, que, maioritariamente, corresponde ao Serviço Nacional de Saúde (SNS);
- Identificação do medicamento, que pode ser feita através da Denominação Comum Internacional (DCI) ou nome da substância ativa, forma farmacêutica, dosagem, apresentação (dimensão da embalagem), posologia, número de embalagens, Código Nacional para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos (CNPEM) ou outro código oficial que permita a identificação do produto; excepcionalmente, a prescrição pode ser feita pelo nome da marca do produto nos casos em que: o medicamento genérico não é comparticipado ou existe apenas a marca; quando se tratam de medicamentos que apenas podem ser prescritos para determinadas indicações terapêuticas, por motivos de propriedade industrial; quando o prescritor justifica a não substituição do medicamento que foi prescrito. Nestes casos, deverá então constar o nome comercial do medicamento ou do respetivo titular de autorização de introdução no mercado (AIM) e o código do medicamento em dígitos e em código de barras, ao invés do CNPEM;
- Posologia (dose do medicamento e intervalo de administração) e duração do tratamento;
- Comparticipações especiais, sendo que, nestes casos, é obrigatória a menção à letra “O”, que indica que os utentes são abrangidos por outro regime especial de comparticipação, e também deve ser feita referência ao despacho associado à respetiva comparticipação especial;
- Data da prescrição. (7)

No que concerne à prescrição manual, além de ter de verificar a existência de todos os tópicos acima mencionados para a prescrição eletrónica, é necessário ainda validar os seguintes aspetos:

- Identificação da exceção legal que levou à substituição da prescrição eletrónica pela prescrição manual, sendo opções de exceções legais a falência informática, a inadaptação do prescriptor, a prescrição no domicílio ou até 40 receitas por mês;
- Local de prescrição, com respetiva vinheta do mesmo, se aplicável
- Validade da prescrição e número de embalagens;
- Identificação do médico prescriptor e respetiva assinatura;
- Especificidades, ou seja, rasuras, caligrafias diferentes, utilização de canetas diferentes ou de lápis na prescrição são motivos para a não participação das receitas; se, por exemplo, a prescrição se encontrar rasurada, e para que se garanta a participação da receita por parte da entidade responsável, o médico prescriptor deverá rubricar exatamente ao lado dessa mesma rasura. (7)

6.1.1. Planos de Participação

Os medicamentos dispensados ao utente podem ser pagos na sua totalidade pelo mesmo (quando não participados) ou, no caso de serem participados, uma parte ser paga pelo utente e a restante parte ficar a cargo de um organismo financeiro, responsável por pagar a outra parte do valor, ou mesmo o valor total do medicamento, quando este é participado a 100%. No que toca aos MSRM, a sua maioria é participada, e, por esse motivo, encontram-se muitas vezes associados a regimes e planos de participação, que permitem que o utente não pague o medicamento na sua totalidade. Tal permite um melhor acesso do utente aos medicamentos, facilitando e permitindo a continuidade da sua farmacoterapia.

A maior parte das prescrições médicas apresentam como plano de participação o SNS. No entanto, existem outros regimes de participação distintos. Para determinadas patologias, como é o caso da Doença de Alzheimer, Doença Inflamatória Intestinal, Lúpus, Hemofilias, Hemoglobinopatias, Paramiloidose, entre outras, existem despachos específicos que alteram a participação dos medicamentos que são utilizados para o controlo destas mesmas doenças, sendo por isso incluídas em regimes de participação especiais. Também os trabalhadores da Caixa Geral de Depósitos, da EDP e os bancários apresentam subsistemas de participação específicos, além do SNS, designados por EDP Sãvida (para os trabalhadores da EDP) e Sindicato dos Bancários do Sul e Ilhas (SAMS). Nestes últimos casos, e também nos casos em que a entidade financeira responsável são seguradoras (Medis, Liberty

Seguros...), a prescrição médica original é enviada para o SNS, enquanto a fotocópia dessa mesma prescrição, juntamente com a fotocópia do cartão de beneficiário do utente, é assinada pelo mesmo e é enviada para o organismo/seguradora responsável, existindo, deste modo, um sistema de complementaridade na comparticipação dos medicamentos, já que o utente acaba por beneficiar de dois regimes de comparticipação distintos.

Um caso específico da zona centro, e bastante visível na região da Covilhã, são os lanifícios, um subsistema de comparticipação de medicamentos que abrange todos os utentes que, nalgum momento da sua vida, foram trabalhadores desta área.

Para que possam ser facilmente introduzidos no sistema informático, os planos de comparticipação estão associados a determinados números, que permitem a sua rápida identificação pelo *software* informático. Assim, os que se apresentam com maior frequência são os seguintes:

- Plano 01: organismo responsável pela comparticipação é o SNS (surge com mais frequência);
- Plano 48: associado aos pensionistas/reformados, sendo que, nestes casos específicos, a comparticipação por parte do SNS acaba por ser superior; nestes casos, deve constar a letra “R” na prescrição médica;
- Plano 45: apresenta-se como um caso particular do plano 01 (SNS), encontrando-se associado a determinadas patologias; nestes casos, deve constar na receita o despacho/portaria respetiva, bem como a menção à sigla “O”, que representa os utentes que são abrangidos por um regime especial de comparticipação em função de determinadas patologias;
- Plano 49: caso particular do plano 48, acompanhado da apresentação de um determinado despacho/portaria específico para uma dada patologia;
- Plano 46: associado aos emigrantes;
- Plano 67: caso particular de lúpus e hemofilias;
- Plano 99: aplica-se a todas as receitas que são inseridas de forma eletrónica, sem erros associados.

6.1.2 Vendas Suspensas

Habitualmente surgem na farmácia situações em que os utentes solicitam com urgência determinados MSRM, para os quais não apresentam uma prescrição médica no momento da venda. Para que o medicamento requisitado possa ser dispensado, aquilo que se preconiza é a designada venda suspensa. A mesma permite que um MSRM possa ser cedido ao utente em caso de

urgência, ainda que este não apresente uma prescrição médica que justifique essa dispensa. Assim que o utente tem na sua posse a receita médica respetiva, deve apresentá-la na farmácia com a maior brevidade possível, para que a sua situação possa ser regularizada.

No *software* informático disponível na farmácia, *Sifarma2000*, deve selecionar-se o separador “Suspensa”, introduzir o nome do utente ao qual ficará associada a venda suspensa e posteriormente identificar-se o MSRM que foi dispensado. É importante mencionar que este tipo de situações só deve ser realizado quando a farmácia tem acesso ao perfil farmacoterapêutico do utente em questão (normalmente isto acontece com os utentes habituais da farmácia), verificando-se sempre se o MSRM urgente pode ser dispensado, de acordo com o histórico que se encontra na ficha do utente. Normalmente, este tipo de situações decorre com medicamentos utilizados para o controlo de doenças crónicas (Diabetes Mellitus, Hipertensão Arterial, Colesterol elevado...), sendo que geralmente o farmacêutico tem conhecimento da existência dessas mesmas patologias.

6.1.2.1. Vendas Suspensas a Dinheiro

Quando é realizada uma venda suspensa a dinheiro, o utente paga na totalidade o MSRM que lhe foi dispensado e, após apresentar a prescrição médica respetiva e regularizar a sua venda suspensa, é-lhe devolvido o dinheiro referente à comparticipação desse mesmo medicamento.

6.1.2.2. Vendas Suspensas a Crédito

Para que este tipo de vendas suspensas seja realizado, é necessário que o utente em questão tenha um limite de crédito definido, em dias e em valor. Neste caso, o utente leva o MSRM solicitado sem pagar nada pelo mesmo (coloca-se o valor associado à venda suspensa na conta do utente) e, aquando da apresentação da receita médica na farmácia, com o objetivo de regularizar a situação, este terá apenas de pagar a parte do medicamento que não é comparticipada, pois o restante valor já se encontra pago pela entidade financeira responsável.

6.13. Dispensa de MSRM Especial

Segundo o Decreto-Lei que reflete o Estatuto do Medicamento (Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto), a receita médica especial consagra todos os medicamentos que, devido às suas propriedades farmacológicas, são passíveis de causar dependência e conseqüente abuso medicamentoso, bem como aqueles que possam ser utilizados para fins ilícitos e não terapêuticos. (5) Neste tipo de prescrição médica são também

incluídos os estupefacientes e psicotrópicos, por serem classes de fármacos cujas características se incluem nas supracitadas, conferindo deste modo um potencial risco para a saúde do utente. Assim, estas substâncias são alvo de um controlo bastante apertado por parte do INFARMED, com o objetivo de garantir a correta utilização destes medicamentos.

6.1.3.1. Estupefacientes e Psicotrópicos

Todos os medicamentos que contenham como substância ativa um estupefaciente ou um psicotrópico devem seguir as mesmas regras que os restantes medicamentos. No entanto, existem algumas diferenças, essencialmente no processo de dispensa e de prescrição.

No que toca à prescrição, estes medicamentos devem encontrar-se prescritos isoladamente na receita médica, não estando na mesma quaisquer outros medicamentos que não sejam estupefacientes ou psicotrópicos.

Relativamente à dispensa, esta deve seguir alguns critérios. Independentemente do tipo de prescrição que seja apresentada, aquando da dispensa destes medicamentos devem ser registados alguns elementos. Nestas situações, o *Sifarma2000* apresenta automaticamente uma janela, na qual devem ser preenchidos os seguintes dados:

- Identificação do doente a quem se destina o medicamento ou do seu representante (adquirente), através da colocação do nome, data de nascimento (só se pode dispensar este tipo de MSRM especial a utentes maiores de 18 anos), número e data do bilhete de identidade, carta de condução ou cartão de cidadão, ou, no caso de cidadãos estrangeiros, número do passaporte;
- Número da prescrição;
- Identificação da farmácia, através do seu nome e do número de conferência de faturas;
- Identificação do medicamento, número do registo e quantidade dispensada;
- Data da dispensa;

Se se tratarem de prescrições manuais ou materializadas, o utente ou o seu representante deverão assinar o verso da receita. Após a dispensa, é emitido um documento de dispensa de psicotrópicos, ao qual deve ser anexada a cópia da receita respetiva (se receita manual), devendo este conjunto ficar arquivado, num *dossier* específico e devidamente identificado, por um período de 3 anos. (7)

Mensalmente é enviado para o INFARMED, para efeitos de rastreabilidade, uma listagem de todas as dispensas de estupefacientes e psicotrópicos, acompanhado das digitalizações das receitas manuais, quando existem.

6.2. Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica Os MNSRM são todos aqueles que não apresentam condições que obriguem à apresentação de uma prescrição médica que valide a sua dispensa. De um modo geral, os MNSRM são aqueles que, em princípio, não constituem um risco (direto ou indireto) para a saúde do utente, caso sejam utilizados de forma correta, nas dosagens corretas e para os fins terapêuticos a que se destinam. Além disso, na categoria de MNSRM não se encontram incluídos quaisquer medicamentos cuja via de administração seja a via parentérica. (5) Na maioria das situações, e salvo algumas exceções previstas na legislação relativa à comparticipação dos medicamentos pelo Estado Português, este tipo de medicamentos não é comparticipável, tendo o utente de pagar o valor na sua totalidade (5). É importante referir que a cedência dos mesmos se encontra muito associada ao aconselhamento por parte de um profissional de saúde, sendo este frequentemente realizado pelo farmacêutico, através da solicitação pelo próprio utente, para efeitos de automedicação, ou ainda através de uma prescrição médica.

6.2.1. Automedicação

Como já foi anteriormente mencionado, a automedicação encontra-se muito associada aos MNSRM. A farmácia é um dos serviços que apresenta uma maior proximidade aos utentes, encontrando-se sempre disponível para a resolução de situações ligeiras e sem gravidade. Nestes casos, o utente normalmente dirige-se à farmácia com o intuito de solicitar um determinado MNSRM, ou para ser aconselhado por um farmacêutico, com vista à resolução do problema apresentado. Este aconselhamento nem sempre termina com a dispensa de um determinado produto, já que existem condições mais ligeiras que podem ser facilmente solucionadas recorrendo-se apenas a medidas não farmacológicas. De uma maneira geral, a automedicação consiste na instauração de uma terapia farmacológica por iniciativa própria do utente, podendo levar, por consequência, à utilização de MNSRM de forma responsável. Normalmente esta abordagem foca-se no alívio de queixas de saúde e de condições de menor gravidade, devendo ser acompanhada pelo aconselhamento opcional de um profissional de saúde. (4)(8) Este deve sempre orientar todo o processo, por forma a confirmar a necessidade ou não do MNSRM solicitado pelo utente e a adequação do mesmo face à situação em questão e ao próprio indivíduo para quem o medicamento se destina. Desta forma, assegura-se o uso racional do medicamento.

Algumas questões devem ser colocadas ao utente quando este refere uma determinada situação relacionada com a sua saúde, para que o aconselhamento posterior seja

realizado de uma forma mais eficaz. Deve perguntar-se ao doente quais são os sintomas que apresenta, a sua duração e se o seu início coincidiu com a toma de algum medicamento, e se já foi tomada alguma medida terapêutica para melhorar essa condição. É também importante que se faça referência às patologias concomitantes e à medicação habitual do utente, para que possam impedir-se eventuais interações fármaco-fármaco ou fármaco-patologia, e também às possíveis alergias que o indivíduo possa ter. No caso de o farmacêutico considerar que os sintomas mencionados podem estar associados a uma patologia de maior gravidade, deverá referenciar-se o utente para uma consulta médica. Pelo contrário, e sempre que haja necessidade para tal, o farmacêutico poderá selecionar um MNSRM que seja adequado ao utente, por forma a minimizar as suas queixas de saúde. Tal situação designa-se por cedência de medicamentos em indicação farmacêutica. (4) Após a dispensa do MNSRM, o farmacêutico deve disponibilizar todas as informações que sejam essenciais para a correta utilização do medicamento, tais como a posologia, a duração do tratamento, algumas medidas não farmacológicas que podem complementar a terapêutica, modo de administração, precauções a ter e possíveis efeitos adversos que podem decorrer da toma do medicamento.

O INFARMED disponibiliza uma listagem de todas as situações passíveis de automedicação (que devem apresentar um quadro sintomático ligeiro e de curta duração), uma prática crescente e cada vez mais frequente nos dias de hoje, já que o acesso à informação se encontra facilitado, principalmente via Internet. Independentemente da situação que é apresentada, deve sempre analisar-se de forma meticulosa a população com a qual se está a lidar, já que idosos, grávidas, mulheres a amamentar, crianças ou doentes crónicos, sendo populações especiais, requerem precauções adicionais neste âmbito. A lista supracitada é apresentada em seguida, tendo sido retirada toda a informação do Despacho n.º 17690/2007, de 23 de julho. (8)

Tabela 50. Condições passíveis de automedicação (8)

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

| | |
|---------------------|--|
| | - Inflamação moderada de origem músculo esquelética nomeadamente pós-traumática ou de origem reumática. |
| Geral | - Febre (menos de três dias); - Estados de astenia de causa identificada; - Prevenção de avitaminoses. |
| Ocular | - Hipossecreção conjuntival, irritação ocular de duração inferior a três dias; - Tratamento preventivo da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio; - Tratamento sintomático da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio. |
| Ginecológico | - Dismenorreia primária; - Contraceção de emergência; - Métodos contraceptivos de barreira e químicos; - Higiene vaginal; - Modificação dos termos de higiene vaginal por desinfeção vaginal; - Candidíase vaginal recorrente com diagnóstico médico prévio; - Situação clínica caracterizada por corrimento vaginal esbranquiçado, acompanhado de prurido vaginal e habitualmente com exarcebação pré-menstrual; - Terapêutica tópica nas alterações tróficas do trato génito-urinário inferior acompanhadas de queixas vaginais como dispareunia, secura e prurido. |
| Vascular | - Síndrome varicosa — terapêutica tópica adjuvante; - Tratamento sintomático por via oral da insuficiência venosa crónica (com descrição de sintomatologia). |

6.3. Aconselhamento e Dispensa de Outros Produtos de Saúde

O farmacêutico é, como se sabe, o especialista do medicamento de uso humano. No entanto, a sua área de conhecimento deve ser ampla, abrangendo outros produtos que são também disponibilizados na farmácia, e que têm tido uma procura crescente. Assim sendo, é importante que os profissionais de saúde se mantenham informados e atualizados neste contexto, cabendo ao farmacêutico aconselhar e fornecer todas as informações importantes relativas a produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene, produtos dietéticos para alimentação especial e infantil, produtos de fitoterapia, medicamentos de uso veterinário e dispositivos médicos. Cada um destes será abordado pormenorizadamente em seguida.

6.3.1. Produtos de Dermofarmácia, Cosmética e Higiene Corporal

Segundo a alínea p) do artigo 2º do Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro, alterada pelo Decreto-Lei n.º 113/2010, de 21 de Outubro, um produto cosmético (que engloba também os produtos de higiene corporal) designa-se como sendo “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”. (9)

A área da cosmética é uma área bastante diversificada, sendo necessário conhecer todas as gamas de produtos que são disponibilizadas na farmácia. Na Farmácia Pedroso encontram-se diferentes secções constituídas por diferentes produtos, consoante a zona anatómica pretendida.

Na secção de rosto encontram-se exclusivamente produtos para aplicação na face, com diferentes vertentes, dependendo daquilo que é solicitado. São apresentadas diversas marcas, onde se incluem, entre outras, a *Caudalie*, a *Bioderma*, a *Avène* e a *Uriage*. Neste contexto da pele do rosto é importante questionar o utente acerca do seu tipo de pele bem como acerca das suas necessidades (peles maduras ou peles mais jovens apresentam necessidades diferentes). Produtos de limpeza da pele, sérums, óleos, cremes de dia e de noite, protetores solares, bronzeadores e loções para uma aplicação pós-solar são alguns dos produtos que podem ser dispensados, devendo essa dispensa e aconselhamento estarem adequados ao utente e às suas preferências (cuidado anti- envelhecimento, hidratação, fotoproteção, firmeza, controlo da oleosidade...).

Relativamente à secção capilar, as marcas que mais ênfase apresentam são a *Ducray*, a *Klorane*, a *René Furterer* e a *Phyto*, que apresentam uma diversificação de produtos que abrangem diferentes tipos de cabelo e de condições capilares, como é o caso da caspa e da queda de cabelo.

No que toca à secção de corpo, existem diversos produtos, incluindo da marca *Holon*, direcionadas para a hidratação dos pés, mãos e restante corpo.

Encontra-se também diferenciada a zona da higiene oral, onde são apresentadas pastas dentífricas e colutórios diversificados, direcionados para diferentes condições e necessidades, como é o caso dos dentes sensíveis, branqueamento ou sangramento gengival aquando da escovagem. Também para os utentes que apresentam próteses dentárias, é-lhes apresentada uma gama específica, quer para fixação quer para lavagem das mesmas.

6.3.2 Produtos Dietéticos para Alimentação Especial

De acordo com a alínea b) do artigo 2º do Decreto-Lei n.º 216/2008 de 11 de novembro, um produto dietético, também designado de alimento dietético destinado a fins medicinais específicos, considera-se como sendo “uma categoria de géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial (...) com vista a satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes e para consumo sob supervisão médica, destinando-se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade limitada, diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar géneros

alimentícios correntes ou alguns dos nutrientes neles contidos ou seus metabólicos, ou cujo estado de saúde determina necessidades nutricionais particulares”. (10) De uma maneira geral, um produto dietético tem como finalidade a reposição de algum tipo de nutriente que, por algum motivo, se encontra ausente ou diminuído no organismo, tendo por objetivo atenuar essa carência.

Após uma observação mais aprofundada dos produtos presentes na Farmácia Pedroso, e que se enquadram nesta categoria, foi verificado que as necessidades e as especificidades de cada utente devem ser tidas em conta no momento da dispensa de um género alimentício deste tipo. Dentro deste grupo existem diferentes produtos, direcionados para diferentes situações e condições e com diferentes finalidades. Destacam-se assim os suplementos utilizados em doentes oncológicos, produtos para suplementação durante a preparação para colonoscopias ou para o favorecimento da cicatrização de lesões, produtos específicos para a população diabética, para os que são mais suscetíveis à aspiração de líquidos ou que sofrem de disfagia, e ainda produtos utilizados quando se verifica uma perda de peso, quer esta seja acentuada ou ligeira. Geralmente, os mesmos apresentam-se como bebidas líquidas ou farinhas instantâneas. Na Farmácia Pedroso, a marca mais associada a estes géneros alimentícios é a Nestlé, que inclui as gamas diferenciadas da *Resource* e da *Meritene*.

6.3.3 Puericultura

A puericultura define-se como sendo uma área da saúde que se destina essencialmente ao cuidado dos bebés e ao acompanhamento do desenvolvimento infantil.

Na Farmácia Pedroso, esta zona encontra-se numa secção exclusiva, designada por “Bebé e Mamã”, onde podem ser encontrados diversos produtos direcionados para esta população. Assim, apresentam-se nesta área fraldas (para diferentes idades e com diferentes tamanhos), chupetas, biberões, produtos que auxiliam a mãe no processo da amamentação, cremes para a muda da fralda, para o rosto e corpo, produtos para o banho e produtos dietéticos infantis, que serão abordados seguidamente em maior pormenor, devido à sua grande procura por parte dos utentes e também devido à sua imensa diversidade.

6.3.3.1. Produtos Dietéticos Infantis

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a alimentação exclusiva com leite materno em crianças dos 0 aos 6 meses de vida, devendo iniciar-se o processo da amamentação logo na primeira hora após o nascimento. Desta forma, o crescimento da criança é otimizado, bem como o seu desenvolvimento e saúde. Por outro lado, o leite materno protege os lactentes de doenças comuns na infância, como a diarreia ou a

pneumonia, já que o mesmo é constituído por diversos nutrientes e anticorpos que fortalecem o sistema imunitário da criança e promovem um desenvolvimento mais saudável, a curto e a longo prazo. Adicionalmente, além de proteger o bebé, a amamentação beneficia também a própria mãe, já que promove a diminuição do risco de cancro da mama e do ovário, diabetes tipo II e depressão pós-parto. (11)

No entanto, embora seja a opção mais adequada, a amamentação nem sempre é possível, quer seja por condições relacionadas com o lactente ou com a mulher, quer seja por opção da mesma em não o fazer. A OMS, juntamente com o Fundo das Nações Unidas para a Infância, UNICEF, desenvolveu uma lista de situações médicas aceitáveis para o uso de substitutos do leite materno, tendo a mesma sido atualizada em 2009. (12) Nestes casos, a única alternativa são as fórmulas infantis, que, embora sejam fabricadas com o objetivo de serem o mais semelhante possível com o leite materno, não contêm os anticorpos e outros fatores protetores que são fornecidos pelo ato de amamentar. De qualquer forma, este tipo de formulações são a opção mais adequada para a alimentação de bebés até aos 6 meses de vida. Adicionalmente a toda a informação anteriormente mencionada, é importante referir que existem fórmulas para lactentes que apresentem necessidades nutricionais específicas, incluindo-se neste âmbito as crianças que apresentam distúrbios metabólicos ou digestivos, ou cujo peso à nascença é baixo. Nestas situações particulares, é importante adequar o tipo de alimento à necessidade da criança, para que se possa colmatar o problema de forma mais eficaz. (13)

As fórmulas de transição, também disponíveis em farmácia comunitária, são aptas para crianças a partir dos 6 meses de idade que iniciam uma alimentação complementar, sendo as mesmas o componente líquido principal. A alimentação complementar é fundamental quando ocorre a transição de uma dieta líquida (com leite materno ou fórmulas infantis) para uma dieta onde os alimentos sólidos são introduzidos de forma faseada e gradual. (13)(14)

Na Farmácia Pedroso é apresentada uma ampla gama de produtos dietéticos infantis, para diferentes idades e necessidades. As marcas com maior destaque neste contexto são a *Aptamil*, a *Nestlé* (NAN) e a *Novalac*.

6.3.4 Fitoterapia

Entende-se por medicamento à base de plantas “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)

A fitoterapia, intimamente associada à definição anterior, tem tido bastante procura por parte da população, muitas vezes devido à errada crença de que, sendo à base de

substâncias naturais, não apresenta quaisquer efeitos adversos e, conseqüentemente, não é nociva para a saúde. No entanto, o farmacêutico assume aqui um papel importante, devendo aconselhar e informar o utente da possibilidade de ocorrerem reações adversas, caso sejam excedidas as quantidades de referência ou caso exista algum tipo de interação com outros medicamentos. É assim importante ter em conta a farmacoterapia do utente antes da dispensa de qualquer medicamento à base de plantas, bem como das necessidades do mesmo.

Geralmente, os produtos fitofarmacêuticos mais solicitados pelos utentes são aqueles que auxiliam no funcionamento do sistema digestivo (em especial na obstipação e no refluxo do ácido do estômago), os que induzem o sono e diminuem os despertares noturnos, permitindo um sono mais reparador, e também os que são utilizados para controlar a ansiedade e o *stress*.

6.3.5. Suplementos Alimentares

Contrariamente aos medicamentos de uso humano, os suplementos alimentares são regulados pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e apresentam-se como sendo géneros alimentícios, comercializados sob a forma doseada, e que têm como objetivo a complementação de uma alimentação normal, não devendo substituí-la. De forma a poderem ser diferenciados dos medicamentos, os suplementos nutricionais não devem conter ou alegar propriedades profiláticas ou curativas. (15)

Os suplementos alimentares que são requisitados com mais frequência pelos utentes destinam-se essencialmente à diminuição da fadiga e do cansaço, físico e mental, resultantes muitas vezes de uma alimentação pouco regrada, *stress*, ansiedade e do próprio processo natural de envelhecimento. Este tipo de produtos adiciona à dieta normalmente realizada um conjunto de nutrientes, como vitaminas, minerais, ácidos gordos e aminoácidos, contribuindo deste modo para um bem-estar geral, já que suprime uma determinada carência nutricional.

6.3.6. Medicamentos de Uso Veterinário

Além dos medicamentos para uso humano, existem também em farmácia comunitária medicamentos destinados a animais, embora que em menor diversidade e quantidade relativamente aos primeiros. Desta forma, é permitido o cuidado aos animais e à sua saúde, contribuindo-se assim para o seu bem-estar e para a proteção da saúde pública, na medida em que existe uma menor probabilidade de transmissão de doenças dos animais para os humanos.

Define-se medicamento de uso veterinário como sendo “toda a substância, ou associação de substâncias, apresentada como possuindo propriedades curativas ou

preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”. (16) Tal como acontece para os suplementos alimentares, também os medicamentos de uso veterinário são regulados pela DGAV. Na Farmácia Pedroso os medicamentos destinados a animais encontram-se armazenados numa gaveta diferente dos medicamentos para uso humano, estando a mesma devidamente identificada com a designação “VETERINÁRIA”. Adicionalmente, este tipo de medicamentos é também facilmente identificável através da inscrição da frase “USO VETERINÁRIO” sob um fundo verde. Alguns medicamentos de uso veterinário, como é os casos dos desparasitantes externos, encontram-se expostos na área de atendimento, sendo estes de venda livre e não sujeitos a receita médico-veterinária.

De uma maneira geral, a maior parte destes produtos destinam-se a serem aplicados em animais domésticos, como cães e gatos, sendo na sua maioria desparasitantes (internos e externos), pílulas anticoncepcionais, antibióticos e anti-inflamatórios. No aconselhamento e dispensa destes produtos, é fundamental ter-se em conta o peso do animal, bem como possíveis problemas de saúde que o mesmo possa ter, para que possa ser feito um ajuste da dose do medicamento. As marcas com maior ênfase são, sem dúvida, as relacionadas com os desparasitantes externos, destacando-se a *Frontline*®, *Advantix*® e *Advantage*®.

6.3.7. Medicamentos Homeopáticos

Segundo o Estatuto do Medicamento, um medicamento homeopático caracteriza-se como sendo um “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)

Embora não seja um método terapêutico muito utilizado, a homeopatia encontra-se cada vez mais integrada na medicina moderna, sendo uma alternativa à medicina tradicional. Baseia-se principalmente em dois princípios fundamentais: o da similitude e o da infinitesimalidade. O primeiro assenta na teoria de que o semelhante cura o semelhante, sendo que as substâncias utilizadas terão um mecanismo de ação semelhante à manifestação da doença. Já o segundo princípio apresenta esse nome devido ao facto de as substâncias utilizadas serem administradas em doses muito pequenas, sendo previamente diluídas, por forma a não serem tóxicas. (17)

A homeopatia, cujos medicamentos são preparados a partir de substâncias naturais, tem como objetivo estimular as defesas do organismo para que possa ser restabelecido o equilíbrio biológico, que se perde quando existe a manifestação dos sintomas de uma determinada doença. (17)

6.3.8. Dispositivos Médicos

Entende-se por dispositivo médico qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo cujo efeito principal não é alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, contrariamente aos medicamentos. A sua função, muitas vezes apoiada pelos meios anteriormente referidos, tem como finalidades:

- Diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento, atenuação ou compensação de uma determinada doença, lesão ou deficiência;
- Estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um determinado processo fisiológico;
- Controlo da conceção. (18)

Os dispositivos médicos são categorizados em classes I, IIa, IIb ou III, tendo em conta quatro fatores principais: a duração do contacto entre o dispositivo médico e o organismo humano, podendo ser este contacto temporário, a curto ou a longo prazo; a invasibilidade do corpo humano; a parte anatómica que é afetada pela utilização do instrumento; os riscos potenciais que decorrem da conceção técnica e do fabrico do produto. Assim sendo, os que pertencem à classe I são caracterizados como sendo dispositivos médicos de baixo risco, os de classe IIa e IIb definem-se como dispositivos médicos de médio risco, e, por fim, a classe III inclui todos os dispositivos médicos de alto risco. (19) De uma maneira geral, esta classificação encontra-se muito associada aos potenciais riscos da utilização destes instrumentos, bem como à vulnerabilidade e suscetibilidade do corpo humano aos mesmos. (18)

7. Relação Farmacêutico – Utente – Medicamento

A farmácia comunitária apresenta-se como sendo uma das áreas de maior acessibilidade por parte da população, sendo, por esse motivo, uma das principais portas de entrada no Sistema de Saúde. (4) Dada a proximidade que o farmacêutico apresenta relativamente ao utente, é com maior facilidade que se estabelecem relações de empatia e de conseqüente confiança entre ambos, o que permite ao profissional de saúde manter um acompanhamento e seguimento exímios relativamente a toda a farmacoterapia e histórico do utente. Desta forma, a atividade farmacêutica centra-se,

na sua totalidade, no doente, tal como é mencionado no Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. (20)

7.1. Atendimento ao Público

No exercer da atividade farmacêutica, a comunicação é um dos pontos principais, já que a transmissão de conhecimentos ao utente é fundamental para garantir o bom uso do medicamento e a sua utilização racional. É imprescindível, durante o aconselhamento e dispensa de medicamentos, fornecer toda a informação possível aos utentes, e isso implica esclarecê-los relativamente à sua farmacoterapia. Desde logo, é importante explicar ao utente qual a finalidade do medicamento, como deve ser tomado e durante quanto tempo, possíveis efeitos adversos e precauções adicionais a ter durante o tratamento. Para que o utente possa consultar esta informação, que é facultada no momento da dispensa do medicamento, tornam-se úteis as etiquetas de posologia, que retêm, por escrito, as informações que foram disponibilizadas verbalmente. No entanto, é muitas vezes necessário implementar outro tipo de estratégias de comunicação, que permitam a utentes analfabetos, por exemplo, reconhecer os seus medicamentos diários e habituais, bem como a posologia associada aos mesmos. Para isso, existem os chamados pictogramas, um sistema de linguagem universal visual que facilita a toma dos medicamentos àqueles que não sabem interpretar as etiquetas de posologia, sendo esta alternativa uma maneira de inclusão deste tipo de utentes, não se colocando em causa a correta toma da sua medicação. Desta forma, o bem-estar e a saúde do doente são salvaguardados.

Durante o meu estágio, o atendimento e o contacto com a população foram, sem dúvida, o mais desafiante. A linguagem utilizada deve ser sempre a mais acessível, adequando-se a mesma a cada utente e situação, de forma a garantir a transmissão da informação da forma mais correta. Para isso, deve ser evitada a utilização de palavras científicas ou de difícil perceção por parte do utente.

7.2. Farmacovigilância

Segundo as Boas Práticas para a Farmácia Comunitária, a farmacovigilância define-se como sendo uma “atividade de saúde pública que tem por objetivo a identificação, quantificação, avaliação e prevenção dos riscos associados ao uso dos medicamentos em comercialização, permitindo o seguimento dos possíveis efeitos adversos dos medicamentos”. (4) A mesma tem início no âmbito da farmácia comunitária, já que, sendo um local de grande proximidade com os utentes, é onde os mesmos se dirigem para poderem reportar alguns efeitos adversos que possam advir do uso da medicação. Após ser dada essa informação ao farmacêutico, o mesmo deverá identificar a reação

adversa em questão e posteriormente notificá-la ao INFARMED (acessando ao Portal de Notificação de Reações Adversas ao Medicamento), através do preenchimento de um formulário específico para o efeito. (4) Neste formulário, devem ser indicadas algumas informações que são cruciais: a reação adversa em questão; o medicamento suspeito de causar essa reação adversa; os dados do doente (iniciais, idade ou sexo; é importante referir que será garantida a confidencialidade); contacto do notificador da reação adversa ao medicamento, no caso de serem necessárias informações adicionais. As notificações das RAM, são importantes na medida em que tornam os medicamentos mais seguros e previnem a ocorrência de efeitos nocivos decorrentes da sua administração. Por outro lado, a saúde pública é protegida e promove-se o conhecimento relativamente aos fármacos, já que existe uma monitorização contínua dos mesmos e da sua segurança. (21)

Após receção e validação, a informação que é fornecida no formulário será avaliada por uma equipa de profissionais de saúde, especialistas em segurança dos medicamentos.

(22) Esta avaliação é inicialmente feita na Unidade Regional de Farmacovigilância (URF) correspondente à região onde foi feita a identificação da RAM, sendo que existem 7 URF disseminadas por todo o país, seguidamente pelo INFARMED, entidade nacional responsável pelo Sistema Nacional de Farmacovigilância, e por fim pela Agência Europeia do Medicamento. Todo este conjunto constitui o Sistema de Farmacovigilância.

Neste âmbito, é importante referir a existência da URF da Beira Interior, uma URF responsável pela receção de notificações de RAM na região da Beira Interior, dando resposta às unidades de saúde de 49 municípios pertencentes aos distritos de Guarda, Viseu e Castelo Branco. Esta encontra-se sediada na Faculdade de Ciências da Saúde, que integra a Universidade da Beira Interior, tendo surgido como uma escolha do INFARMED em descentralizar os centros de farmacovigilância existentes. (23)

7.3. Cartão das Farmácias *Holon* e Programa *FarmacoSmart*

As farmácias pertencentes ao grupo *Holon*, do qual é parte integrante a Farmácia Pedroso, apresentam um cartão de fidelização próprio, não sendo aderentes do Cartão Saúde, que se encontra associado às Farmácias Portuguesas. Este cartão encontra-se relacionado com o Programa *FarmacoSmart*, uma aplicação que permite acumular dinheiro no cartão do utente após este realizar um determinado pagamento na farmácia (inclui produtos de IVA a 6% e a 23%). Este valor acumulado e o restante que se encontra em cartão não apresentam um prazo de validade para ser gasto e encontra-se

sempre disponível, sendo apenas descontado quando o utente o solicitar e apenas em produtos de IVA 23%.

7.4. Programa VALORMED

A VALORMED - Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos, Lda.

– apresenta-se como sendo uma sociedade sem fins lucrativos, criada em 1999, cujo objetivo e responsabilidade passa pela gestão dos resíduos de embalagens vazias e de medicamentos fora de uso ou cujo prazo de validade já terminou, procedendo deste modo à sua reciclagem. Este sistema apresenta a colaboração de diferentes entidades, entre elas a indústria farmacêutica, os distribuidores e a farmácia comunitária, sendo a Farmácia Pedroso parte integrante deste conceito. Deste modo, procede-se à recolha, reciclagem e tratamento seguros destes resíduos de medicamentos, tendo em vista a preservação do ambiente e a proteção da saúde pública.

A farmácia comunitária apresenta aqui um papel fundamental, já que a VALORMED disponibiliza, nestes locais, contentores de recolha onde os utentes podem colocar toda a sua medicação fora de prazo ou inutilizada, bem como embalagens vazias da mesma ou outros materiais utilizados para o seu acondicionamento, com toda a comodidade e segurança. Após se encontrarem totalmente cheios, estes contentores são selados, rubricados pelo farmacêutico responsável pelo seu fecho e são entregues aos distribuidores de medicamentos, que se encarregam de os transportar para as instalações adequadas. Nessas instalações, os contentores são encaminhados para um Centro de Triagem, onde irá ocorrer uma separação e classificação dos resíduos, para que, no fim, possa existir o seu tratamento.

É importante que a população seja consciencializada acerca deste tema, já que o medicamento não deve ser considerado como um mero resíduo urbano, mas sim como um resíduo especial, que deve ser recolhido de forma seletiva e processado da forma mais adequada, em locais específicos para o efeito. Deste modo, o farmacêutico assume aqui um papel de extrema importância, na medida em que, tendo uma maior proximidade com a população, pode realizar formações na comunidade subjacentes a este tema, por forma a sensibilizar os utentes para a reciclagem dos seus medicamentos e a esclarecer possíveis dúvidas relativamente ao que pode ou não ser colocado nos contentores de recolha. Assim, contribui-se para a educação da população no que toca às boas práticas ambientais. (24)

8. Serviços *Holon* Prestados na Farmácia Pedroso

Atualmente, a farmácia comunitária não é vista como apenas um mero local de dispensa de medicamentos, já que são disponibilizados à população diversos serviços

que, muitas vezes, evitam a deslocação dos utentes a outras unidades de saúde e que respondem eficazmente às necessidades da comunidade. Para tal, é importante a existência de um local apropriado onde estes serviços possam ser efetuados, como gabinetes de atendimento personalizado, onde o utente se sinta mais confortável e menos exposto. Todas as farmácias pertencentes ao grupo *Holon* apresentam uma versatilidade de serviços de saúde, que serão de seguida enumerados e analisados em pormenor.

8.1. Consulta Farmacêutica

Este tipo de serviço, personalizado e especializado, direciona-se essencialmente para utentes que apresentem determinados problemas de saúde ou doenças crónicas, doentes polimedicados, ou utentes que tenham dúvidas relativamente à sua farmacoterapia e que necessitam de ser esclarecidos. Deste modo, nesta consulta farmacêutica são fornecidas indicações e informações importantes ao utente, no que toca à sua medicação e às suas comorbilidades, existindo uma maior probabilidade de o tratamento implementado ser feito da forma correta, garantindo-se assim o uso racional do medicamento e a diminuição da ocorrência de reações adversas, obtendo-se resultados que contribuem para a saúde e o bem-estar do utente. (25)

8.2. Serviço de Preparação Individualizada da Medicação

Este tipo de serviço auxilia e apoia os utentes na toma dos seus medicamentos, tornando esta tarefa muito mais simples. Após ser analisada toda a guia terapêutica do utente, são preparadas caixas, previamente identificadas com o nome do doente, onde se encontra a sua medicação organizada por horários e dias de toma, de forma a que seja tomado o medicamento certo à hora certa. Caso o utente tenha alguma dificuldade em interpretar este sistema, nessas mesmas caixas encontram-se pictogramas que indicam a correta toma da medicação. Desta forma, a adesão à terapêutica é otimizada e diminui-se a ocorrência de erros associados à toma dos medicamentos por parte dos utentes, sendo também melhorada a eficácia dos mesmos. (25)

8.3. Serviço de Administração de Vacinas

A administração de vacinas é um ato frequentemente realizado no âmbito da farmácia comunitária. Este serviço é direcionado para todas as pessoas que apresentem uma prescrição de uma vacina não incluída no Plano Nacional de Vacinação, sendo realizado por farmacêuticos com formação específica na área e que se encontrem certificados pela Ordem dos Farmacêuticos. (25)

Durante o meu estágio, tive oportunidade de assistir à administração de uma vacina antipneumocócica, *Pneumovax 23*. Dependendo da pessoa a quem se destina a vacina, deve adequar-se o tamanho da agulha, sendo que a de maior calibre é mais adequada para adultos. É importante tranquilizar a pessoa, para que a mesma se mantenha calma e relaxada. Outro aspeto importante é a utilização de luvas durante todo o procedimento e a desinfeção prévia do local onde será administrada a vacina, com algodão e álcool, devendo este processo ser realizado em círculos e sempre de dentro para fora. O tipo de vacina é de extrema importância para o ato da administração, já que se se tratar de uma injeção subcutânea, a mesma deverá ser administrada a 45°, enquanto que se se tratar de uma injeção intramuscular, a administração será feita a 90°. Após ser dada a vacina, é fundamental fornecer alguns conselhos ao utente. Desde logo, é importante avisar-se a pessoa de que não deve mexer ou esforçar o braço vacinado, e que, em caso de dores deve ser feito gelo e paracetamol, já que este é um analgésico e irá diminuir as dores associadas à administração da vacina. Pode aconselhar-se também a ingestão de açúcar, já que, após ser dada a vacina, houve um aumento da libertação de adrenalina no organismo, com consequente diminuição do cortisol e da glicémia.

8.4. Serviço *Check-Saúde*

O serviço *Check-Saúde* é um serviço fundamental na monitorização de pessoas que apresentem patologias já diagnosticadas ou então como uma forma de prevenção de doença e de complicações subjacentes. Neste tipo de serviço, é feita a determinação e avaliação de determinados parâmetros fisiológicos e bioquímicos, onde se incluem a pressão arterial, a glicemia e o colesterol, permitindo uma monitorização e acompanhamento contínuos do estado de saúde dos utentes. Recorre-se também a este serviço para avaliar o risco de desenvolvimento de determinadas patologias, tal como a diabetes e a doença pulmonar obstrutiva crónica, através do preenchimento de questionários específicos para esse efeito. De uma maneira geral, este procedimento permite avaliar o estado de saúde dos utentes, identificar pessoas que apresentem fatores de risco ou patologias ainda não diagnosticadas e, por fim, monitorizar a efetividade da terapêutica instituída. (25)

Durante o estágio, tive oportunidade de assistir a várias medições de colesterol total. Limpou-se o local com algodão e álcool, de modo a desinfetar a região onde se procedeu ao teste. Posteriormente picou-se essa zona e limpou-se a primeira gota de sangue com algodão sem álcool, para que fosse impedida a interferência deste composto no resultado final. O sangue do utente foi colocado num capilar, que, por sua vez, foi colocado numa cuvete. A mesma foi colocada no espetrofotómetro e foi feito o branco.

Posteriormente, colocaram-se 2-3 gotas de uma enzima específica para o colesterol total, que fraciona essa mesma molécula, permitindo a leitura da absorvância. Após ser obtido o resultado, o mesmo foi comunicado ao doente e foram fornecidas algumas indicações adicionais para que os valores se mantivessem dentro da gama normal.

8.5. Serviço de Nutrição

Este serviço destina-se essencialmente àqueles que pretendem obter um peso saudável, hábitos de vida e alimentares mais equilibrados, ou que necessitam de manter controladas diversas patologias crónicas nas quais a alimentação apresenta um papel fundamental, como é o caso da diabetes ou da hipertensão arterial, sendo fulcral uma monitorização e acompanhamento contínuos nestas situações. À disposição dos utentes encontra-se um profissional de saúde especializado na área, um nutricionista, que se disponibiliza para esclarecer quaisquer dúvidas que os utentes possam apresentar. Adicionalmente, o mesmo contribui também para a definição de um determinado objetivo pessoal, através da elaboração de um plano alimentar específico, que deve ser o mais adequado possível ao utente e que pode sofrer alterações ao longo do tempo, consoante os resultados que vão sendo obtidos. (25)

8.6. Serviço do Pé Diabético

Sabe-se que uma das principais complicações da Diabetes Mellitus, patologia crónica com grande impacto atualmente, é o desenvolvimento de úlceras e infeções nos pés, surgindo a chamada situação do pé diabético. Neste contexto, é de extrema importância a vigilância e monitorização frequentes dos membros inferiores, por forma a prevenir este tipo de condição.

Este serviço destina-se então a todas as pessoas que apresentem Diabetes Mellitus, do tipo 1 ou 2. É feita uma avaliação completa aos pés dos utentes, por um enfermeiro, permitindo, deste modo, verificar o grau de risco e efetuar o corte das unhas e a hidratação da pele. Além disso, no decorrer destas consultas, podem ser dados alguns conselhos aos utentes relativamente ao autocontrolo da patologia e aos cuidados que devem ser tidos com os pés. (25)

8.7. Serviço de Podologia

Para a realização deste serviço conta-se com a colaboração de profissionais de saúde especializados na área da Podologia. É realizada uma avaliação completa pelo Podologista, com vista a diagnosticar e tratar determinados problemas que possam existir (como fungos nas unhas dos pés, por exemplo), podendo, posteriormente, proceder-se ao aconselhamento de medidas preventivas e curativas. (25)

8.8. Serviço de Dermofarmácia

Nas Farmácias *Holon* são implementadas consultas de Dermofarmácia, efetuadas por um Farmacêutico especializado nesta área. Para que este serviço seja realizado com a maior qualidade e eficácia possíveis, é importante ter-se em conta as características da pele ou do couro cabeludo apresentados, de modo a que sejam aconselhados os produtos de cuidados diários mais adequados à condição em questão. Por outro lado, este tipo de serviço pode também ser solicitado quando os utentes apresentam a necessidade de controlar uma determinada situação cutânea ou capilar ou quando necessitam de um aconselhamento relativo a uma dada condição. (25)

8.9. Serviço de Reabilitação Auditiva

Ao longo do meu estágio, deparei-me com diversas situações nas quais os utentes apresentavam uma perda auditiva bastante acentuada, o que dificultou bastante todo o processo de comunicação associado ao atendimento.

Para fazer face a esta condição, tão atual e que tanto desconforto causa a quem a apresenta, as Farmácias *Holon* apresentam um serviço de reabilitação auditiva, que se destina a todas as pessoas que demonstrem dificuldades na audição. Este serviço é efetuado por um técnico audiológico, que, após realizar testes de rastreio específicos, procede à avaliação da perda auditiva, bem como à apresentação de soluções adaptadas que visam a correção do problema. (25)

8.10. Serviço de Aconselhamento ao Viajante

Este serviço destina-se essencialmente a pessoas que planeiam viajar futuramente para fora do país onde se encontram. Normalmente, estas consultas adquirem ainda uma maior importância quando os países de destino apresentam doenças típicas e endémicas. Após uma análise e avaliação detalhadas acerca da viagem a realizar, o Farmacêutico identifica riscos e formas de prevenção de doenças comuns da região, revê o estado de vacinação do utente, aconselhando e reforçando diversas medidas e cuidados que devem ser adotados, durante e após a viagem. Adicionalmente, é ainda recomendada a designada “farmácia de viagem”, que deve incluir medicamentos habituais, um kit de primeiros socorros e medicação para prevenir qualquer emergência que possa acontecer. (25)

8.11. Serviço de Cessação Tabágica

Tal como o nome indica, este tipo de serviço apresenta-se como uma possível solução para fumadores ativos que se encontrem motivados para deixar de fumar. É definido um programa, totalmente adaptado às necessidades e objetivos do utente, que começa

com uma consulta de avaliação inicial, na qual são criadas e definidas estratégias com o objetivo de facilitar todo o processo de desabitação tabágica. (25)

8.12. Serviço de Primeira Dispensa

O serviço de primeira dispensa, serviço de proximidade com os utentes, consiste no acompanhamento e seguimento personalizados, estando essencialmente destinado e direcionado a doentes crónicos, quando os mesmos iniciam a toma de um novo medicamento pela primeira vez. Este serviço farmacêutico apresenta como objetivos principais a possibilidade de o utente esclarecer determinadas dúvidas relativamente ao medicamento introduzido, ou mesmo no que toca à sua patologia. Este acompanhamento, que pode ser presencial ou através de chamada telefónica, é feito ao longo das primeiras quatro semanas após o início da toma do novo medicamento. Desta forma, a implementação deste serviço permite melhorar a adesão do doente à terapêutica, fazendo com que o mesmo se encontre envolvido em todas as decisões relativas à sua saúde, e possibilita a monitorização e prevenção de possíveis efeitos adversos. (25)

9. Programa de Troca de Seringas

O programa de troca de seringas, implementado em Portugal em 1993, apresenta-se como sendo um serviço social cujo objetivo principal é a prevenção e diminuição da transmissão de infeções pelo Vírus da Imunodeficiência Humana, VIH e pelos vírus das Hepatites B e C, associadas ao consumo de drogas injetáveis. Deste modo, assegura-se a distribuição de material devidamente esterilizado e procede-se à recolha e posterior destruição das seringas já utilizadas, contribuindo-se desta forma para a saúde pública e ambiental, já que se previne a reutilização ou o abandono de seringas previamente usadas. Embora estes *kits* sejam gratuitos, os utilizadores devem devolver as seringas previamente utilizadas para que possam receber um número igual de seringas esterilizadas. (26)

Cada *kit* é composto por dois preservativos, duas seringas, um filtro, dois toalhetes desinfetantes que contêm álcool a 70°, dois recipientes, que devem ser desinfetados antes de cada utilização, duas carteiras de ácido cítrico (que deve ser usado o menos possível, já que danifica as veias), uma ampola de água bidestilada e um folheto informativo. Todo este material não deve ser emprestado, sendo de uso exclusivo do utilizador. Por consequência, minimiza-se então o hábito de partilha de material de injeção, bem como a incidência e prevalência de doenças infecciosas em toxicodependentes.

Na Farmácia Pedroso este serviço encontra-se disponível, existindo também os contentores de resíduos, que são trocados quinzenalmente. Tudo o que concerne à troca destes recipientes é registado, sendo que, quando os mesmos são levados, o indivíduo responsável pelo seu transporte tem de assinar um documento, que é posteriormente digitalizado e arquivado.

10. Preparação de Medicamentos

Embora, na sua maioria, todos os medicamentos que se encontram na farmácia já estejam devidamente preparados e acondicionados na embalagem final, prontos a serem dispensados ao utente, podem ainda existir alguns medicamentos que necessitam de ser preparados pelo farmacêutico. Nestas exceções encontram-se os medicamentos manipulados e as preparações extemporâneas, que serão em seguida analisados em maior pormenor.

10.1. Medicamentos Manipulados

Segundo a Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho, documento que aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados (MM) em farmácia de oficina e hospitalar, considera-se como MM “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”. (27) Neste contexto, torna-se importante definir fórmula magistral e preparado oficial, já que são duas formas possíveis para a preparação de um manipulado.

Um preparado oficial define-se como sendo um medicamento cuja preparação segue determinadas indicações compendiais provenientes de um documento oficial, como uma Farmacopeia ou um Formulário. Já numa fórmula magistral, o manipulado é preparado tendo em conta uma receita médica que especifica o doente a quem o medicamento se destina, não seguindo, nestes casos, quaisquer documentos oficiais na sua preparação. Nesta última situação, é fundamental que o médico prescriptor tenha em conta todo o histórico clínico e farmacoterapêutico do doente, por forma a evitar possíveis interações, bem como certificar-se da segurança e eficácia da fórmula magistral em questão. Já o farmacêutico, na apresentação de uma prescrição médica que se destina à preparação de um manipulado, deve interpretá-la cuidadosamente. (27)

Para que seja garantida a qualidade, segurança e eficácia do MM, é importante que a sua preparação siga as Boas Práticas de Preparação de Medicamentos Manipulados. Na portaria supracitada, são estabelecidas normas relativamente a diferentes aspetos

subjacentes à preparação deste tipo de medicamentos, que devem ser cumpridos para que se obtenha um manipulado de qualidade, estando os mesmos relacionados com:

- Pessoal
- Instalações e equipamentos
- Documentação
- Matérias-primas
- Materiais de embalagem
- Manipulação
- Controlo de qualidade
- Rotulagem

Relativamente ao pessoal, a preparação de MM deve ser efetuada apenas pelo Farmacêutico Diretor Técnico ou sob a sua supervisão, sendo que estes profissionais devem ter formação e experiência neste âmbito. (27)

No que toca às instalações e equipamentos, a farmácia deve apresentar uma área de laboratório suficiente e adequada, que permita a realização das operações de preparação, acondicionamento, rotulagem e controlo do MM, sem que haja a possibilidade de contaminação durante todo o processo. Nesta área, devem também ser garantidas as condições de temperatura, humidade, iluminação e ventilação, por forma a facilitar toda a preparação do MM e a não comprometer a segurança do mesmo. Os equipamentos devem ser os mais adequados, devendo também ser facilmente limpos, desinfetados e, se necessário, esterilizados, para que se previna a ocorrência de contaminações cruzadas. No caso de se tratarem de aparelhos de medição, os mesmos devem ser controlados e calibrados periodicamente, com vista à obtenção de resultados rigorosos e fiáveis. (27)

A documentação associada a um determinado MM é de extrema importância, devendo ficar arquivada para consulta posterior, em caso de necessidade, durante um período mínimo de três anos. Todos os documentos subjacentes à preparação de um manipulado constituem-se como uma parte integrante do sistema de garantia de qualidade dos medicamentos preparados na farmácia de oficina. Os mesmos permitem que se estabeleçam procedimentos, gerais e específicos, bem como que se proceda ao registo de dados associados a todo o método de preparação, possibilitando, deste modo, uma reconstituição de tudo o que foi feito durante a preparação do medicamento. (27)

No que concerne às matérias-primas, as mesmas devem cumprir todas as exigências da monografia respetiva, devendo ser adquiridas a fornecedores autorizados pelo INFARMED, de modo a que se garanta a sua qualidade e segurança. Todas as matérias-primas devem ser acompanhadas de um boletim de análise (onde deve constar o

número do lote), que permita comprovar que as mesmas satisfazem o que foi referido anteriormente. Após rececionar estas substâncias, o farmacêutico deve conferir o boletim supracitado, bem como a correspondência da matéria-prima rececionada com a encomendada. Deve ser mencionado que as substâncias cuja utilização não é permitida na preparação de MM, se encontram listadas na Deliberação n.º 1985/2015, de 17 de setembro, podendo ser facilmente consultadas. Também as embalagens de acondicionamento das substâncias devem ser verificadas quanto à sua integridade e quanto à existência de um rótulo, indicativo de diferentes aspetos, entre eles o nome da matéria-prima e a indicação do fornecedor, o número do lote, as condições de conservação, precauções durante o manuseamento e o prazo de validade. É importante mencionar que, após serem recebidas, as matérias-primas não são de imediato utilizadas na preparação de MM, ficando em quarentena até à sua aceitação ou rejeição, tendo em conta todas as exigências associadas às mesmas. No caso de rejeição, as substâncias em questão devem ser destruídas ou devolvidas ao fornecedor. Por outro lado, se aceites, as matérias-primas deverão ser adequadamente armazenadas e rotuladas. (27)

Relativamente aos materiais de embalagem, os mesmos devem satisfazer as exigências da Farmacopeia Portuguesa ou Europeia, ou de outro documento prestigiado, devendo também ser acompanhados por um boletim, tal como as matérias-primas. No caso dos materiais das embalagens primárias, que contactam diretamente com o MM, deve garantir-se que não existe qualquer incompatibilidade entre ambos que possa interferir com a segurança e a qualidade do medicamento. (27)

No que toca ao processo de manipulação propriamente dito, e antes de o mesmo ser iniciado, deve garantir-se que a dosagem de substância ativa é a correta e que não existem quaisquer interações que coloquem a ação do MM e a segurança do utente em causa. É também importante verificar se toda a área de trabalho se encontra devidamente limpa e desinfetada, bem como todos os materiais que vão ser utilizados. Todas as matérias-primas devem estar presentes na bancada de trabalho, adequadamente rotuladas, devendo sempre verificar-se o prazo de validade. Quanto aos equipamentos, os mesmos deverão encontrar-se em bom estado de funcionamento e devidamente limpos. Aquando do acondicionamento do MM na embalagem primária, deve ser tido em conta as necessidades de conservação do próprio medicamento, especialmente no que se refere à proteção da luz e à estanquicidade. (27)

Para que se garanta a qualidade e, por consequência, a segurança do MM, é importante proceder-se ao controlo de qualidade do mesmo. Para tal, é fundamental que, no mínimo, sejam verificadas as características organoléticas, como a cor, o odor ou o aspeto. No entanto, podem ser realizados outros tipos de ensaios de verificação, não

destrutivos, que dependem da forma farmacêutica apresentada. Deve também ser feita a verificação do volume ou massa final a ser dispensada ao utente, que deve corresponder com o que foi prescrito. Todas estas verificações devem ser posteriormente registadas na ficha de preparação do MM respetivo. (27)

Por fim, após o acondicionamento do MM, deve proceder-se à rotulagem da embalagem final, que deve fornecer toda a informação possível ao utente. Para tal, devem encontrar-se os seguintes aspetos no rótulo: nome do doente (que só é disponibilizado caso se trate de uma fórmula magistral), fórmula do MM prescrita pelo médico, número do lote e prazo de utilização do medicamento, condições de conservação, instruções relativas à utilização correta do MM (“agitar antes de usar” ou “uso externo”, em fundo vermelho, por exemplo), via de administração, posologia e identificação da farmácia e do Diretor Técnico. (27) É importante referir que a instituição do prazo de validade do medicamento deve resultar da integração de três aspetos distintos: a validade físico-química, a validade microbiológica e a validade relativa às características organolépticas. Ao ser colocado no rótulo, este prazo de utilização deve ser registado após ser calculado a partir da data de preparação do medicamento. Tomando como exemplo a data de preparação de 05/03/2020 e, sabendo-se que o prazo de validade do medicamento são 14 dias, o que irá constar no rótulo, neste aspeto, será o dia 19/03/2020. Assim, é de melhor compreensão para o utente até quando poderá ser administrado, com segurança, o medicamento em questão. Adicionalmente a toda esta panóplia de informações, deve também apresentar-se no rótulo o preço do manipulado, cuja forma de cálculo será posteriormente explicitada.

Como mencionado anteriormente, a Farmácia Diamantino, também pertencente ao grupo *Holon*, é a farmácia responsável pela preparação dos MM das três farmácias do concelho da Covilhã, onde se encontra incluída a Farmácia Pedroso. Neste âmbito, durante o meu estágio curricular, desloquei-me à Farmácia Diamantino para proceder à preparação de dois manipulados distintos:

- Suspensão de propranolol a 5mg/mL, destinada a uma criança
- Solução de alcoólica de ácido bórico à saturação

Para cada um dos MM, deve existir uma ficha de preparação, que contenha toda a informação relativamente ao medicamento e à sua preparação, mas também relativamente às matérias-primas utilizadas.

É importante mencionar que, quando não se encontra disponível a ficha de um determinado manipulado no Formulário Galénico Português ou na Farmacopeia Portuguesa, deve enviar-se um *email* para CIMPI-ANF (Centro de Medicamentos

Manipulados), ao qual deve ser anexada a receita médica, para que se possam obter todas as informações relativamente ao MM.

De uma maneira geral, e antes de se proceder à preparação do MM, devem registar-se, na ficha de preparação do medicamento, algumas informações relativas às matérias-primas que serão utilizadas, tais como o lote, o prazo de validade, a origem e o preço de aquisição da mesma (sem IVA). Após se efetuarem todos os cálculos, deve também colocar-se a quantidade de matéria-prima necessária para a quantidade de MM prescrita. No que concerne ao material de embalagem e acondicionamento do medicamento, também as mesmas informações devem encontrar-se disponíveis. Relativamente ao MM, deve ser registado o número do lote, a data de preparação e o operador responsável pela sua manipulação, o nome do utente e o seu contacto, a identificação do médico prescritor, o nome do medicamento e a quantidade total do mesmo. Posteriormente, deve colocar-se toda a técnica de preparação do MM, que deve incluir, entre outras etapas, a reunião e verificação da limpeza de todo o material necessário à preparação do MM, a desinfecção (com álcool a 70%) da bancada de trabalho e do material, e, no final de todo o processo, o acondicionamento e a rotulagem do medicamento, bem como a lavagem e secagem de todo o material utilizado. Na ficha de preparação do MM devem também constar os ensaios de verificação do medicamento, que devem ser realizados antes do acondicionamento do mesmo. De acordo com a especificação do ensaio, relativa à forma farmacêutica em questão, o resultado pode ser conforme ou não conforme, sendo que, neste último caso, o produto não pode ser dispensado ao utente, já que não é assegurada a qualidade do medicamento. Por fim, é fulcral proceder-se à rotulagem do MM, já que é através do rótulo que o utente obtém informações importantes relativas à correta utilização do medicamento. Tudo o que deve constar no rótulo encontra-se mencionado anteriormente, referenciando-se novamente o preço do manipulado. Este é calculado tendo em conta três aspetos: valor dos honorários de manipulação, valor do material de embalagem utilizado e valor das matérias-primas utilizadas. (28)

Abordando este assunto de forma mais pormenorizada, o cálculo dos honorários de manipulação (que depende da forma farmacêutica do manipulado e da quantidade preparada) baseia-se num fator (F), que é atualizado anualmente e de forma automática. Segundo a Circular n.º 0017-2020, de 23 de janeiro de 2020, documento que procede à atualização do fator F para o cálculo do preço dos manipulados em 2020, o fator F apresenta o valor de 5,05€. (29) No que toca ao cálculo das matérias-primas, o mesmo é determinado pelo preço de aquisição das mesmas (sem IVA), multiplicado por um determinado fator, que tem em conta a maior das unidades em que foram utilizadas. Relativamente aos materiais de embalagem, é multiplicado o preço de

aquisição dos mesmos ao fator 1,2. Deste modo, o preço de venda ao público resulta da aplicação da seguinte fórmula (28):

$$(\text{Valor dos honorários} + \text{Valor das matérias-primas} + \text{Valor dos materiais de embalagem}) \times 1,3 \text{ (acrescido o valor do IVA à taxa em vigor)}$$

Em anexo, encontra-se a ficha de preparação de medicamentos manipulados, que engloba o cálculo do preço de venda ao público, as matérias-primas utilizadas e os materiais de embalagem, todas as etapas da preparação do medicamento, o resultado dos ensaios de verificação efetuados e o modelo de rótulo a colocar na embalagem de acondicionamento do MM.

10.1.1. Suspensão de Propranolol a 5mg/mL

Para contextualizar, este tipo de substância ativa, para a população a que se destina neste caso em específico (na receita médica encontra-se “Pediatría” na zona da especialidade), está muito associada a questões de hemangiomas infantis, que não são mais do que tumores endoteliais benignos, que apresentam um rápido crescimento nos primeiros anos de vida e que, nos anos seguintes, regridem espontaneamente. Embora tal aconteça na maioria dos casos, noutros pode existir a necessidade de ser introduzida uma terapêutica, sendo opções o propranolol oral, corticoides sistémicos, tópicos ou intralesionais, timolol tópico, terapia recorrendo a laser ou mesmo cirurgia. Comparativamente aos corticoides orais, o propranolol apresenta-se com uma maior eficácia, menor custo e com menor incidência de efeitos adversos, sendo uma opção bastante viável neste contexto. (30)

Assim, para a preparação deste MM em concreto, foi necessária a reunião e registo de informações diversas de diferentes matérias-primas:

- *Inderal* 40mg, comprimidos revestidos, cuja substância ativa é o propranolol
- Xarope comum
- Essência de banana
- Água purificada

Relativamente aos materiais de embalagem, o medicamento foi acondicionado num frasco de vidro escuro e rolhado, com a capacidade de 100mL, já que a quantidade total de MM preparado foi de 72mL. Apenas mencionar que o médico prescriptor não colocou na receita médica qual a forma farmacêutica pretendida nem a quantidade de MM a preparar, tendo sido estes aspetos decididos pelo Farmacêutico responsável pela manipulação (o médico prescriptor não tem a obrigação de colocar estas informações; este é apenas responsável pelo diagnóstico e pela instituição da terapêutica). Foram

então feitos os cálculos para determinar quais as quantidades de matérias-primas a pesar para a obtenção de 72mL do manipulado. Após a obtenção do MM na sua forma final, foram realizados, antes do respetivo acondicionamento, vários ensaios de verificação para fins de controlo da qualidade. Deste modo, foi feita a leitura do pH e foram verificadas as características organoléticas (cor, odor e aspeto) e a variação de massa (+/- 5%), através da comparação da quantidade prescrita com a quantidade final obtida do manipulado. Todas estas informações foram registadas na respetiva ficha de preparação.

10.1.2. Solução Alcoólica de Ácido Bórico à Saturação

A solução alcoólica de ácido bórico à saturação é frequentemente utilizada para aplicação auricular, devido às suas propriedades de desinfeção. Neste caso em particular, na receita médica prescrita, é exatamente para essa situação que o manipulado se destina, já que, na zona da posologia está indicado “aplicar 4 gotas à noite no ouvido direito durante 15 dias”.

Tal como para o MM anterior, foi também importante, neste caso, reunir todas as matérias-primas necessárias e retirar algumas informações acerca das mesmas. As substâncias essenciais para a preparação do manipulado foram:

- Ácido bórico
- Álcool a 70% (M/V)

No que concerne aos materiais de embalagem, o MM foi acondicionado num frasco de vidro âmbar tipo III com conta-gotas e rolhado, com a capacidade de 50mL. Toda a técnica de preparação foi registada na ficha de preparação do medicamento, possibilitando uma possível reconstituição de todo o processo, em caso de necessidade. Apenas mencionar que uma das etapas, a filtração, se revelou de extrema importância, já que se tratava de uma solução saturada, na qual poderiam existir alguns resíduos de ácido bórico que necessitavam de ser eliminados. Por esse mesmo motivo, e tendo em conta a capacidade da embalagem de acondicionamento (50mL), foram feitos, na totalidade, 60mL de medicamento, pois estaria já a contar-se com alguma perda de medicamento durante este processo de filtração da solução. Anteriormente ao acondicionamento e rotulagem, foram feitos ensaios de verificação das características organoléticas (cor e aspeto), bem como da variação de massa, estando todos estes aspetos conforme as especificações. Em anexo, encontra-se toda a documentação associada à preparação deste manipulado, bem como um exemplo do rótulo que foi colocado no medicamento. De salientar que foi colocada a indicação de “Uso externo” em fundo vermelho, para indicar ao utente que o MM não se destinava a ser administrado por via oral.

10.2. Preparações Extemporâneas

Muitos medicamentos não apresentam estabilidade suficiente, física e química, em meio aquoso, sendo apenas reconstituídos momentos antes de serem dispensados ao utente, para que se garanta a sua segurança e eficácia. A própria indústria farmacêutica fornece estas substâncias na forma de pó, sendo função do Farmacêutico reconstituir o medicamento com água esterilizada, na altura em que o mesmo é solicitado pelo utente. Durante o meu estágio curricular, tive oportunidade de assistir e proceder à reconstituição de um xarope constituído por um antibiótico (*Clamoxyl* 250mg/5mL – pó para suspensão oral). Inicialmente deve retirar-se todo o pó que se encontre adsorvido às paredes do frasco, colocando-se em seguida uma pequena quantidade de água esterilizada e agitando-se vigorosamente. Posteriormente, o frasco deve ser preenchido com água até à seta que vem marcada. É importante informar o utente de que, antes de tomar o xarope, deve agitá-lo muito bem. Caso não seja para toma imediata, o doente pode optar por ser ele próprio a reconstituir a preparação, devendo ser dadas todas as informações e explicações sobre como realizar este processo.

11. Contabilidade e Gestão

A área da gestão e da contabilidade é importante para qualquer empresa, e, portanto, a mesma desempenha um papel fundamental também na área da farmácia comunitária. Uma boa gestão e um conhecimento na área da economia permitem que uma farmácia apresente um lucro favorável ao seu crescimento enquanto empresa, permitindo que a mesma realize a sua imprescindível função no setor dos bens e serviços essenciais para a comunidade.

11.1. Processamento do Receituário e Faturação

Diariamente são recebidas em ambiente de farmácia comunitária inúmeras receitas, que, para que possam ser comparticipadas pela entidade financeira responsável (geralmente o SNS), devem ser validadas pelo farmacêutico. Esta validação passa pela observação da receita, por forma a garantir que na mesma constam todos os aspetos obrigatórios que permitem que a farmácia receba a comparticipação por parte do Estado Português.

Na presença de uma receita manual materializada, deve conferir-se se se encontra inscrito o número da receita, a identificação do médico prescriptor através da apresentação do seu código e a sua rubrica, o nome do utente e o seu número, a identificação dos medicamentos a dispensar (por DCI ou pela marca comercial), bem como a sua quantidade, a respetiva forma farmacêutica, posologia e duração do

tratamento. Numa receita manual deve estar também identificada a exceção que levou o médico prescritor a optar pela receita manual, ao invés da receita eletrónica. O local da prescrição é de preenchimento facultativo, podendo não se encontrar presente. É também importante, no que toca à quantidade dos medicamentos prescrita, verificar se a mesma se encontra dentro daquilo que é expectável para uma receita manual. Para este tipo de prescrições, só podem ser prescritos, no máximo, 4 medicamentos diferentes, sendo que, de cada medicamento, só podem prescrever-se no máximo 2 embalagens. No entanto, existe uma exceção para os medicamentos de dose unitária, já que, nestes casos, podem ser prescritas 4 embalagens do mesmo medicamento.

Após serem conferidos pelo farmacêutico todos estes pontos-chave e após a dispensa dos medicamentos ao utente, é impresso, no verso da receita, um conjunto de números constituído pelo número da receita, o lote e a respetiva série, bem como a identificação da farmácia, identificação dos medicamentos dispensados comparticipados, a sua quantidade, forma farmacêutica, dosagem e tamanho da embalagem, PVP, preço de referência, valor pago pelo utente e valor da comparticipação, data e código do operador responsável pela dispensa e a identificação do organismo responsável pela comparticipação. Tal permite que o processo de faturação seja facilitado, já que as receitas manuais são agrupadas por lotes e por planos de comparticipação. Cada lote de receitas só pode ter, no máximo, 30 receitas. Quando este valor é ultrapassado, cria-se um segundo lote. Quando um lote se encontra completo, é emitido o Verbete de Identificação do Lote, que é devidamente assinado e carimbado, ficando anexado ao conjunto das 30 receitas que constituem esse mesmo lote. Seguidamente à impressão no verso da receita, deve conferir-se se o número da receita se encontra igual na frente e no verso da mesma, bem como se o organismo responsável pela comparticipação é o correto, organizando-se depois as receitas nos respetivos lotes, por ordem numérica. Além de todas as informações supracitadas, o verso deve estar ainda assinado pelo farmacêutico e pelo utente, carimbado e com a respetiva data.

Mensalmente, no máximo até dia 10 de cada mês, o receituário previamente conferido, pelo menos 2 vezes por pessoas diferentes por forma a minimizar a ocorrência de erros nas receitas, deve ser enviado para o Centro de Controlo e Monitorização do SNS (CCM-SNS), para que as receitas sejam novamente conferidas e para que a farmácia receba a percentagem da comparticipação pelo organismo respetivo. Sempre que um determinado documento é identificado como devolvido, implica que o mesmo pode ser corrigido e refaturado. Nestas situações, a farmácia deverá proceder à emissão da nota de crédito respetiva ou nota de débito regularizadora, referente aos erros e diferenças identificados pelo CCM-SNS, até dia 10 do mês seguinte. Apenas mencionar que quando o organismo responsável pela comparticipação não é o SNS, o receituário

deverá ser enviado para a Associação Nacional de Farmácias, ANF, que, por sua vez, irá reencaminhar as receitas médicas para a entidade financeira correspondente, por forma a obter a participação devida.

Após o fecho dos lotes, é emitida a Relação Resumo de Lotes para cada entidade de participação. Esta documentação, juntamente com as receitas médicas, as faturas (em duplicado), as notas de débito/crédito (em duplicado) e os Verbetes de Identificação dos Lotes, devem ser enviados em formato papel para o CCM-SNS para efeitos de faturação. No caso de tal não se verificar ou se se verificar um desrespeito relativamente às normas aplicadas, será consequência a não aceitação ou a devolução à farmácia destes mesmos documentos acima mencionados, para que possam ser corrigidos. Após essa correção ter sido efetuada, as receitas médicas podem ser colocadas nos respetivos lotes do mês seguinte, para que possam ser novamente conferidas. (31)

12. COVID-19: O Novo Coronavírus

12.1. Origem

No mês de dezembro de 2019 foram identificados, na cidade de Wuhan, Província de Hubei, China, diversos casos de pneumonia causada pelo coronavírus 2, agente etiológico responsável pelo surgimento de uma síndrome respiratório aguda severo. Deste modo, o vírus passou a ser designado, em forma de abreviatura, como SARS-CoV-2, e a doença resultante da infeção por este microrganismo foi nomeada pela OMS como COVID-19, sigla que representa a doença do coronavírus 2019 (ano em que foi identificada). O SARS-CoV-2 foi inicialmente isolado e identificado em amostras de doentes que frequentaram o Mercado Grossista de Frutos do Mar de Huanan, onde se procedia à venda de animais vivos e selvagens. Foi então a partir deste local que ocorreu a disseminação pandémica desta doença, que provocou uma mudança radical em todo o mundo. (32)(33)(34)(35)(36)

12.2. Características Estruturais do SARS-CoV-2

A família *Coronaviridae*, onde se inclui o SARS-CoV-2, é constituída por microrganismos envelopados e de ácido ribonucleico, RNA, senso positivo. (34)(35) Existem quatro subgrupos principais de coronavírus, sendo os mesmos denominados de α , β , γ e δ . O SARS-CoV-2 pertence à subfamília β , onde também estão incluídos SARS-CoV (sigla para “Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus”) e MERS-CoV (abreviatura de “Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus”), dois vírus já anteriormente conhecidos. (33)(36)

Relativamente à sua estrutura, este vírus apresenta-se numa forma tipicamente esférica, podendo, no entanto, surgir com outros formatos (pleomórfico). (32)(35) O diâmetro situa-se entre os 120 e os 160 nm, integrando aquela que é a característica principal deste microrganismo: a proteína *Spike* tripla, ou apenas proteína S, que se projeta em forma de pétala. Esta estrutura é fundamental para o processo de infeção, uma vez que é a mesma que medeia a adesão do vírus e a fusão da sua membrana com o hospedeiro. (33) É também devido a estas projeções à superfície, semelhantes a espigões, que estes microrganismos são nomeados de coronavírus, já que, no microscópio eletrónico, as mesmas lhes conferem uma aparência de coroa. (35) Adicionalmente à proteína S, apresentam-se ainda outras proteínas virais importantes, como a fosfoproteína nucleocapsídea (N) e a glicoproteína membranar (M). (32)

12.3. Epidemiologia

12.3.1. Período de Incubação

O período de incubação define-se como sendo o período decorrente desde a infeção com o agente etiológico até ao surgimento dos primeiros sintomas. No caso específico do SARS-CoV-2, este período é de 2-14 dias. Durante todo este intervalo de tempo, pode existir infeção, mas não são ainda apresentadas quaisquer manifestações da doença. (32)(33)(36)

12.3.2. Fonte de Infeção

Pensa-se que os morcegos (hospedeiros naturais de uma variedade de coronavírus), tenham sido o reservatório inicial provável do SARS-CoV-2. Embora não exista uma certeza quanto aos hospedeiros intermediários, suspeita-se que os pangolins e as cobras possam ter transmitido a infeção dos morcegos para o ser humano. (33)(35) Atualmente, a infeção pode transmitir-se a partir de animais hospedeiros infetados ou indivíduos que se encontrem com a doença. Esta transmissão pode ocorrer mesmo que o portador do vírus esteja assintomático, existindo assim a possibilidade de contágio, com ou sem a apresentação de sintomas. Desta última forma, a transmissão é imprevisível e a fonte de contágio não consegue ser facilmente detetada. (33)(35)

12.3.3. Vias de Transmissão

O SARS-CoV-2 transmite-se através de gotículas respiratórias, produzidas durante o ato de tossir, espirrar ou até mesmo falar, sendo esta a forma predominante de contágio. Adicionalmente, a transmissão pode também ocorrer através do contacto com mãos ou fluídos corporais infetados (expetoração, saliva, fezes) ou com fômites, e ainda

através da inalação de aerossóis, gotículas infecciosas que ficam suspensas na atmosfera por um determinado período de tempo e que podem percorrer longas distâncias, transportadas pelas correntes de ar. Outras vias de transmissão potenciais incluem a transmissão fecal-oral e urinária, já que alguns estudos indicam que o SARS-CoV-2 apresenta a capacidade de sobrevivência no trato digestivo e na uretra. No entanto, tais suspeitas ainda não foram confirmadas. (32)(33)(35)(36) Existem ainda estudos que afirmam a possibilidade de transmissão através da superfície ocular. (34)

12.3.4. Grupos de Risco

A infecção por SARS-CoV-2 não apresenta qualquer predominância num determinado género ou idade. No entanto, existem populações que são mais suscetíveis, constituindo-se assim como grupos de risco. Incluem-se, neste âmbito, os idosos e todos os doentes que apresentem outro tipo de comorbilidades, como a hipertensão arterial, diabetes, infecção respiratória prévia, doença cardiovascular e doença oncológica. Tal acontece devido ao facto de existir uma maior fragilidade e debilidade associadas a estas pessoas, com menor capacidade de defesa por parte do sistema imunitário. Por outro lado, também os familiares de doentes com COVID-19 e os profissionais de saúde apresentam um risco acrescido de contraírem este vírus, já que se encontram num contacto mais frequente com os doentes infetados. (33)(35)

12.4. Patogénese da Doença

A infecção inicia-se com a entrada do SARS-CoV-2 na mucosa respiratória, através da ligação da proteína S do vírus ao seu recetor, enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2), presente nas células epiteliais alveolares. Posteriormente, e após a sua entrada nos alvéolos pulmonares, este agente etiológico inicia todo o processo infeccioso, com o conseqüente atingimento dos pneumócitos tipo II. Um dos aspetos fulcrais que contribuem para o desenvolvimento desta condição é, sem dúvida, a resposta do sistema imunitário face ao SARS-CoV-2, um potente indutor das citocinas inflamatórias. Assim, e de uma maneira geral, a infecção viral dos pneumócitos induz uma resposta inflamatória local, na qual ocorre a ativação de células imunitárias e a secreção e libertação de quimiocinas e citocinas inflamatórias, que, por sua vez, recrutam leucócitos circulantes. Nos casos mais graves de COVID-19, a cascata inflamatória resultante conduz à designada “tempestade de citocinas”, onde o nível sérico destas substâncias se encontra muito elevado. Tal resulta num dano e conseqüente falência de órgãos, sendo muitas vezes fatal. (33)(34)

12.5. Manifestações Clínicas

Os sintomas da COVID-19 apresentam-se de uma forma não uniforme, sendo variáveis em modo de apresentação e gravidade. Assim, os portadores da doença podem apresentar-se assintomáticos ou, no outro extremo, com dificuldade respiratória aguda e falência de múltiplos órgãos. As manifestações clínicas mais frequentes são a presença de febre, tosse (principalmente seca) e dificuldade respiratória, podendo também estar presentes dor de garganta ou garganta inflamada, cefaleias, cansaço, mialgia. Foram também relatados alguns casos de conjuntivite associada e também sintomas gastrointestinais, como diarreia e dor abdominal, nomeadamente em crianças e adolescentes. (33) Nas situações mais críticas, existe normalmente uma progressão destes sintomas, com conseqüente pneumonia, falha respiratória e morte. (32)(35)

12.6. Diagnóstico Laboratorial

Primeiramente, é importante mencionar que, como os sintomas são inespecíficos e comuns a diversas patologias do sistema respiratório, torna-se importante realizar um diagnóstico diferencial. Para tal, é fulcral ter-se conhecimento dos sintomas apresentados (caso existam), do histórico de viagens realizadas, e do contacto com pessoas suspeitas ou mesmo confirmadas para a COVID-19. (35)

Para o diagnóstico desta patologia existem diferentes opções, que se incluem ou nos testes serológicos ou nos testes moleculares específicos, sendo utilizadas, na sua maioria, amostras respiratórias (exsudado nasofaríngeo ou da garganta, expectoração, aspirados endotraqueais e lavagem broncoalveolar). No entanto, em determinadas situações, podem analisar-se também amostras sanguíneas ou fezes. No que toca aos testes serológicos, pode optar-se por detetar os anticorpos que estão associados à COVID-19, sendo esta deteção possível recorrendo-se à técnica de ELISA (acrónimo que provém do inglês “enzyme-linked immunosorbent assay”), que consiste num ensaio de imunoabsorção enzimática. Pelo contrário, ao invés dos anticorpos, podem também ser detetados os antígenos virais. Para tal, é importante o ensaio de imunofluorescência direta, onde são utilizados corantes que emitem fluorescência quando existe a ligação específica entre o antígeno e o anticorpo. Outra opção possível é identificar proteínas específicas do agente etiológico, através da sua separação relativamente às outras substâncias constituintes do vírus. Para isso, procede-se à técnica de *Western-Blot*, método de separação de proteínas muito utilizado neste contexto. Relativamente aos testes moleculares, os mais utilizados são RT-PCR (reação em cadeia da polimerase, em tempo real), que consiste na amplificação e identificação de uma determinada sequência de RNA do SARS-CoV-2, e a técnica de *Northern-Blot*, que permite a deteção de genes específicos do vírus. (32)(35)

12.7. Medidas de Prevenção

Dado que se trata de uma patologia altamente transmissível, para a qual ainda não existe qualquer tipo de tratamento ou cura aprovados, é importante que sejam implementadas medidas de prevenção. Desta forma, é fundamental que os casos suspeitos ou confirmados se encontrem isolados, já que são uma potencial fonte de infecção e de transmissão da doença. Por outro lado, nestas situações de isolamento, deve existir ventilação e entrada de luz solar nos locais de confinamento, já que auxiliam na destruição do vírus. (35) A utilização de máscaras cirúrgicas deve ser implementada, bem como a prática de boas condutas de higiene (tossir ou espirrar para um lenço de papel descartável ou, caso não seja possível, para o cotovelo) e a lavagem correta e frequente das mãos, com água e sabão ou utilizando uma solução de desinfecção de base alcoólica. Adicionalmente, devem ser desinfetadas com frequência todas as superfícies possíveis, evitando-se ou adiando-se as viagens não urgentes, bem como a ida a espaços lotados, devendo ser mantido o distanciamento social. (35)(36)

12.8. Tratamento

Até aos dias de hoje, não existe ainda qualquer tratamento aprovado e eficaz que promova a cura para a COVID-19. Assim, aquilo que tem sido implementado baseia-se apenas no alívio e diminuição dos sintomas da doença, tratando-se essencialmente de um tratamento sintomático e de suporte. Em doentes com hipoxia é indicado o fornecimento de oxigénio, sendo que, nos mais graves, pode mesmo existir a necessidade de ser feita ventilação mecânica ou ECMO, tratamento de suporte que consiste na oxigenação por uma membrana extracorporal, através de um pulmão artificial. Além disso, aos doentes que apresentem um prognóstico mais reservado e nos quais já seja evidente algum tipo de falência renal, pode realizar-se a terapia de substituição renal. Em caso de suspeita ou confirmação de co-infecções associadas à doença, podem ser administrados antibióticos ou antifúngicos. Alguns fármacos antivirais e anti-inflamatórios já foram utilizados, com base nos resultados obtidos noutros membros da família Coronaviridae (SARS e MERS), mas, até então, não existe a indicação de que sejam eficientes nesta patologia. (34)(35)

12.9. Medidas de Contingência Adotadas na Farmácia Pedroso

Após o início de toda a pandemia, e com a rápida disseminação da doença, tornou-se fundamental a implementação de medidas de contingência na farmácia, já que a mesma é um local público, sendo frequentado por diversas pessoas diariamente. Assim, foram colocados acrílicos nos balcões de atendimento, que permitiram a criação de uma barreira de separação entre o utente e o farmacêutico, garantindo-se deste modo o distanciamento social obrigatório. Por outro lado, todos os profissionais de saúde foram obrigados a utilizar viseira e máscara cirúrgica (a utilização de luvas ficou ao critério de cada um, já que as mesmas podem dar uma falsa sensação de segurança, levando a uma menor frequência de higienização das mãos). Outra medida implementada foi a reserva de um gabinete de atendimento personalizado, exclusivamente para o alojamento de casos suspeitos de COVID-19 (apresentação dos sintomas da doença, histórico de viagens, contacto com pessoas infetadas). Nestas situações, o caso suspeito deveria ser encaminhado de imediato para este gabinete, no qual seriam disponibilizadas uma máscara cirúrgica e uma solução para desinfeção das mãos. Posteriormente deveria ser feito o contacto para a linha SNS 24 e, se existisse indicação para isolamento, o mesmo deveria ser proporcionado da forma mais confortável possível (acesso a água e snacks, proximidade com uma casa de banho). O número de elementos a contactar com o utente deveria ser o mais limitado possível, devendo ser registadas todas as pessoas que entrassem neste local. Para além de tudo o que já foi acima mencionado, a Farmácia Pedroso optou por ter a porta principal fechada, sendo aberta apenas quando um dos colaboradores se encontrasse disponível para atender o utente e apenas se o mesmo se apresentasse com máscara. Desta forma, impediu-se a aglomeração de pessoas no interior da farmácia. A desinfeção dos acrílicos, dos balcões de atendimento, dos terminais de multibanco e do próprio dinheiro passou a ser uma constante, sendo sempre efetuada após cada atendimento e em determinadas horas previamente estipuladas. Também as consultas e os serviços de medição da tensão arterial e de outros parâmetros que implicassem o manuseamento de fluídos fisiológicos foram suspensos, já que tal implicaria um contacto de maior proximidade com o utente. No que toca aos horários de funcionamento da farmácia, os mesmos foram alterados, já que o horário normal seria das 8h às 20h, domingos e feriados e, devido à pandemia, o horário passou a ser das 9h às 19h, de segunda a sábado e sem feriados. Por fim, também na zona de encomendas foi estabelecido que todas as embalagens vindas do exterior deveriam ser desinfetadas antes de ser feita a sua receção.

12.10. Metodologias Iniciadas Devido à COVID-19

Com o objetivo de contribuir para a diminuição do contágio e transmissão da doença, e de garantir a mesma proximidade e apoio para com as pessoas, as farmácias pertencentes ao Grupo *Holon* adotaram metodologias que auxiliaram o utente em diversos aspetos, evitando muitas vezes que o mesmo se deslocasse à farmácia. Em seguida, estas medidas serão abordadas em maior pormenor.

12.10.1. Farmácia HolON – Serviços Online

12.10.1.1. Teleconsultas

Para que o utente não tenha de sair da sua zona de conforto e não se exponha a possíveis fontes de contágio, foi criada a possibilidade de algumas consultas serem realizadas por telefone. (37)

12.10.1.2. Click & Collect e Entregas ao Domicílio

No que toca à receção de encomendas, a mesma pode ser feita através de duas opções: *click & collect* ou entrega ao domicílio. Relativamente ao primeiro ponto, o mesmo traduz-se na recolha da medicação na farmácia, com menos filas de espera, já que a encomenda foi realizada previamente, via *online* ou telefone. Se, por outro lado, o utente não puder ou não quiser deslocar-se à farmácia, a encomenda é entregue diretamente no domicílio da pessoa. É importante referir que, no caso de se tratar de um utente que pertença a um determinado grupo de risco (polimedicados, com mais de 65 anos ou com várias comorbilidades associadas), esta mesma entrega é feita de forma gratuita. Garante-se assim o acesso do utente ao medicamento, de forma segura e rápida. (37)

12.10.2. Dispensa de Medicamentos Hospitalares em Farmácia Comunitária

No âmbito do COVID-19 foi possibilitada a dispensa de medicamentos hospitalares em farmácia comunitária, com o intuito de evitar a deslocação do utente aos serviços hospitalares e de garantir o seu acesso ao medicamento. (38)

12.10.3. Linha 1400

Esta foi uma solução apresentada pela ANF, que criou uma linha telefónica gratuita que permite a encomenda e posterior entrega ao domicílio de medicamentos e outros produtos de saúde e bem-estar. Através do número 1400, o utente pode ser informado quanto à disponibilidade dos produtos que

pretende numa determinada farmácia, pode escolher a farmácia a que quer recorrer e solicitar a entrega dos seus medicamentos em sua casa. Esta solução surgiu devido à implementação do estado de emergência, sendo principalmente recomendado a pessoas que, devido à sua condição de saúde ou à sua idade mais avançada, não devem deslocar-se até à farmácia. Deste modo, os pedidos de doentes crónicos, de idosos e de imunocomprometidos são priorizados em relação aos de utentes que não se incluem nestes grupos de risco. Esta dispensa de medicamentos ao domicílio é conseguida devido a uma parceria entre as diversas farmácias, as autarquias, as Instituições Particulares de Solidariedade Social, IPSS, e os Correios de Portugal, CTT. (39)(40)

13. Atividades Realizadas

Durante o estágio curricular em farmácia comunitária, tive a oportunidade de participar em duas formações: uma formação da *Bayer*, relativa aos produtos da gama da *Bepanthene*, e outra associada aos produtos da *Nestlé*. No primeiro caso, foi feita uma abordagem aos diferentes produtos da marca referida, tendo sido focados os aspetos mais importantes do *Bepanthene Baby*, *Bepanthene Pomada*, *Bepanthene Creme*, *Bepanthene Plus*, *Bepanthene Sensiderm* e *Bepanthene Eczema*. Relativamente à formação da *Nestlé*, foram abordados em maior pormenor as gamas *Resource* e *Meritene*, ambas associadas à nutrição clínica. No que concerne à *Resource*, esta gama está direcionada para ser aplicada no contexto de determinadas patologias. No caso da *Meritene*, e contrariamente à gama anterior, não se encontra associada a determinadas doenças, mas sim à manutenção da vitalidade. A realização destas formações é fundamental para que os profissionais de saúde se mantenham atualizados e possam transmitir a informação correta aos utentes, sempre tendo em vista o melhor aconselhamento.

Adicionalmente foi-me também permitida a participação num rastreio realizado pela Farmácia Pedroso. O mesmo decorreu com o objetivo de avaliar o risco de desenvolvimento de Diabetes tipo 2 nos 10 anos seguintes. Para tal, foi feita a medição de diferentes parâmetros, entre os quais a glicémia, a tensão arterial, o peso e a altura para posterior cálculo do Índice de Massa Corporal, IMC, e o perímetro abdominal. Esta atividade foi vantajosa para o meu estágio, já que me possibilitou desenvolver e melhorar capacidades de comunicação, bem como adquirir uma maior proximidade com o utente.

14. Exemplos de Casos Clínicos

- Caso Clínico 1

A utente X entrou na farmácia e solicitou a pílula do dia seguinte. Foram-lhe feitas diversas questões, com vista ao melhor aconselhamento possível. Foi questionado à pessoa há quanto tempo aconteceu a relação sexual, pois esta informação torna-se importante para a dispensa do medicamento certo, já que podem ser dadas diferentes pílulas do dia seguinte consoante a relação sexual desprotegida tenha sido há menos de 72h (*Postinor* – levonorgestrel) ou entre as 72 e as 120h (*EllaOne* – acetato de ulipristal). É também importante questionar se a utente já recorreu anteriormente a este método e em que fase do ciclo menstrual a mulher se encontra, para que possa ser avaliada a probabilidade de engravidar e a necessidade de contraceção de emergência. Após a dispensa do medicamento mais adequado, é fundamental aconselhar a utente relativamente a diferentes aspetos. Primeiramente devem ser comunicados os possíveis efeitos adversos que possam surgir, salientando as dores de cabeça, as tonturas, os enjoos, as náuseas e os vómitos, e possíveis sangramentos, devendo sempre ser sublinhado que a contraceção de emergência não deve ser utilizada como um método anticoncepcional de rotina, devido à elevada quantidade de hormonas associada. É imprescindível informar que, caso existam vómitos ou diarreia até 4h após a toma, deve ser novamente tomado outro comprimido, já que a absorção pode ter ficado comprometida. Também deve referir-se à utente que até ao fim do ciclo menstrual ou durante os próximos 7 dias após a toma da contraceção de emergência, deve ser utilizado um método barreira. Além disso, mesmo com a toma da pílula do dia seguinte, a toma da pílula anticoncepcional deve continuar a ser feita.

No caso de a relação sexual ter acontecido há mais de 5 dias, deve encaminhar-se a utente para o médico, já que nenhum tipo de contraceção de emergência será eficaz após este período de tempo.

- Caso Clínico 2

O utente Y dirigiu-se à farmácia com queixas de diarreia, tendo solicitado o *Imodium* (loperamida). Nesta situação, além de outras questões, devem ser feitas duas perguntas importantes, que podem pôr em causa a dispensa do medicamento solicitado pelo utente: existem outros sintomas além da diarreia, como febre ou vómitos? Há mais alguém que esteja com diarreia? No caso de a resposta a alguma destas perguntas ser afirmativa, o *Imodium* não deve ser dispensado, já que, podendo tratar-se de uma diarreia de origem infecciosa, a substância ativa do medicamento bloqueia o movimento do intestino, diminuindo desta forma a probabilidade de eliminação do agente

patológico e agravando consequentemente os sintomas. É também importante questionar acerca da alteração recente dos hábitos alimentares ou de medicação, da duração dos sintomas, viagens recentes, patologias concomitantes e medicação habitual. Torna-se necessária a reposição da flora intestinal, podendo aconselhar-se o *Atyflor*, o *Prolif* ou o *UL-250*, todos constituídos por probióticos, microrganismos vivos que auxiliam na proteção contra bactérias nocivas. Devem ser comunicadas ao utente algumas medidas não farmacológicas, entre elas beber muita água (1,5-2L por dia), por forma a repor a hidratação perdida com a diarreia (ou, se preferível, administrar uma solução de reidratação oral), optar por uma dieta pobre em gorduras e ingerir preferencialmente arroz, já que absorve a água, diminuindo a sua perda.

- Caso Clínico 3

O utente Z dirigiu-se à farmácia com o intuito de solicitar um xarope para a tosse. De imediato foi-lhe questionado acerca do tipo de tosse apresentado, se seca ou com expetoração. No caso em questão, a tosse apresentada consistia numa tosse produtiva. Devem colocar-se várias questões, nomeadamente sobre a duração da tosse, qual o aspeto da expetoração, se existem outros sintomas concomitantes, se o utente tem problemas de saúde ou alergias, e se o mesmo toma medicação de forma habitual. Após a resposta a estas perguntas, deve dispensar-se um xarope mucolítico (*Bisolvon*, *Mucosolvan*, ou outros que contenham substâncias ativas expetorantes, como bromexina, ambroxol, acetilcisteína ou carboximetilcisteína) que irá fluidificar as secreções e promover a libertação do muco acumulado, por desintegrar as ligações dissulfureto que o constituem. No caso de se tratar de um utente diabético, é importante selecionar xaropes que não contenham açúcar na sua constituição. Relativamente às indicações de administração do medicamento, deve ser indicada a toma do mesmo após as refeições, não devendo ser ingeridos quaisquer tipos de alimentos até 15-20 minutos depois, para que possa ser criada uma película protetora na zona da garganta. É também muito importante referir ao utente que a última toma do xarope deve ser feita antes de deitar, para que a sua ação possa ser exercida durante a noite. Devem ser comunicadas ao utente algumas medidas não farmacológicas que poderão contribuir para diminuir o desconforto associado, como beber muita água, que irá contribuir para hidratar a mucosa e fluidificar a expetoração, beber chás calmantes, já que os xaropes mucolíticos irão promover um maior reflexo da tosse como forma de expulsão da expetoração e elevar a cabeceira da cama, para que o muco seja mais facilmente expulso.

15. Conclusão

Após concluir o estágio curricular em farmácia comunitária, verifiquei que o mesmo se constituiu como uma importante ferramenta de consolidação de conhecimentos adquiridos ao longo de 5 anos, obtidos no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Não obstante, aprendi bastante durante todo este percurso realizado na Farmácia Pedroso e assimilei conhecimentos que serão imprescindíveis para o meu futuro profissional.

Infelizmente, a pandemia pelo novo coronavírus veio mudar a forma como o farmacêutico comunitário interage com os seus utentes, uma vez que a farmácia é um espaço de saúde e de comunicação, a todos os níveis, e as barreiras físicas impostas refletem-se na diminuição do contacto com os mesmos. No entanto, é nos momentos difíceis que o farmacêutico deve mostrar a sua versatilidade e procurar arranjar ferramentas alternativas que permitam a manutenção do contacto com a comunidade, especialmente com os utentes mais necessitados, tanto a nível de saúde como de afetos. Este estágio permitiu-me, assim, construir e aperfeiçoar determinadas características tão importantes na atividade farmacêutica, como a comunicação com os utentes, que levam à criação de relações de confiança e de proximidade com os mesmos, tornando-se fundamentais para o sucesso da prática farmacêutica.

16. Referências Bibliográficas

- (1) - Ordem dos Farmacêuticos. A Farmácia Comunitária. Acedido a 16 de março de 2020, em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
- (2) - Bonal J, Alerany C, Bassons T, Gascón P. (2002) Farmacia Clínica y Atención Farmacéutica. In: Falgas JB et al. Farmacia Hospitalaria: planificación, organización, gestión e funciones. 3. ed. [s.l.]: Sociedade Espanhola de Farmácia Hospitalar (SEFH).
- (3) - Decreto-Lei nº 307/2007, de 31 de agosto de 2007. Regime jurídico das farmácias de oficina. Diário da República.
- (4) - Ordem dos Farmacêuticos. Boas Práticas para a Farmácia Comunitária. 2009.
- (5) - Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto de 2006. Estatuto do Medicamento. Diário da República.
- (6) - INFARMED. Dispositivos médicos. Acedido a 25 de abril de 2020, em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos>
- (7) - INFARMED. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. 13 de fevereiro de 2014.
- (8) - Despacho n.º 17690/2007, de 23 de julho de 2007. Revoga o anexo ao despacho n.º 2245/2003, de 16 de janeiro de 2003 – lista das situações de automedicação. Diário da República.
- (9) - Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro de 2008. Estabelece o regime jurídico dos produtos cosméticos e de higiene corporal. Diário da República.
- (10) - Decreto-Lei n.º 216/2008 de 11 de novembro de 2008. Estabelece o regime específico aplicável a alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos. Diário da República.
- (11) - World Health Organization. 10 facts on breastfeeding. Acedido a 31 de maio de 2020, em: <https://www.who.int/features/factfiles/breastfeeding/en/>
- (12) - World Health Organization. (2009). Acceptable medical reasons for use of breast-milk substitutes.
- (13) - ANID. Fórmulas para lactentes e fórmulas de transição. Acedido a 31 de maio de 2020, em: <http://www.anid.pt/formulas-para-lactentes-e-formulas-de-transicao.html>

- (14) - ANID. Alimentação complementar para lactentes e crianças jovens. Acedido a 31 de maio de 2020, em: [_http://www.anid.pt/alimentacao-complementar-para-lactentes-e-criancas-jovens.html](http://www.anid.pt/alimentacao-complementar-para-lactentes-e-criancas-jovens.html)
- (15) - DGAV. Suplementos alimentares. Acedido a 3 de junho de 2020, em: <http://srvbamid.dgv.minagricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=5904430&cboui=5904430>
- (16) - Decreto-Lei n.º 148/2008 de 29 de julho de 2008. Estabelece o regime aplicável aos medicamentos de uso veterinário. Diário da República.
- (17) - Farmácias Portuguesas. O que é a Homeopatia? Acedido a 6 de junho de 2020, em: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/menu-principal/bem-estar/o-que-e-a-homeopatia.html>
- (18) - Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho de 2009. Estabelece as regras a que devem obedecer a investigação, o fabrico, a comercialização, a entrada em serviço, a vigilância e a publicidade dos dispositivos médicos e respetivos acessórios. Diário da República.
- (19) - INFARMED. Dispositivos médicos – classificação e fronteiras. Acedido a 6 de junho de 2020, em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivosmedicos/classificacao-e-fronteiras>
- (20) - Ordem dos Farmacêuticos. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.
- (21) - INFARMED. Farmacovigilância. Acedido a 7 de junho de 2020, em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia>
- (22) - INFARMED. Notificação de reações adversas/efeitos indesejáveis de medicamentos. Acedido a 6 de junho de 2020, em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/submissaoram>
- (23) - Universidade da Beira Interior, Faculdade de Ciências da Saúde. Unidade de Farmacovigilância. Acedido a 7 de junho de 2020, em: <https://www.ubi.pt/Sites/fcsaude/pt/Pagina/farmacovigilancia>
- (24) - VALORMED. Acedido a 7 de junho de 2020, em: <http://valormed.pt/intro/home>
- (25) - Farmácias *Holon*. Serviços *Holon*. Acedido a 7 de junho de 2020, em: <https://www.farmaciasholon.pt/servicos-holon>

- (26) - Serviço Nacional de Saúde. (2016). Programa de Troca de Seringas. Acedido a 10 de junho de 2020, em: <https://www.sns.gov.pt/noticias/2016/09/02/programa-de-troca-de-seringas/>
- (27) - Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho de 2004. Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. Diário da República.
- (28) - Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho de 2004. 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. Diário da República.
- (29) - ANF. Circular n.º 0017-2020 – Atualização do fator F para cálculo do preço dos manipulados em 2020.
- (30) - Carvalho S, Machado S, Selores M. (2016) Hemangioma infantil e propranolol oral – recomendações atuais.
- (31) - SPMS. (2020) Manual de Relacionamento das Farmácias com o Centro de Controlo e Monitorização do SNS.
- (32) - Kannan S, Shaik Syed Ali P, Sheeza A, Hemalatha K. (2020). COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) – recent trends.
- (33) - Shi Y, Wang G, Cai X, Deng J, Zheng L, Zhu H, Zheng M, Yang B, Chen Z. (2020). An overview of COVID-19.
- (34) - Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung C, Xia Z. (2020). Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID19).
- (35) - Singhal T. (2020). A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19).
- (36) - Zhai P, Ding Y, Wu X, Long J, Zhong Y, Li Y. (2020). The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19.
- (37) - Farmácias HolON. Acedido a 27 de junho de 2020, em: <https://servicoonline.farmaciasholon.pt/>
- (38) - Ordem dos Farmacêuticos. Saúde renova despacho para dispensa de medicamentos hospitalares. Acedido a 27 de junho de 2020, em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/saude-renova-despacho-para-dispensa-de-medicamentos-hospitalares/>
- (39) - Revista Saúde. ANF cria linha gratuita para encomenda de medicamentos. Acedido a 27 de junho de 2020, em: <https://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/ANF-cria-linha-gratuita-para-encomenda-de-medicamentos.aspx>

(40) - Farmácias Portuguesas. A sua Farmácia, ainda mais perto de si.

Acedido a 27 de junho de 2020, em
<https://www.farmaciasportuguesas.pt/noticias-homepage/a-sua-farmacia-ainda-mais-perto-de-si.html>

Anexos

Anexo 1: Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Ficha de Preparação

Medicamento: _____

Teor em substância(s) activa(s): 100 g (ml ou unidades) contém _____ g (ml) de _____

Forma farmacéutica: _____ Data de preparação: _____

Número do lote: _____ Quantidade a preparar: _____

| Matéria-prima | Nº do lote | Origem | Farmacopéia | Quantidade por 100 g (ou ml, ou unidades) | Quantidade calculada | Quantidade pesada | Rubrica do Operador e data | Rubrica do Superior e data |
|---------------|------------|--------|-------------|---|----------------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

Preparação Rubrica do operador

| | |
|----|--|
| 1. | |
| 2. | |
| 3. | |
| 4. | |
| 5. | |
| 6. | |

| | |
|-----------------------------|------|
| Rubrica do Director Técnico | Data |
|-----------------------------|------|

| Enxuto | Especificação | Resultado | Rubrica do Operador |
|--------|---------------|-----------|---------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Aprovado Rejeitado

Supervisor: _____

Nome e morada do doente: _____

Nome do prescriptor: _____

Anotações: _____

| | |
|-----------------------------|------|
| Rubrica do Director Técnico | Data |
|-----------------------------|------|

| | |
|-----|--|
| 7. | |
| 8. | |
| 9. | |
| 10. | |
| 11. | |
| 12. | |
| 13. | |
| 14. | |
| 15. | |
| 16. | |

Aparelhação usada: _____

Embalagem

Tipo de embalagem _____

Capacidade do recipiente _____

| Material de embalagem | Nº do lote | Origem |
|-----------------------|------------|--------|
| | | |
| | | |
| | | |

Operador: _____

| | |
|-----------------------------|------|
| Rubrica do Director Técnico | Data |
|-----------------------------|------|

Prazo de utilização e condições de conservação

Condições de conservação: _____

Operador: _____

Prazo de utilização: _____

Operador: _____

Rótulo

- Proceder à elaboração do rótulo de acordo com o modelo descrito em seguida.
- Anexar a esta ficha de preparação uma cópia, rubricada e datada, do rótulo da embalagem dispensada.

Modelo de rótulo

| | |
|---|---|
| Identificação da Farmácia Identificação do Director-Técnico Endereço e telefone da Farmácia | Identificação do Médico prescriptor Identificação do Doente |
| DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO | |
| Teor em substância(s) activa(s) Quantidade dispensada Prazo de validade e condições primar cujo cumprimento seja eventual/eliminar necessório para a utilização Forma de administração Via de administração Efeitos secundários (em função normal) | Data de preparação Prazo de utilização Condições de conservação Nº do lote Manter fora do alcance das crianças Advertências (precauções de manuseamento, etc.) |

Operador: _____

Verificação

| Enxuto | Especificação | Resultado | Rubrica do Operador |
|--------|---------------|-----------|---------------------|
| | | | |
| | | | |

| | |
|-----------------------------|------|
| Rubrica do Director Técnico | Data |
|-----------------------------|------|

