

Avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais de erva-príncipe combinado com clotrimazol no combate à candidíase vaginal

**Experiência Profissionalizante na Vertente de
Investigação, Farmácia Hospitalar e Farmácia
Comunitária**

Daniela Marques Almeida

Versão final após defesa
Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutora Joana Rita Gonçalves Rolo Mateus
Coorientador: Prof. Doutora Ana Cristina Palmeira Oliveira

janeiro de 2025

Folha em branco

Declaração de Integridade

Eu, Daniela Marques Almeida, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 43263 do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 04/01 /2025

Daniela Marques Almeida

Folha em branco

Dedicatória

À minha família presente nesta etapa e, especialmente, a quem já não a conseguiu presenciar, avô.

Folha em branco

Agradecimentos

Agradeço à Professora Doutora Joana Rolo por ter aceitado orientar esta minha etapa final do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Por toda a disponibilidade, dedicação, ajuda e motivação. Por ter confiado em mim para embarcar nesta investigação.

À Dra. Susana Carvalho que foi incansável desde o meu primeiro momento no Hospital São Teotónio em Viseu. Por me passar bons valores da profissão farmacêutica e, sobretudo, para além de supervisora de estágio, por ter sido amiga e sempre me fazer sentir confortável durante todo o meu percurso pelo Hospital.

À Doutora Anabela Fonseca que, a par com a Dra. Susana Carvalho, me orientou durante todo o estágio hospitalar. Pelas partilhas, pelos bons momentos, pelas aprendizagens. Agradeço a toda a equipa dos Serviços Farmacêuticos por me acolherem durante dois meses e por terem sempre uma resposta completa para as minhas dúvidas, que não eram poucas.

Agradeço à Dra. Cláudia Carvalho, a Diretora Técnica da Farmácia Grão Vasco, em Viseu, por todos os ensinamentos, por toda a disponibilidade, por todo o carinho. Por fazer questão que eu estagiasses durante diferentes períodos do dia, para ter a experiência completa do que é o serviço em Farmácia Comunitária.

À Dra. Inês Cruz, por ter aceitado o meu estágio na Farmácia Grão Vasco e por me permitir ter três meses repletos de conhecimentos e aprendizagens.

A toda a equipa da Farmácia Grão Vasco por partilharem comigo longas horas de muito trabalho, mas também bastantes momentos de partilha e alegria.

Mãe, pai, obrigada. Obrigada por me proporcionarem estes cinco anos inesquecíveis, permitindo-me construir o futuro que ambicionava. Por acreditarem em mim. Por nunca me cobrarem os fins de semana a fio que tinha de ficar pela Covilhã. Mana, avós, obrigada. Obrigada por encherem os olhos de orgulho em cada etapa que conquistava. Por me receberem calorosamente nos fins de semana que regressava a casa.

Ao André, o meu companheiro, que todos os dias me fazia acreditar que tudo isto era possível. Mesmo longe, sentia-te sempre presente. O meu maior suporte durante os momentos difíceis.

E por último, às amigas que a faculdade me deu. Por trazerem à Covilhã um bocadinho de casa, por serem realmente família, quando os meus estavam a quilómetros de distância. Por partilharem comigo momentos irrepetíveis e por terem feito desta caminhada bem mais fácil e a mais bonita.

Folha em branco

Resumo

O presente relatório foi escrito no âmbito da Unidade Curricular “Estágio”, com lugar no último ano letivo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Universidade da Beira Interior (UBI). O relatório é composto por três capítulos distintos, sendo eles referentes à investigação conduzida no Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (CICS-UBI), à experiência profissionalizante na vertente de Farmácia Comunitária e à experiência profissionalizante na vertente de Farmácia Hospitalar.

O primeiro capítulo é referente à investigação laboratorial conduzida no CICS-UBI, denominada de “Avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais de erva-príncipe combinada com clotrimazol no combate à candidíase vaginal”. Foram realizados vários ensaios para determinar o índice de Concentração Inibitória Fracionada (FIC) dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon winterianus* e *Cymbopogon flexuosus* em associação com o clotrimazol, segundo o método de diluições seriadas, na inibição do crescimento de *Candida albicans*. Com a combinação do clotrimazol com o óleo essencial (OE) de *Cymbopogon flexuosus* obtiveram-se resultados próximos da sinergia. Posteriormente, avaliou-se o impacto na formação de biofilmes da mesma espécie, comparando o comportamento dos ativos em combinação e isoladamente, onde as concentrações 0,0624 µg/mL de clotrimazol e a 0,0313% (V/V) de OE, a combinação (mix) revelou-se maioritariamente mais eficaz no combate à formação de biofilmes, representando uma estratégia eficaz para superar as resistências aos antifúngicos. No entanto, às concentrações dez vezes superiores dos ativos os resultados foram menos promissores.

O segundo capítulo descreve a experiência profissionalizante em Farmácia Hospitalar, concretamente no Hospital São Teotónio do Centro Hospitalar Tondela-Viseu (CHTV). O estágio ocorreu de 4 de março de 2024 a 26 de abril de 2024. Neste relatório estão descritas as atividades abordadas durante 2 meses de estágio, onde tive oportunidade de passar por todos os setores dos Serviços Farmacêuticos do CHTV, desde a receção e armazenamento à dispensa de medicação. O percurso pelo hospital foi fundamental para o meu desenvolvimento enquanto Farmacêutica, onde complementei todos os conhecimentos adquiridos ao longo do curso na vertente hospitalar.

O terceiro capítulo descreve a experiência profissionalizante em Farmácia Comunitária, concretamente na Farmácia Grão Vasco, em Viseu. O estágio ocorreu de 29 de abril de 2024 a 19 de julho de 2024. No presente relatório está descrito o meu percurso pela vertente de Farmácia Comunitária, com relato de algumas situações reais de dispensa ao público. Tive oportunidade de acompanhar todos os setores da Farmácia Comunitária e rematar este percurso académico com uma visão holística do que é ser Farmacêutica.

Palavras-chave

Biofilme; *Candida albicans*; Candidíase vaginal; *Cymbopogon flexuosus*; Clotrimazol; Farmácia Comunitária; Farmácia Hospitalar; Óleo essencial;

Folha em branco

Abstract

This report was written as part of the "Internship" course unit during the final academic year of the Integrated Master's in Pharmaceutical Sciences (MICF) at the University of Beira Interior (UBI). It is composed of three distinct chapters, which address the research conducted at the Health Sciences Research Center of the University of Beira Interior (CICS-UBI), professional experience in Community Pharmacy, and professional experience in Hospital Pharmacy.

The first chapter focuses on laboratory research conducted at CICS-UBI under the title "Evaluation of the antifungal activity of lemongrass essential oils combined with clotrimazole in combating vaginal candidiasis." Several assays were carried out to determine the Fractional Inhibitory Concentration Index (FIC) of the essential oils of *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon winterianus* and *Cymbopogon flexuosus* in combination with clotrimazole, using the serial dilution method, in the inhibition of *Candida albicans* growth. The combination of clotrimazole with the essential oil (EO) of *Cymbopogon flexuosus* yielded results close to synergy. Subsequently, the impact on biofilm formation of the same species was evaluated, comparing the behavior of the agents in combination and individually. At concentrations of 0.0624 µg/mL of clotrimazole and 0.0313% (V/V) of EO, the combination proved to be more effective in combating biofilm formation, representing an effective strategy to overcome antifungal resistance. However, at tenfold higher concentrations of the active ingredients, the results were less promising.

The second chapter describes the professional experience gained during an internship in Hospital Pharmacy at São Teotónio Hospital of the Tondela-Viseu Hospital Center (CHTV). The internship took place from March 4, 2024, to April 26, 2024. This chapter outlines the activities undertaken during the two-month internship, where I had the opportunity to work in all sectors of the CHTV's Pharmaceutical Services, from medication reception and storage to dispensing. This hospital experience was fundamental in my development as a pharmacist, complementing the knowledge acquired throughout the course with a focus on the hospital setting.

The third chapter details the professional experience gained during the internship in Community Pharmacy at Grão Vasco Pharmacy in Viseu. This internship took place from April 29, 2024, to July 19, 2024. This chapter describes my journey in Community Pharmacy, including real-life situations of dispensing medication to the public. I had the

opportunity to work in all sectors of Community Pharmacy, concluding my academic path with a holistic understanding of what it means to be a pharmacist.

Keywords

Biofilm; *Candida albicans*; Vaginal candidiasis; *Cymbopogon flexuosus*; Clotrimazole; Community Pharmacy; Hospital Pharmacy; Essential oil

Folha em branco

Índice

| | |
|--|----|
| Capítulo I - Avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais de erva-príncipe combinada com clotrimazol | 1 |
| 1 Introdução | 1 |
| 1.1 Candidíase vaginal | 1 |
| 1.1.1 Fatores de Risco..... | 1 |
| 1.1.2 Sinais e Sintomas..... | 2 |
| 1.1.3 Tratamento | 2 |
| 1.1.4 Medidas comportamentais | 2 |
| 1.2 <i>Candida albicans</i> | 2 |
| 1.2.1 Biofilme de <i>C. albicans</i> | 3 |
| 1.2.2 Diagnóstico Laboratorial..... | 4 |
| 1.3 Clotrimazol | 5 |
| 1.3.1 Mecanismo de Ação..... | 5 |
| 1.3.2 Fatores de Resistência..... | 6 |
| 1.3.3 Farmacocinética..... | 7 |
| 1.3.4 Posologia | 7 |
| 1.4 Óleos Essenciais | 7 |
| 1.4.1 Óleo Essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> | 7 |
| 1.4.2 Óleo Essencial de <i>Cymbopogon winterianus</i> | 8 |
| 1.4.3 Óleo Essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i> | 8 |
| 2 Objetivos | 9 |
| 3 Materiais e Métodos..... | 10 |
| 3.1 Ferramentas utilizadas | 10 |
| 3.2 Reagentes..... | 10 |
| 3.3 Materiais de Laboratório | 10 |
| 3.4 Equipamentos | 11 |
| 3.5 Estirpe..... | 11 |
| 3.6 Determinação da MIC (Concentração Mínima Inibitória) | 11 |
| 3.7 Impacto na formação de biofilmes..... | 14 |
| 3.8 Tratamento de Resultados..... | 16 |
| 3.8.1 Determinação da MIC | 16 |
| 3.8.2 Impacto na formação de biofilmes | 16 |
| 4 Resultados e Discussão | 17 |
| 4.1 Determinação da MIC..... | 17 |

| | | |
|---|--|----|
| 4.2 | Impacto na formação de biofilmes..... | 22 |
| 4.2.1 | Comparação dos ensaios com diferentes concentrações..... | 27 |
| 5 | Conclusão..... | 29 |
| Capítulo II – Experiência profissionalizante na vertente de Farmácia Hospitalar | | 30 |
| 1 | Introdução | 30 |
| 2 | Planificação dos Serviços Farmacêuticos..... | 31 |
| 2.1 | Localização dos Serviços Farmacêuticos | 31 |
| 2.2 | Recursos Humanos | 31 |
| 2.3 | Sistema Informático..... | 31 |
| 3 | Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos | 32 |
| 3.1 | Aprovisionamento e Critérios de aquisição | 32 |
| 3.2 | Receção, Conferência de produtos adquiridos | 33 |
| 3.3 | Armazenamento | 34 |
| 4 | Distribuição | 35 |
| 4.1 | Distribuição Tradicional | 35 |
| 4.1.1 | Reposição por <i>stocks</i> nivelados | 36 |
| 4.1.2 | Reposição dos carros da Urgência Geral..... | 36 |
| 4.2 | Distribuição Individual Diária em Dose Unitária (DIDDU)..... | 37 |
| 4.3 | Distribuição a Doentes em Ambulatório | 39 |
| 4.4 | Distribuição de Medicamentos sujeitos a controlo especial..... | 41 |
| 4.4.1 | Distribuição de Psicotrópicos e Estupefacientes | 41 |
| 4.4.2 | Distribuição de Hemoderivados | 42 |
| 5 | Farmacotecnia | 43 |
| 5.1 | Preparação de Formas Farmacêuticas Estéreis..... | 43 |
| 5.1.1 | Unidade Centralizada de Preparação de Citotóxicos (UCPC)..... | 43 |
| 5.1.1.1 | Validação das prescrições | 43 |
| 5.1.1.2 | Manipulação | 46 |
| 5.1.1.3 | Controlo Microbiológico | 48 |
| 5.1.1.4 | Kit de Derrames para acidente com citotóxicos | 48 |
| 5.1.2 | Preparação de Nutrição Parentérica..... | 49 |
| 5.2 | Preparação de Formas Farmacêuticas Não-Estéreis | 50 |
| 5.3 | Reembalagem | 51 |
| 6 | Farmacovigilância | 52 |
| 7 | Participação do Farmacêutico nos ensaios clínicos | 52 |
| 8 | Farmacocinética Clínica..... | 54 |

| | | |
|---------|---|----|
| 9 | Comissões Técnicas..... | 54 |
| 10 | Análise SWOT..... | 56 |
| 11 | Conclusão..... | 57 |
| | Capítulo III – Experiência profissionalizante na vertente de Farmácia Comunitária | 58 |
| 1 | Introdução | 58 |
| 2 | A Farmácia Grão Vasco..... | 59 |
| 2.1 | Instalações da Farmácia | 59 |
| 2.1.1 | Espaço Exterior..... | 59 |
| 2.1.2 | Espaço Interior | 59 |
| 2.1.2.1 | Parque de Estacionamento [1]..... | 60 |
| 2.1.2.2 | Zona de Atendimento ao Público [2]..... | 60 |
| 2.1.2.3 | <i>Robot</i> [3]..... | 61 |
| 2.1.2.4 | Receção / Armazém [4]..... | 61 |
| 2.1.2.5 | Sala de Formações [5] | 62 |
| 2.1.2.6 | Gabinete 1 [6]..... | 62 |
| 2.1.2.7 | Gabinete 2 [8]..... | 62 |
| 2.1.2.8 | Armazém geral..... | 62 |
| 2.1.2.9 | Laboratório de manipulados..... | 62 |
| 2.2 | Recursos Humanos | 63 |
| 2.3 | Sistema Informático..... | 63 |
| 3 | Informação e Documentação Científica..... | 63 |
| 4 | Aquisição e armazenamento de encomendas | 64 |
| 4.1 | Realização de encomendas | 64 |
| 4.2 | Receção de encomendas e armazenamento | 65 |
| 4.3 | Devoluções..... | 67 |
| 4.4 | Controlo de prazos de validade | 67 |
| 4.5 | Controlo da temperatura e humidade..... | 68 |
| 5 | Dispensa de Medicamentos | 68 |
| 5.1 | Cartão da Farmácia Grão Vasco e Ficha no <i>Winphar</i> | 68 |
| 5.2 | Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica | 69 |
| 5.2.1 | Dispensa de psicotrópicos e estupefacientes | 71 |
| 5.2.2 | Regimes de comparticipação | 71 |
| 5.2.2.1 | Regime geral de comparticipação..... | 72 |
| 5.2.2.2 | Regime especial de comparticipação..... | 72 |

| | | |
|---------|--|----|
| 5.2.2.3 | Comparticipação em complementaridade com outras entidades | 72 |
| 5.3 | Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica e Automedicação | 72 |
| 5.4 | Dispensa ao Domicílio | 74 |
| 5.5 | Programa de Entrega Medicamentos de Proximidade (PemProxi) | 74 |
| 5.6 | Medicamentos Esgotados | 75 |
| 5.7 | Venda Suspensa | 75 |
| 5.8 | Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde | 75 |
| 5.8.1 | Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene | 75 |
| 5.8.2 | Produtos dietéticos para alimentação especial e infantil | 76 |
| 5.8.3 | Dispositivos médicos | 77 |
| 5.8.4 | Fitoterapia e suplementos alimentares | 78 |
| 5.8.5 | Medicamentos de uso veterinário..... | 78 |
| 6 | Preparação de Medicamentos | 79 |
| 6.1 | Medicamentos Manipulados | 79 |
| 6.2 | Preparações Extemporâneas | 80 |
| 7 | Serviços prestados..... | 81 |
| 7.1 | Medição parâmetros bioquímicos..... | 81 |
| 7.2 | Medição pressão arterial..... | 81 |
| 7.3 | Medição parâmetros antropométricos..... | 81 |
| 7.4 | Aluguer de Material de Ortopedia..... | 82 |
| 7.5 | Administração de vacinas e injetáveis | 82 |
| 7.6 | Programa Troca de Seringas (PTS) | 82 |
| 7.7 | Preparação Individualizada da Medicação (PIM)..... | 82 |
| 7.8 | Teste rápido antigénio SARS-CoV-2 | 84 |
| 7.9 | <i>FarmaDrive</i> | 84 |
| 7.10 | Outros serviços | 84 |
| 8 | Formação Contínua..... | 85 |
| 9 | Contabilidade e Gestão | 85 |
| 10 | Análise SWOT..... | 86 |
| 11 | Conclusão..... | 87 |
| | Referências Bibliográficas..... | 88 |
| | Anexos..... | 91 |

Folha em branco

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1- Diferentes formas de reprodução de leveduras. Adaptado de (6) | 3 |
| Figura 2 - Morfologia da <i>C. albicans</i> . Seta azul - hifa; Seta preta - clamidoconídios; Seta amarela - pseudo-hifas; Seta vermelha – blastoconídios. Adaptado do (1) | 3 |
| Figura 3 - Etapas de formação do biofilme de <i>C. albicans</i> . Adaptado de (7)..... | 4 |
| Figura 4 - Meio cromogénico CHROMagar <i>Candida</i> : Colónias verdes - <i>C. albicans</i> ; Colónias azuis - <i>C. tropicali</i> ; Colónias rosa e rugosas - <i>C. krusei</i> ; Colónias rosa e lisas - outras espécies de leveduras. Adaptado do (1) | 5 |
| Figura 5 - Tubos germinativos de <i>C. albicans</i> . Adaptado de (8) | 5 |
| Figura 6 - Via metabólica da síntese de ergosterol, realçando os sítio-alvo de inibição por parte dos antifúngicos. Adaptado de (3)..... | 6 |
| Figura 7 - Exemplo das diluições de 1:2 na microplaca | 12 |
| Figura 8 - Exemplo de microplaca após pipetagens..... | 13 |
| Figura 9 - Exemplo da microplaca no Impacto na formação de biofilmes | 15 |
| Figura 10 – Esquema representativo de crescimento 24 horas da microplaca com 0,25% (V/V) do OE de <i>C. citratus</i> | 18 |
| Figura 11 - Sobreposição das microplacas em concordância do OE de <i>C. flexuosus</i> | 22 |
| Figura 12 - Exemplo de etiqueta que respeita a nomenclatura LASA (<i>Look-Alike Sound-Alike</i>) | 35 |
| Figura 13 - Exemplo da embalagem pelo FDS de um medicamento fracionado..... | 51 |
| Figura 14 - Planta do piso zero da Farmácia Comunitária..... | 59 |
| Figura 15 - Equipamento semiautomático de embalagem | 83 |

Folha em branco

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Classificação das interações pelo índice FIC..... | 16 |
| Tabela 2 - Número de ensaios realizados por óleo essencial e por concentração..... | 17 |
| Tabela 3 - Concentrações Mínimas Inibitórias dos ensaios com OE de <i>C. Citratus</i> | 18 |
| Tabela 4 - Índice FIC nos ensaios com OE de <i>C. citratus</i> | 19 |
| Tabela 5 - Concentrações Mínimas Inibitórias dos ensaios com OE de <i>C. winterianus</i> | 19 |
| Tabela 6 - Índice FIC nos ensaios com OE de <i>C. winterianus</i> | 20 |
| Tabela 7 - Concentrações Mínimas Inibitórias dos ensaios com OE de <i>C. flexuosus</i> | 20 |
| Tabela 8 - Índice FIC nos ensaios com OE de <i>C. flexuosus</i> | 21 |
| Tabela 9 - Par de ensaios com resultados concordantes | 21 |
| Tabela 10 - Número de ensaios realizados por concentração | 22 |
| Tabela 11 - Percentagens de formação de biofilme em cada ensaio, tendo em conta o clotrimazol, o OE, o mix e o controlo positivo à concentração de 0,0625µg/mL de clotrimazol e 0,0313% (V/V) de OE..... | 23 |
| Tabela 12 - Médias e desvios padrão das percentagens de formação de biofilme em combinações de 3 ensaios à concentração de 0,0625µg/mL de clotrimazol e 0,0313% (V/V) de OE..... | 23 |
| Tabela 13 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 3 | 24 |
| Tabela 14 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 4 | 24 |
| Tabela 15 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 5..... | 25 |
| Tabela 16 - Percentagens de formação de biofilme em cada ensaio, tendo em conta o clotrimazol, o OE, o mix e o controlo positivo à concentração de 0,625µg/mL de clotrimazol e 0,313% (V/V) de OE..... | 25 |
| Tabela 17 - Médias e desvios padrão das percentagens de formação de biofilme em combinações de 3 ensaios à concentração de 0,625µg/mL de clotrimazol e 0,313% (V/V) de OE | 26 |
| Tabela 18 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 6 | 26 |
| Tabela 19 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 8 | 26 |
| Tabela 20 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 9..... | 27 |
| Tabela 21 - Comparação da ordenação por percentagem de formação de biofilme | 27 |

Folha em branco

Lista de Acrónimos

| | |
|-----------|---|
| CICS-UBI | Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior |
| MICF | Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas |
| UBI | Universidade da Beira Interior |
| | |
| Abs | Absorvância |
| ATCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| FIC | <i>Fractional Inhibitory Concentration</i> (Concentração Inibitória Fracionada) |
| MIC | <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (Concentração Mínima Inibitória) |
| MOPS | <i>3-[N-Morpholino] Propanesulfonic Acid</i> |
| NaCl | Cloreto de Sódio |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |
| OE | Óleo Essencial |
| PNA-FISH | <i>Peptide Nucleic Acid - Fluorescence In Situ Hybridization</i> |
| PBS | <i>Phosphate-buffered saline</i> |
| rpm | rotações por minuto |
| RPMI-1640 | <i>Roswell Park Memorial Institute – 1640</i> |
| SDA | <i>Sabouraud Dextrose Agar</i> |
| YPD | <i>Yeast Peptone Dextrose</i> |
| | |
| AO | Assistente Operacional |
| AUC | Área sob a curva |
| BIP | Bomba de Infusão Portátil |
| CA | Conselho de Administração |
| CAUL | Certificado de Autorização de Utilização de Lote |
| CES | Comissão de Ética para a Saúde |
| CFLH | Câmara de Fluxo Laminar Horizontal |
| CFLV | Câmara de Fluxo Laminar Vertical |

| | |
|-----------|--|
| CFT | Comissão de Farmácia e Terapêutica |
| CHTV | Centro Hospitalar Tondela-Viseu |
| CHUC | Centro Hospitalar Universitário de Coimbra |
| CNFT | Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica |
| DCI | Denominação Comum Internacional |
| DIDDU | Distribuição Individual Diária em Dose Unitária |
| FDS | <i>Fast Dispensing System</i> |
| FEFO | <i>First Expired, First Out</i> |
| FH | Farmácia Hospitalar |
| HEPA | <i>High Efficiency Particulate Air</i> |
| INFARMED | Autoridade Nacional do Medicamentos e Produtos de Saúde I.P. |
| IRC | Insuficiência Renal Crónica |
| ISO | <i>International Organization for Standardization</i> |
| LASA | <i>Look-Alike Sound-Alike</i> |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PPCIRA | Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos |
| PVC | <i>Polyvinyl Chloride</i> |
| RAM | Reações Adversas a Medicamentos |
| SF | Serviços Farmacêuticos |
| SGICM | Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento |
| SNS | Serviço Nacional de Saúde |
| SPMS | Serviços Partilhados do Ministério da Saúde |
| TSDT | Técnico Superior de Diagnóstico e Terapêutica |
| UCA | Unidade de Cirurgia de Ambulatório |
| UCIC | Unidade de Cuidados Intensivos Coronários |
| UCPC | Unidade Centralizada de Preparação de Citotóxicos |
| UL-PPCIRA | Unidades Locais do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antimicrobianos |
| ULS | Unidade Local de Saúde |
| UR-PPCIRA | Unidades Regionais do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antimicrobianos |
| VIH | Vírus da Imunodeficiência Humana |
| AIM | Autorização de Introdução no Mercado |
| ANF | Associação Nacional de Farmácias |

| | |
|----------|---|
| AOBP | <i>Automated Office Blood Pressure</i> |
| BFP | Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária |
| CHUC | Centro Hospitalar Universitário de Coimbra |
| CIM | Centro de Informação do Medicamento |
| CNP | Código Nacional de Produto |
| CNPEM | Código Nacional para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos |
| DCI | Denominação Comum Internacional |
| FC | Farmácia Comunitária |
| FEFO | <i>First Expired, First Out</i> |
| FGV | Farmácia Grão Vasco |
| IMC | Índice de Massa Corporal |
| INFARMED | Autoridade Nacional do Medicamentos e Produtos de Saúde I.P. |
| MAPA | Monotorização Ambulatória da Pressão Arterial |
| MM | Medicamento Manipulado |
| MNSRM | Medicamento Não Sujeito a Receita Médica |
| MSRM | Medicamento Sujeito a Receita Médica |
| MUV | Medicamento de Uso Veterinário |
| OF | Ordem dos Farmacêuticos |
| PIM | Preparação Individualizada da Medicação |
| PTS | Programa Troca de Seringas |
| PVF | Preço de Venda à Farmácia |
| PVP | Preço de Venda ao Público |
| RCM | Resumo das Características dos Medicamentos |
| RE | prescrição de psicotrópicos e estupefacientes sujeitos a controlo |
| SAMS | Serviço de Assistência Médico-Social |
| SINAVE | Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica |
| SNQTB | Sindicato Nacional dos Quadros e Técnicos Bancários |
| SNS | Serviço Nacional de Saúde |
| UAH | Unidade de Apoio ao Hipertenso |
| VHC | Vírus da Hepatite C |
| VIH | Vírus da Imunodeficiência Humana |

Folha em branco

Capítulo I - Avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais de erva-príncipe combinada com clotrimazol

1 Introdução

1.1 Candidíase vaginal

A candidíase vaginal é uma infecção, com notável prevalência, causada pela espécie mais frequente da *Candida spp*, a *Candida albicans*. Estima-se que 70 a 75% das mulheres possam desenvolver, pelo menos, uma vez candidíase vaginal ao longo da sua vida.

A *Candida albicans* é um dos microrganismos que faz parte da microbiota habitual humana, ou seja, a sua presença não é indicativa de infecção, no entanto, por diversas situações pode causar proliferação excessiva e dar origem a uma infecção endógena. De notar que a candidíase vaginal é considerada uma micose oportunista, mas a infecção também pode surgir de situações exógenas.(1,2)

1.1.1 Fatores de Risco

Os fatores de risco que podem causar proliferação excessiva de *C. albicans* vão ditar o aparecimento de sinais e sintomas característicos deste tipo de doença. Os fatores de risco são:

- Doentes imunocomprometidos, como é o caso de doentes transplantados, doentes que fazem tratamento com glucocorticoides;
- Doentes sujeitos a transfusões sanguíneas;
- Doentes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida;
- Doentes com neutropenia;
- Doentes neoplásicos que têm o sistema imunitário mais comprometido e ficam predispostos a infecções deste tipo; (1)
- Doentes com um controlo diminuto da glicémia, sobretudo doentes com Diabetes *mellitus*; (2)
- Doentes hospitalizados, uma vez que, têm grande predisposição a inúmeras infecções nosocomiais; (1)
- Uso de antibioterapia propicia a proliferação fúngica, na medida em que condiciona a microbiota bacteriana.
- O aumento dos níveis de estrogénio verificado sobretudo no último trimestre da gestação, na Terapia Hormonal de Substituição e também no uso de contraceptivos orais combinados pode potenciar o aparecimento de candidíase vaginal, ainda que, é no período fértil que as mulheres apresentam maior probabilidade de contrair infecção pela *C. albicans* comparativamente com o período pós-menopausa. (2)

1.1.2 Sinais e Sintomas

Habitualmente, os utentes com candidíase vaginal manifestam sintomas de prurido, queimadura, dor e irritação, muitas vezes aquando do momento de micção. O corrimento esbranquiçado, espesso e sem odor é característico deste tipo de infeção e bastante distintivo de uma vaginose bacteriana. (2)

Adicionalmente, em caso de existir sangramento da mucosa no momento da raspagem é considerada uma infeção pseudomembranosa; em caso de existir uma área avermelhada e dolorida é característica do tipo eritematoso; e o espessamento e esbranquiamento do epitélio é denominado de leucoplasia. (1)

1.1.3 Tratamento

Os azóis são os antifúngicos de eleição no que concerne ao combate a candidíases vulvovaginais. Dentro dos azóis existem dois grandes grupos: os imidazóis e os triazóis.

Os imidazóis têm dois nitrogénios no anel azólico e as substâncias ativas comercializadas em Portugal para o tratamento da candidíase vaginal são o clotrimazol, o fenticonazol, o isoconazol, o econazol e o sertaconazol, tendo todos eles formulações que os permitem serem aplicados topicamente. A posologia varia consoante a substância ativa escolhida, mas de modo geral, o tratamento deve ser feito ao deitar, durante 3 a 7 dias consecutivos.

Os triazóis têm três nitrogénios no anel azólico e as substâncias ativas comercializadas em Portugal para o tratamento da candidíase vaginal são o itraconazol e o fluconazol, existindo nestes últimos formulações em cápsula, para uma administração oral. Com os fármacos orais consegue-se ter uma duração de tratamento mais curta, entre 1 a 3 dias de tratamento.

Adiante, serão especificadas características do clotrimazol. (2,3)

1.1.4 Medidas comportamentais

As medidas não farmacológicas ajudam a conceber uma maior sensação de conforto na zona genital para o doente. O uso de roupa interior de algodão e não muito justa, a higienização uma vez por dia com produtos de pH neutro e o evitar fazer irrigações vaginais, são alguns exemplos de medidas a adotar.

Ainda, se se conseguir contornar alguns dos fatores de risco pode prevenir o aparecimento destas infeções, como por exemplo, o controlo da glicémia e a mudança para um método contraceutivo com dose mais baixa de estrogénio. (2)

1.2 *Candida albicans*

C. albicans pertence ao reino *Fungi* e como tal é um organismo eucariota, com modificações na membrana plasmática e na parede celular comparativamente às outras células eucariotas.

Morfologicamente a *C. albicans* é classificada como uma levedura unicelular.(4)

No que diz respeito à forma de reprodução, a *C. albicans* reproduz-se de forma assexuada por brotamento, em que a “célula-mãe” dá origem à “célula-filha”, formando blastoconídios e estes

podem alongar-se formando pseudo-hifas, como demonstrado na Figura 1. Contudo, também forma clamidoconídios e hifas verdadeiras, exibindo dimorfismo.(5,6)

Na Figura 2 pode-se ver a diferença entre uma hifa verdadeira e uma pseudo-hifa, representadas respetivamente pela seta azul e pela seta amarela. Ainda, um clamidoconídio representado pela seta preta e um blastoconídio pela seta vermelha.

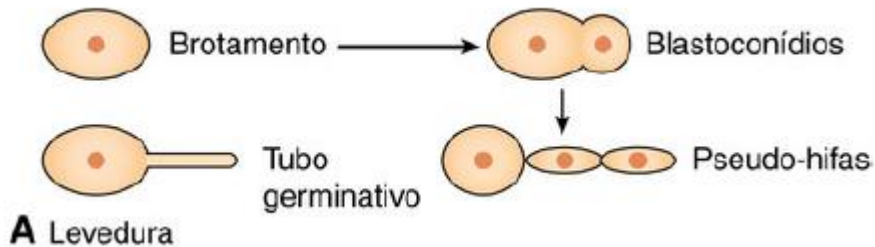


Figura 1- Diferentes formas de reprodução de leveduras. Adaptado de (6)

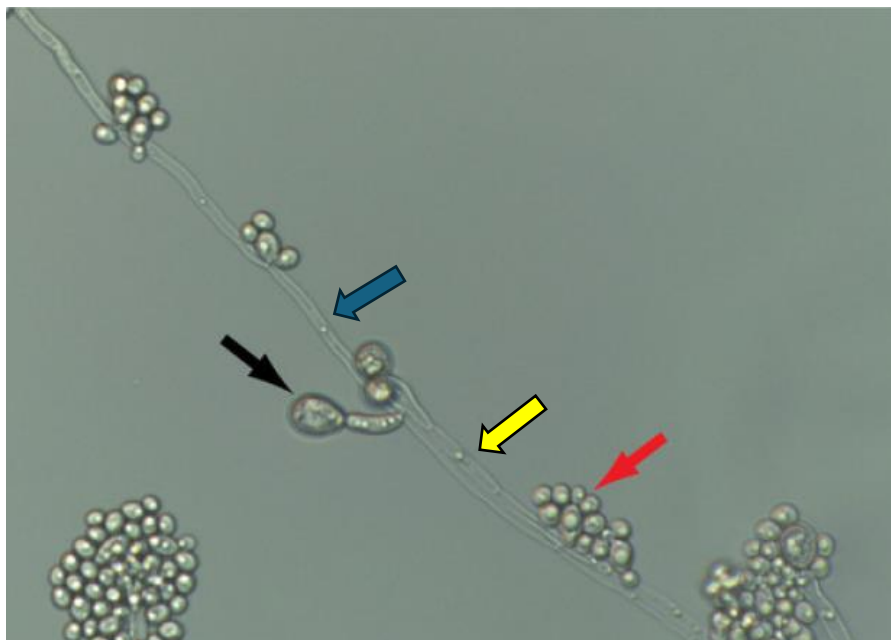


Figura 2 - Morfologia da *C. albicans*. Seta azul - hifa; Seta preta - clamidoconídios; Seta amarela - pseudo-hifas; Seta vermelha - blastoconídios. Adaptado do (1)

A *C. albicans* é um patógeno oportunista responsável por micoses oportunistas, como é o caso da candidíase vaginal, e em meio de cultura forma colónias esbranquiçadas tanto lisas como com relevo, idêntico a “cabelo”. (5,6)

1.2.1 Biofilme de *C. albicans*

Entende-se por biofilme um conjunto denso de células que se aderem a uma superfície biótica ou abiótica e formam uma matriz extracelular.

Os biofilmes de *C. albicans* surgem frequentemente em superfícies mucosas (superfície biótica) e em dispositivos médicos implantados (superfície abiótica), formando pseudo-hifas e hifas verdadeiras.

A formação de biofilmes passa por diferentes etapas cíclicas, como demonstra a Figura 3. Na primeira etapa, designada por Adesão (A), as células da levedura aderem a uma superfície sólida permitindo a proliferação celular e a formação de uma camada basal, demonstrada pela fase de Iniciação (B). Posteriormente há a fase da Maturação (C), que se forma em normalmente 24 horas, dando origem a uma estrutura complexa constituída por várias camadas polimórficas de células envolvidas numa matriz extracelular. Por fim, a etapa de Dispersão (D), onde algumas células da *Candida* se soltam do biofilme e aderem a outra superfície sólida, dando início a um novo ciclo.(7)

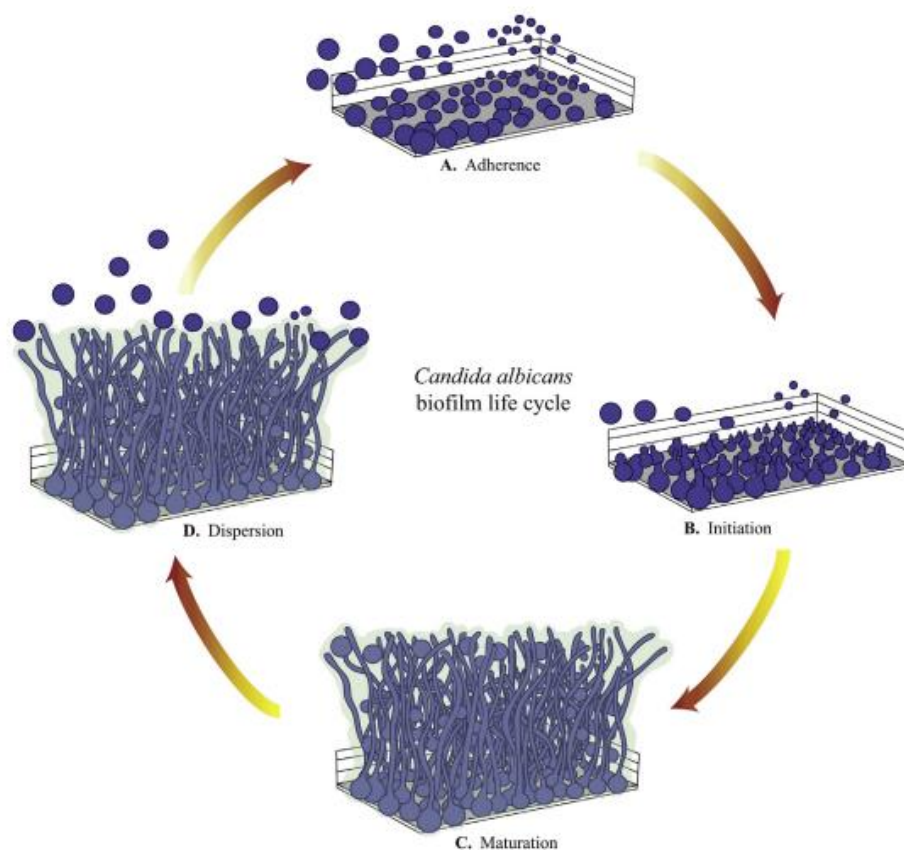


Figura 3 - Etapas de formação do biofilme de *C. albicans*. Adaptado de (7)

1.2.2 Diagnóstico Laboratorial

Para o diagnóstico laboratorial primeiro é necessário recolher corretamente a amostra, através de raspagens das lesões das mucosas. De seguida, analisa-se num microscópio de fluorescência a amostra tratada com hidróxido de potássio a 10% ou 20% e calcoflúor branco.

A amostra é também semeada em meio de cultura agar *Sabouraud Dextrose* e posteriormente em meio cromogénico *CHROMagar Candida*, um meio mais rápido e seletivo, que diferencia entre a *C. albicans*, a *C. tropicalis* e a *C. krusei*, sendo que neste meio a *C. albicans* forma colónias verdes (Figura 4).

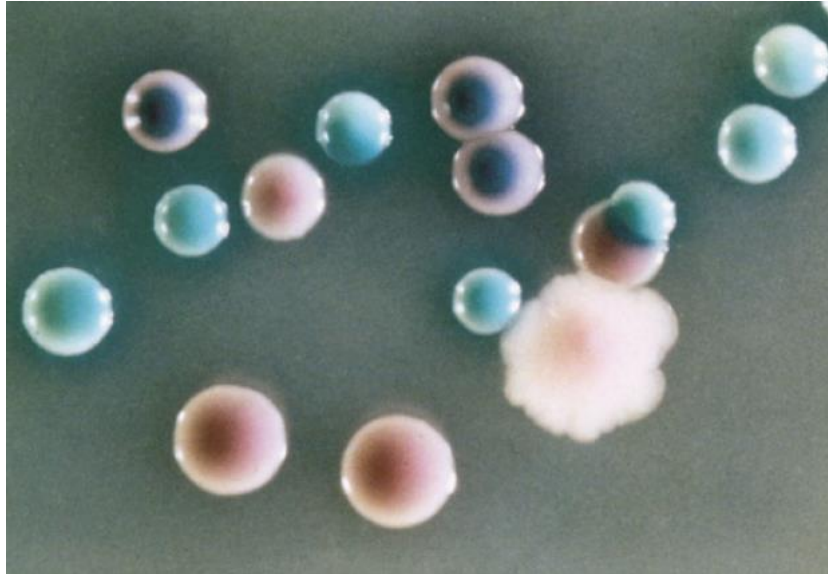


Figura 4 - Meio cromogénico CHROMagar Candida: Colónias verdes - *C. albicans*; Colónias azuis - *C. tropicali*; Colónias rosa e rugosas - *C. krusei*; Colónias rosa e lisas - outras espécies de leveduras.
Adaptado do (1)

Ainda, o teste do tubo germinativo (Figura 5) é uma mais-valia para identificar *C. albicans*, uma vez que a levedura expressa prolongamentos facilmente identificáveis num prazo de 3 horas. Outros métodos de identificação são usados para identificar a espécie *C. albicans*, como é o caso do teste de hibridização fluorescente *in situ* (PNA-FISH) e o meio de painéis de assimilação de açúcar.(1,8,9)



Figura 5 - Tubos germinativos de *C. albicans*. Adaptado de (8)

1.3 Clotrimazol

1.3.1 Mecanismo de Ação

Como visto anteriormente, o clotrimazol é um antifúngico da classe dos azólicos, mais concretamente um imidazólico. O clotrimazol vai atuar ao nível da membrana citoplasmática,

onde vai inibir a 14- α -esterol desmetilase, dependente da CYP-450 microsossomal, essencial à biossíntese do ergosterol. Posto isto, vai haver acumulação da 14- α -metilesteróis que, por sua vez, vai desagregar o arranjo dos fosfolípidos da membrana, essencial à produção de energia em forma de ATP, comprometendo assim as funções enzimáticas da membrana citoplasmática e inibindo o crescimento do fungo. (10)

A Figura 6 demonstra o sítio-alvo da atuação dos compostos azólicos, e de outros antifúngicos, na via metabólica do ergosterol.

Deste modo, o clotrimazol tem atividade fungistática, ou seja, a determinada concentração do antifúngico vai haver inibição do crescimento da *C. albicans*, designada por Concentração Mínima Inibitória (MIC). (3)

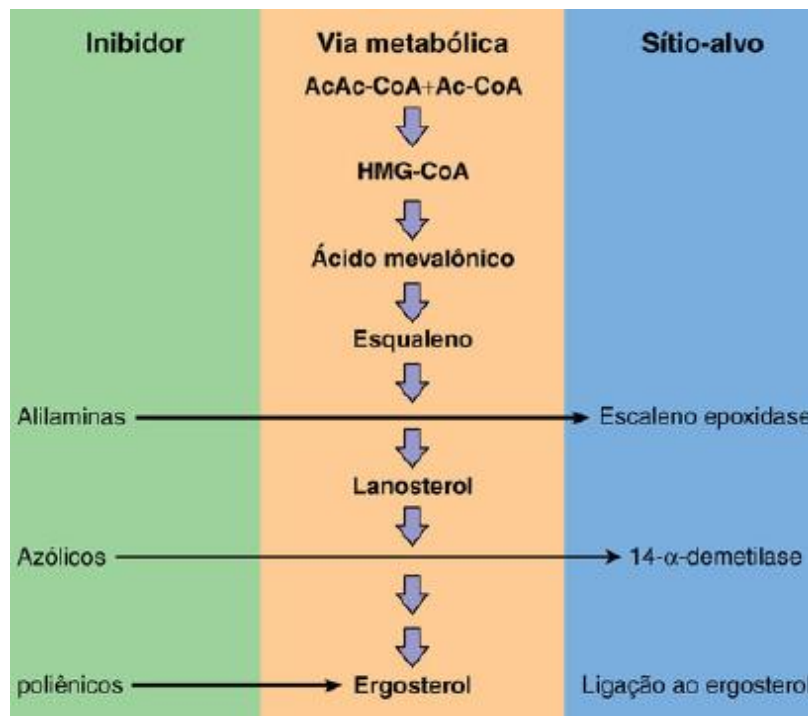


Figura 6 - Via metabólica da síntese de ergosterol, realçando os sítio-alvo de inibição por parte dos antifúngicos. Adaptado de (3)

1.3.2 Fatores de Resistência

As resistências aos antifúngicos têm vindo a ser um problema emergente e requerem alguma preocupação, visto que, os antifúngicos vão deixando de nutrir tanto efeito no combate às infeções. O principal mecanismo de resistência da *C. albicans* aos compostos azólicos advêm de mutações no gene ERG11, que codifica a enzima 14- α -esterol desmetilase, permitindo o acesso ao lanosterol, o alvo de atuação dos antifúngicos. (10,11)

Ainda, o aumento da produção da C14- α -esterol desmetilase e a mutação no gene ERG3 da C5,6 esterol redutase também podem potenciar a resistência da *C. albicans* ao antifúngico. (10)

1.3.3 Farmacocinética

O clotrimazol é apenas absorvido entre 3 a 10%, permanecendo até 3 dias na vagina, ou seja, tem uma baixa absorção, mas um tempo de semi-vida relativamente longo. Posteriormente, vai sofrer circulação entero-hepática, vai ser metabolizado no fígado e excretado na bÍlis. (10)

1.3.4 Posologia

O clotrimazol é comercializado em várias formas farmacêuticas, tendo cada uma delas dosagens e posologias diferentes.

Existe a formulação em creme vaginal de 10 mg/g que deve ser aplicada 1 vez por dia, de preferência ao deitar, durante 7 dias consecutivos. Ainda, existe creme vaginal na dosagem de 20 mg/g que deve ser aplicado 1 vez por dia, ao deitar, durante 3 dias consecutivos.

Além das formulações semi-sólidas, existem também apresentações sólidas, tanto em comprimido vaginal como em cápsula mole vaginal.

A cápsula mole vaginal existe na dosagem de 500 mg e é tratamento de dose única ao deitar. Por último, existe o comprimido vaginal na dosagem de 100 mg para se fazer durante 6 dias ao deitar. (2,10)

1.4 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são líquidos lipofílicos e voláteis, sendo compostos naturais de plantas, contudo também podem ser sólidos ou resinosos. São sintetizados em todos os órgãos da planta e podem ser extraídos de diferentes partes dela, principalmente das folhas e das flores, por expressão, fermentação, *enfleurage*, extração ou destilação a vapor. Frequentemente a destilação a vapor é o método mais utilizado.

Os óleos essenciais resultam de processos metabólicos com a principal função de proteção: Protegem a planta contra organismos patogênicos; Repelam insetos; Tornam a planta menos atrativa para herbívoros, dando-lhes um sabor desagradável. Além das propriedades aromatizantes, tem-se vindo a demonstrar que os óleos essenciais têm atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica (uma ação de relevo neste estudo para contrariar a resistência aos azólicos), anti-inflamatória, antimutagênica, anticarcinogênica, antioxidante, entre outras.(12)

1.4.1 Óleo Essencial de *Cymbopogon citratus*

O óleo essencial de *C. citratus* pertence à família *Poaceae* e é originário da Ásia tropical. Habitualmente, é conhecido por erva príncipe, capim-cidreira, capim-santo ou capim-limão.(13) Segundo um estudo, o óleo essencial de *C. citratus* é composto por fitonutrientes, vitaminas e minerais. Dos fitonutrientes destacam-se os taninos, saponinas, flavonóides, fenóis e alcalóides. Ainda, foi detetado citral (o constituinte mais abundante e mais importante farmacologicamente), α -terpineol, β -mirceno, citronerol, limoneno, nerol, entre outros.

Biologicamente, o óleo essencial tem efeito neurofarmacodinâmico, efeito antinociceptivo, efeito anti-inflamatório, efeito antioxidante, efeito hematológico, efeito hemodinâmico, efeito

antitumoral, efeito antimutagénico, efeito antiobesidade e antidiabetes e por último, efeito antimicrobiano, quer antibacteriano, antifúngico e antiprotozoário.

No que diz respeito ao efeito antifúngico, *C. citratus* tem atividade contra *C. albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus fumigatus*, *Epidermophyton floccosum* e *Microsporium gypseum*. Dos seus constituintes, são o citral, o β -mirceno, o linalol e o geraniol que apresentam atividade antifúngica. Foi descrito que o citral inibe o crescimento da *C. albicans* e o linalol reduz o tamanho das células e induz uma germinação anormal.(14)

1.4.2 Óleo Essencial de *Cymbopogon winterianus*

O óleo essencial de *C. winterianus* pertence à família *Poaceae* e é originário da Malásia.(15)

Habitualmente, é conhecida como citronela.

Segundo um estudo, *C. winterianus* é composto essencialmente por citronelal, geraniol e citronelol.

Biologicamente, o óleo essencial demonstrou atividade depressora do sistema nervoso central, atividade anticonvulsante, efeito larvicida contra *Aedes aegypti*, atividade antibacteriana e atividade antifúngica, em particular contra *C. albicans*.

Demonstraram que o óleo essencial tem atividade fungicida dependente da concentração. Através de um gráfico *time-kill* concluiu-se que com o aumento da concentração de óleo essencial, reduz-se o tempo necessário para atividade fungicida.(16)

1.4.3 Óleo Essencial de *Cymbopogon flexuosus*

O óleo essencial de *C. flexuosus* pertence à família *Poaceae* e é originário desde o subcontinente indiano à Indo-China.(17)

Segundo um estudo, o citral é o constituinte mais abundante e com maior interesse biológico, demonstrando atividade antifúngica contra *C. albicans*. O citral é a junção de geraniol (*trans*-citral) e neral (*cis*-citral), dois monoterpenos. Além do citral, constituintes como cariofileno e monoacetato de indal-1,3-diol também são encontrados no *C. flexuosus*. Foi demonstrada a eficácia do óleo essencial contra a formação de biofilmes de *C. albicans* e de *Staphylococcus aureus*, de ressaltar que o ensaio não diferencia a eficácia do óleo essencial a combater a formação de biofilme individualmente entre a *C. albicans* e o *Staphylococcus aureus*, em que 0,3125% do óleo essencial reduziu a biomassa do biofilme.(18)

Um outro estudo menciona que a atividade antifúngica do óleo essencial se deve ao acetato de geraniol, ao β -citronelol, ao citronelal, ao limoneno e ao citral, que diminui a integridade da membrana plasmática, inibindo as enzimas metabólicas necessárias ao seu funcionamento.(19)

2 Objetivos

O desenvolvimento desta dissertação e de toda a investigação subadjacente teve como principal objetivo avaliar a atividade antifúngica de três óleos essenciais de erva-príncipe combinados com clotrimazol para potenciar o efeito do mesmo no combate à candidíase vaginal, sendo eles o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*, o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*. Para isso, este trabalho de investigação dividiu-se em duas grandes partes. Em primeiro calculou-se o índice de Concentração Inibitória Fracionada (FIC) através da Concentração Mínima Inibitória (MIC) do cruzamento do óleo essencial com o clotrimazol, através do método de diluições seriadas em microplacas. Posteriormente e depois de ser selecionado o óleo essencial com melhor atividade fungistática, foi avaliado o seu impacto na formação de biofilmes isoladamente e em combinação com o clotrimazol, comparativamente ao controlo positivo.

3 Materiais e Métodos

3.1 Ferramentas utilizadas

Para a elaboração das representações das microplacas foi utilizado o *Canva*, uma plataforma de *design* gráfico. As tabelas com as leituras espectralfotométricas foram exportadas do *Excel*, um *software* da *Microsoft*.

3.2 Reagentes

SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) (Biolife Italiana S.r.l, Milão)

Água Milli-Q® (Merck, Alemanha)

RPMI-1640 (*Roswell Park Memorial Institute-1640*) (Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América)

MOPS (3-[N-Morpholino] Porpanesulfonic Acid)(Fisher bioreagents, China)

NaOH (Hidróxido de Sódio) 10M (Fisher bioreagents, China)

Etanol 70% (V/V), de uso comum

Solução de Clotrimazol 3,2 mg/mL em DMSO (Sigma-Aldrich, Estados Unidos da América)

Cymbopogon flexuosus (Aromas do Valado, Portugal)

Cymbopogon citratus (Atelier do Sabão, Portugal)

Cymbopogon winterianus (Atelier do Sabão, Portugal)

DMSO (Dimetilsulfóxido) (VWR, Estados Unidos da América)

Solução aquosa de NaCl (Cloreto de Sódio) 0,85% (m/V) (VWR, Estados Unidos da América)

YPD (*Yeast Peptone Dextrose*) (VWR Life Science, Estados Unidos da América)

PBS (*Phosphate-buffered saline*) 1x (VWR, Estados Unidos da América)

Metanol (Fisher bioreagents, China)

Solução aquosa de violeta de cristal 0,01% (V/V) (ChemCruz, Estados Unidos da América)

Solução aquosa de ácido acético 33% (V/V) (Fisher bioreagents, China)

3.3 Materiais de Laboratório

Erlenmeyer 100 e 500 mL

Rolha de algodão

Papel de alumínio

Fita indicadora de esterilização para autoclavagem

Placa de *Petri*

Gobelé 1000 mL

Magnet

Proveta de plástico 250 e 500 mL

Luvas descartáveis

Unidade de filtração

Ansa de inoculação
Eppendorf 2 mL
Micropipetas P20, P200 e P1000
Microplaca 96 poços
Tubo de ensaio
Tubo de *falcon* 15 mL
Micropipeta P200 multicanal
Frasco *schott* 500 mL

3.4 Equipamentos

Balança de precisão (RADWAG®, Polónia)
Sistema de purificação de água Milli-Q® (MERCK, Alemanha)
Medidor de pH (CRISON GLP 21, Barcelona)
Placa de agitação magnética (OVAN, Espanha)
Câmara de fluxo laminar Classe II (NUAIRE™ – Labgard, Estados Unidos da América)
Estufa (BINDER, Alemanha)
Densitómetro (Grant-bio - MF-Units DEN-1, Inglaterra)
Vórtex (RS Lab – 6Pro)
Espectrofotómetro (xMark® - Bio-Rad, Estados Unidos da América)
Agitador orbital (Concessus – Aralab)
Mini Spin (GYROZEN, Coreia)

3.5 Estirpe

Todo o trabalho laboratorial foi realizado com a estirpe ATCC-10231 (*American Type Culture Collection-10231*) da *Candida albicans*. Sempre que se dava início a um novo ensaio, o primeiro passo era fazer o pré-inóculo, ou seja, repicavam-se colónias isoladas de uma placa da estirpe conservada entre 2 a 8°C para uma nova placa de *Petri* com meio SDA e incubava-se durante 24 horas a 37°C. O meio SDA foi elaborado consoante instruções do fabricante, mais concretamente, 65 g de SDA para 1000 mL de água purificada e posteriormente era autoclavado e transferido para solidificar nas placas de *Petri*.

3.6 Determinação da MIC (Concentração Mínima Inibitória)

O método utilizado para determinar a MIC teve por base um protocolo adaptado do protocolo internacional da “Determinação da MIC pelo método da microdiluição em placa para leveduras”.(20)

Inicialmente, preparou-se o meio RPMI-1640. Para preparar 500 mL de meio era necessário 5,2g de RPMI-1640 + 17,265 g de tampão MOPS + 400 mL de água purificada e agitou-se na placa magnética até total dissolução e homogeneização do meio. Posteriormente, acertou-se o pH a 7,0 e perfez-se com água purificada até completar os 500 mL de meio. Na câmara de fluxo laminar filtrou-se o meio RPMI-1640 com o auxílio de uma unidade de filtração.

Em cada ensaio, era necessário preparar os dois ativos, tanto o clotrimazol como o óleo essencial. Para isso, era indispensável ter em conta as concentrações a colocar na microplaca e as diluições da própria microplaca (diluição de 1:4). Tendo em consideração as normas internacionais (M27 do *Clinical and Laboratory Standards Institute*)(21), a concentração de clotrimazol na primeira coluna da microplaca era de 32 µg/mL e as colunas adjacentes cumpriam com a diluição em série de 1:2, ou seja, tinham sempre metade da concentração da coluna anterior. Ainda, a concentração de óleo essencial tinha por base a concentração que se pretendia estudar em cada ensaio. Posto isto, a Figura 7 demonstra um exemplo de esquema geral de cada microplaca, onde as concentrações de óleo essencial podiam variar entre ensaios.

| | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 0,5 | 0,25 | 0,125 | 0,06 | 0,03 | µg/mL | |
|---|----|----|---|---|---|---|-----|------|-------|------|------|-------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| A | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 0,25 |
| B | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 0,125 |
| C | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 0,0625 |
| D | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 0,0313 |
| E | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 0,0156 |
| F | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 0,0078 |
| G | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 0,0039 |
| H | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | X % |

Figura 7 - Exemplo das diluições de 1:2 na microplaca

Assim, a partir de uma solução previamente preparada de clotrimazol a 3,2 mg/mL (3200 µg/mL), o *eppendorf* de clotrimazol, o primeiro ativo, continha 80 µL da solução previamente preparada do mesmo e 1920 µL do meio RPMI-1640, de modo a obter um *eppendorf* de 2 mL com concentração de 128 µg/mL de clotrimazol, com a finalidade de chegar à concentração de 32 µg/mL na coluna 1 da microplaca (diluição de 1:4 = 32:128 µg/mL).

Posteriormente, preparou-se o segundo ativo, o *eppendorf* de OE, para isto, era necessário preparar o ativo 4 vezes mais concentrado, a 4% (V/V), para então se obter uma concentração de 1% (V/V) na linha A da microplaca, tendo em conta, mais uma vez, a diluição de 1:4. Deste modo, o *eppendorf* de 2 mL continha 80 µL de OE, 80 µL de DMSO e 1840 µL do meio RPMI-1640. De

seguida, foram feitas 6 diluições seriadas de 1:2 a partir do *ependorf* a 4% (V/V) para 6 novos *ependorfs* que continham já 1000 µL do meio RPMI-1640.¹

Terminados os ativos, começou-se a pipetar para a microplaca. Em cada poço da coluna 1 colocou-se 100 µL do ativo de clotrimazol. Nas restantes colunas colocou-se 50 µL do meio RPMI-1640 em cada poço. Fez-se diluições seriadas de 1:2 partindo de 50 µL dos poços da coluna 1 até aos poços da coluna 11, inclusive (os restantes 50 µL eram descartados). Pipetou-se 50 µL do *ependorf* de OE com maior concentração para os poços da linha A, pipetou-se 50 µL do *ependorf* com concentração inferior para os poços da linha B e sucessivamente até pipetar 50 µL do *ependorf* menos concentrado para os poços da linha G. Para os poços da linha H pipetou-se 50 µL do meio RPMI-1640.

Por fim, preparou-se a suspensão de *C. albicans*. Em um tubo de ensaio esterilizado ressuspendeu-se colónias de *C. albicans* em NaCl 0,85% (m/V) até atingir turbidez de 0,5 na escala de *McFarland*. Pipetou-se para um *ependorf* 490 µL do meio RPMI-1640 e 10 µL da suspensão anterior, previamente homogeneizada no *vortex*. Transferiu-se os 500 µL anteriores para um tubo de *falcon* que já continha 9,5 mL do meio RPMI-1640. Posto isto, pipetou-se 100 µL da suspensão de *C. albicans* para todos os poços da microplaca.

Neste momento todos os poços da microplaca continham 200 µL, como consta na Figura 8.

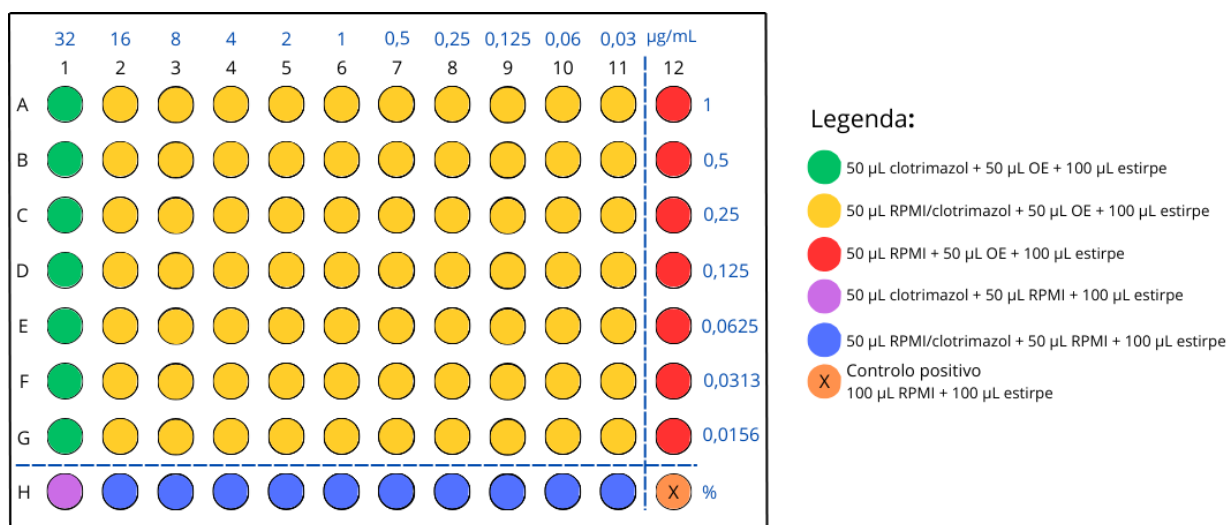


Figura 8 - Exemplo de microplaca após pipetagens

Incubou-se a microplaca a 37°C e passado 48 horas observou-se a MIC por leitura visual e fez-se a leitura espectralométrica a 600nm.

¹ De notar que, em parte dos ensaios, os cálculos foram ajustados para que a concentração do OE na coluna A da microplaca fosse 0,25% (V/V) de OE → *ependorf* a 1% (V/V) continha 20 µL de OE, 20 µL de DMSO e 1960 µL do meio RPMI-1640 e também de 2% (V/V) de OE → *ependorf* a 8% (V/V) continha 160 µL de OE, 160 µL de DMSO e 1680 µL do meio RPMI-1640.

3.7 Impacto na formação de biofilmes

O método utilizado está descrito na literatura internacional, sendo que as concentrações de OE e clotrimazol utilizadas tiveram em consideração os resultados obtidos da realização do protocolo mencionado anteriormente. Deste modo, as concentrações de OE de *Cymbopogon flexuosus* utilizadas foram 0,0313% (V/V) e as de clotrimazol foram 0,0625 µg/mL. Também, foram testados os ativos 10 vezes mais concentrados, ou seja, com concentração de 0,313% (V/V) de OE e 0,625 µg/mL de clotrimazol.

Inicialmente, foi necessário preparar o meio YPD consoante as instruções do fabricante: “Suspender 50 g/L em água purificada”. Preparou-se 20 mL de meio YPD por ensaio, assim sendo, pesou-se 1 g de YPD para um *erlenmeyer* de 100 mL (proporção de 1/5 de oxigénio) que foi esterilizado por autoclavagem a 121°C durante 15 minutos.

Depois de estéril, inoculou-se o *erlenmeyer* com a estirpe de *C. albicans* e incubou-se *overnight* no agitador orbital a 150 rpm e 37°C. Posto isto, pipetou-se 1 mL do *erlenmeyer* para um *ependorff*, centrifugou-se durante 2 minutos a 13000 rpm e descartou-se o sobrenadante. De seguida, intercalou-se as lavagens de 1 mL de PBS com as centrifugações até a amostra ficar transparente.

Procedeu-se à preparação de tubos de ensaio com as concentrações pretendidas de clotrimazol, OE e mix (associação de clotrimazol com OE) para isso foi necessário fazer algumas diluições para conseguir chegar às concentrações pretendidas com volumes capazes de serem pipetáveis.

Para o tubo de ensaio de clotrimazol a 0,0625 µg/mL: *ependorff* 1 – 3,9 µL de clotrimazol a 3,2 mg/mL + 1996,1 µL de meio RPMI-1640; *ependorff* 2 – 100 µL do *ependorff* 1 + 900 µL de meio RPMI-1640; tubo de ensaio 1 – 200 µL do *ependorff* 2 + 1800 µL de meio RPMI-1640.

Para o tubo de ensaio de OE a 0,0313% (V/V): *ependorff* 3: 3 µL de OE + 3 µL de DMSO + 994 µL de meio RPMI-1640; tubo de ensaio 2 - 200 µL do *ependorff* 3 + 1800 µL do meio RPMI-1640.²

Para o tubo de ensaio de mix: tubo de ensaio 3 - 200 µL do *ependorff* 2 + 200 µL do *ependorff* 3 + 1600 do meio RPMI-1640.

Posteriormente, com o auxílio de uma ansa transferiu-se aos poucos do *erlenmeyer* anteriormente inoculado com *C. albicans* para os tubos de ensaio 1, 2 e 3 até atingirem a turbidez

² Os cálculos ajustados para os ativos 10x mais concentrados foram: Para o tubo de ensaio de clotrimazol 0,625 µg/mL: *ependorff* 1 – 39 µL de clotrimazol a 3,2 mg/mL + 1961 µL de meio RPMI-1640; *ependorff* 2 – 100 µL do *ependorff* 1 + 900 µL de meio RPMI; tubo de ensaio 1 – 200 µL do *ependorff* 2 + 1800 µL de meio RPMI-1640; Para o tubo de ensaio de OE 0,313% (V/V): *ependorff* 3: 31,3 µL de OE + 31,3 µL de DMSO + 937,4 µL de meio RPMI-1640; tubo de ensaio 2 - 200 µL do *ependorff* 3 + 1800 µL do meio RPMI-1640.

de 0,5 na escala de McFarland. Também se fez o mesmo processo para um tubo de ensaio 4 que continha apenas RPMI-1640.

Como indica a figura que se segue (Figura 9), para uma microplaca pipetou-se, para cada 4 poços diferentes, 100 µL de cada tubo de ensaio anteriormente preparado e previamente homogeneizado por *vortex*: do tubo de ensaio 1 pipetou-se 100 µL para cada poço representado a roxo; do tubo de ensaio 2 pipetou-se 100 µL para cada poço representado a verde; do tubo de ensaio 3 pipetou-se 100 µL para cada poço representado a azul;

Ainda, como controlo positivo pipetou-se para cada poço representado a laranja 100 µL do tubo de ensaio 4 e como controlo negativo pipetou-se 100 µL de meio RPMI-1640. A microplaca incubou 24 horas a 37°C.

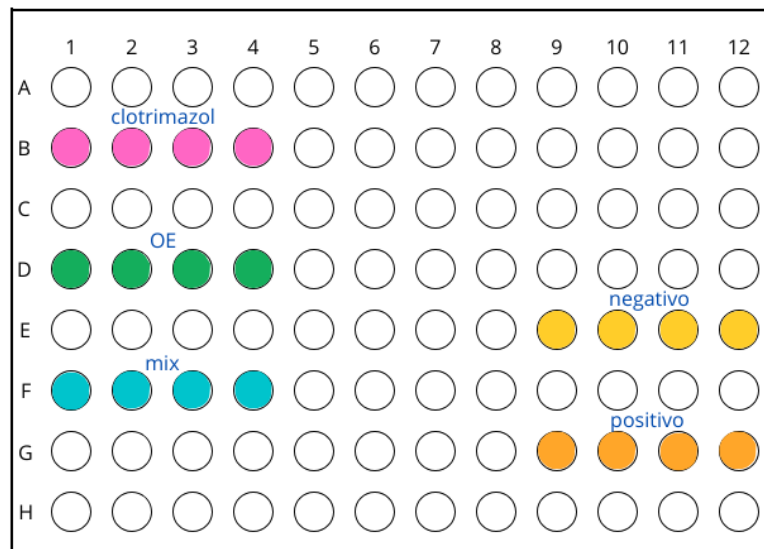


Figura 9 - Exemplo da microplaca no Impacto na formação de biofilmes

Cuidadosamente com o auxílio de uma micropipeta removeu-se as células planctónicas, sem encostar no fundo dos poços, onde estavam os biofilmes.

Lavou-se os biofilmes 3 vezes com 200 µL de PBS. Pipetou-se 100 µL de metanol, deixando atuar durante 15 minutos e escoou-se todo o metanol. Pipetou-se 100 µL de violeta de cristal, deixando atuar durante 20 minutos e escoou-se o máximo possível do violeta de cristal com o recurso a pequenas gotículas de água. Pipetou-se 150 µL de ácido acético 33% (V/V) e agitou-se levemente a microplaca.

Numa outra microplaca colocou-se, no mesmo número de poços, 90 µL de ácido acético 33% (V/V) e pipetou-se 10 µL de cada poço da microplaca antiga para os respetivos poços da nova microplaca.

Mediu-se a absorvância a 590 nm.

3.8 Tratamento de Resultados

3.8.1 Determinação da MIC

O Índice FIC correlaciona os MIC dos ativos isoladamente e em combinação, estabelecendo uma relação de sinergia, indiferença ou de antagonismo entre eles.

O MIC do clotrimazol isoladamente era analisado na fila H da microplaca e o MIC do OE isoladamente era sempre analisado na coluna 12 da microplaca, uma vez que essa fila e coluna da microplaca apenas apresentam influência do clotrimazol e do OE, respetivamente.

A seguinte fórmula permitiu fazer o cálculo do índice FIC:

$$\frac{A}{MIC_A} + \frac{B}{MIC_B} = FIC_A + FIC_B = \text{Índice FIC}$$

Onde,

A é o MIC do clotrimazol em combinação

MIC_A é o MIC do clotrimazol isoladamente

B é o MIC do OE em combinação

MIC_B é o MIC do OE isoladamente

A interpretação dos resultados tem por base a seguinte classificação:

Tabela 1 - Classificação das interações pelo índice FIC

| Classificação | Índice FIC |
|---------------|------------|
| Sinergia | ≤ 0,5 |
| Indiferente | 0,5 - 4 |
| Antagonista | ≥ 4 |

(22)

3.8.2 Impacto na formação de biofilmes

Em relação aos resultados do impacto da formação de biofilmes, foi estabelecido em que percentagem o clotrimazol, o OE e o mix permitem a formação de biofilmes, em relação ao controlo positivo, tendo em conta a média das absorvâncias dos quatro poços correspondentes. No fundo, quantificou-se o biofilme em relação ao controlo, que não tem tratamento.

Para isso, foi utilizada a seguinte fórmula individualmente quer para o clotrimazol, o OE e o mix, de modo a averiguar a % de formação de biofilme:

$$\frac{\left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4}\right) \times 10}{\left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4}\right) \times 10} \times 100$$

Onde,

Abs₁, Abs₂, Abs₃ e Abs₄ são as leituras das absorvâncias de cada poço quer do clotrimazol ou do OE ou do mix.

Abs \oplus ₁, Abs \oplus ₂, Abs \oplus ₃, Abs \oplus ₄ são as leituras das absorvâncias de cada poço do controlo positivo.

4 Resultados e Discussão

4.1 Determinação da MIC

Os ensaios tiveram a duração de 3 dias e ao terceiro dia era feita a leitura visual e a leitura espectralfotométrica das microplacas, que podem ser encontradas em Anexo. Cada microplaca só estava válida se no controlo positivo (posição H12) se observasse crescimento, ou seja, alguma turbidez no poço, sendo que, todos os ensaios efetuados tiveram crescimento no controlo positivo. Foram efetuados 12 ensaios, tal como especifica a tabela seguinte:

Tabela 2 - Número de ensaios realizados por óleo essencial e por concentração

| Óleo Essencial | Concentração máxima do OE (V/V) | Número de ensaios |
|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 0,25% | 4 |
| <i>Cymbopogon winterianus</i> | 0,25% | 2 |
| | 1% | 2 |
| | 2% | 2 |
| <i>Cymbopogon flexuosus</i> | 1% | 2 |

No primeiro ensaio com o OE de *C. citratus* apenas se deixou a microplaca 24 horas a incubar, no entanto, os resultados foram pouco promissores, uma vez que não se observou um crescimento generalizado pela microplaca, apenas houve crescimento na coluna que não continha clotrimazol. Assim optou-se por expandir o tempo de incubação para 48 horas na microplaca mencionada anteriormente, e o mesmo tempo foi aplicado nos ensaios que se seguiram.

De seguida, é representado o esquema representativo dos resultados obtidos na microplaca do primeiro ensaio que demonstra o pouco crescimento (Figura 10):

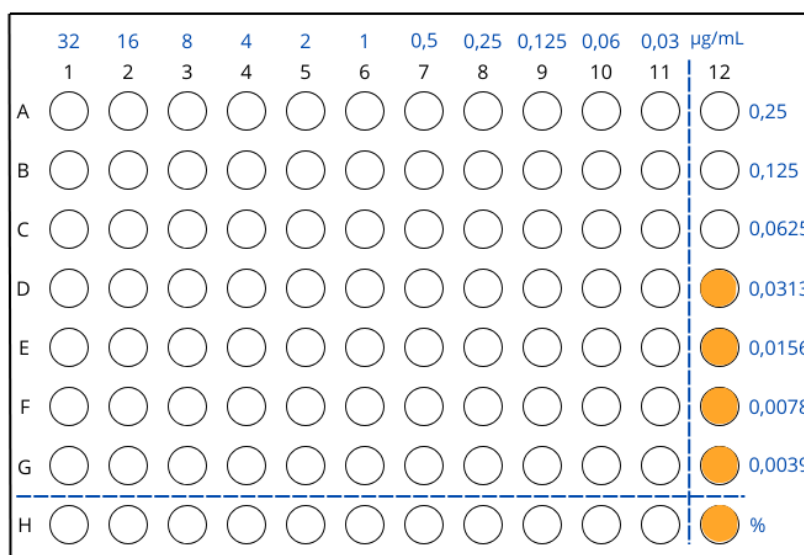


Figura 10 – Esquema representativo de crescimento 24 horas da microplaca com 0,25% (V/V) do OE de *C. citratus*

Relativamente aos ensaios que tinham como ativos o clotrimazol e o OE de *C. citratus*, as MIC obtidas foram as seguintes:

Tabela 3 - Concentrações Mínimas Inibitórias dos ensaios com OE de *C. Citratus*

| Ensaio | MIC clotrimazol isolado (A) | MIC OE isolado (B) | MIC em combinação | |
|-------------------------------------|-----------------------------|--------------------|---------------------------------|------------------------|
| | | | Clotrimazol (MIC _A) | OE (MIC _B) |
| 1 - <i>C. citratus</i> 0,25% (V/V) | 1 µg/mL | 0,25 % (V/V) | 0,25 µg/mL | 0,0156 % (V/V) |
| 2 - <i>C. citratus</i> 0,25 % (V/V) | 0,5 µg/mL | 0,25 % (V/V) | 0,5 µg/mL | 0,0078 % (V/V) |
| 3 - <i>C. citratus</i> 0,25% (V/V) | 0,5 µg/mL | 0,25 % (V/V) | 0,25 µg/mL | 0,0313 % (V/V) |
| 4 - <i>C. citratus</i> 0,25% (V/V) | 2 µg/mL | 0,25 % (V/V) | 2 µg/mL | 0,0078 % (V/V) |

Nos valores do MIC do OE de *C. citratus* isolado (B) obtiveram-se sempre os mesmos valores de 0,25% (V/V), no entanto, os valores dos MIC do clotrimazol isolado (A) e os MIC em combinação foram variando nos diferentes ensaios, como mostra a Tabela 3.

Segundo o artigo “*Antifungal Activity of Essential Oils Against Candida Species Isolated from Clinical Samples*” a concentração mínima inibitória do óleo essencial *C. citratus* isoladamente contra a *Candida albicans* é de 25 mg/L, ou seja, 25 µg/mL (0,0025%) No entanto, não está especificada a estirpe de *C. albicans* utilizadas no estudo.(23)

Comparativamente com os resultados obtidos neste presente estudo, foi necessária uma concentração 100 vezes superior de OE (0,25% (V/V)) para inibir o crescimento da *C. albicans*. A composição dos compostos do óleo essencial pode variar consoante o clima, o tempo de colheita, o local de colheita, a estação do ano, o método de extração, entre muitos outros fatores colmatando em variações na eficácia do óleo essencial.(24) O método de extração é um ponto

chave nas concentrações dos compostos ativos do óleo essencial(25), que pode acabar por ditar a necessidade de concentrações mais elevadas para surtir o mesmo efeito na *C. albicans*.

Ainda, os óleos essenciais devido ao seu perfil volátil estão suscetíveis a variações na sua estabilidade, originando deturpações nos resultados.

Ao aplicar o cálculo FIC, anteriormente mencionado, chegamos aos seguintes resultados:

Tabela 4 - Índice FIC nos ensaios com OE de *C. citratus*

| Ensaio | Índice FIC | Classificação |
|-------------------------------------|------------|---------------|
| 1 - <i>C. citratus</i> 0,25% (V/V) | 0,3125 | Sinergia |
| 2 - <i>C. citratus</i> 0,25 % (V/V) | 1,0312 | Indiferente |
| 3 - <i>C. citratus</i> 0,25 % (V/V) | 0,625 | Indiferente |
| 4 - <i>C. citratus</i> 0,25% (V/V) | 1,0312 | Indiferente |

Comparando os resultados, obteve-se um ensaio com relação de sinergia entre o clotrimazol e o OE e três ensaios com relação de indiferença. Uma vez que é preciso, pelo menos, dois ensaios concordantes para os resultados serem plausíveis, então os ensaios 2 e 4 foram os selecionados, visto que, tinham o mesmo valor de índice FIC, em detrimento do ensaio 3 (este também indiferente, mas com um índice FIC diferente dos restantes).

Nos ensaios cujos ativos eram o clotrimazol e o OE de *C. winterianus*, as MIC obtidas foram as seguintes:

Tabela 5 - Concentrações Mínimas Inibitórias dos ensaios com OE de *C. winterianus*

| Ensaio | MIC clotrimazol isolado (A) | MIC OE isolado (B) | MIC em combinação | |
|--|-----------------------------|--------------------|---------------------------------|------------------------|
| | | | Clotrimazol (MIC _A) | OE (MIC _B) |
| 5 - <i>C. winterianus</i> 0,25 % (V/V) | 1 µg/mL | - | 0,5 µg/mL | 0,0078 % (V/V) |
| 6 - <i>C. winterianus</i> 0,25 % (V/V) | 0,5 µg/mL | - | 0,5 µg/mL | 0,0039 % (V/V) |
| 7 - <i>C. winterianus</i> 1 % (V/V) | 2 µg/mL | - | 1 µg/mL | 0,0313 % (V/V) |
| 8 - <i>C. winterianus</i> 1 % (V/V) | 0,25 µg/mL | - | 0,5 µg/mL | 0,0156 % (V/V) |
| 9 - <i>C. winterianus</i> 2 % (V/V) | 0,5 µg/mL | 1 % (V/V) | 0,5 µg/mL | 0,0625 % (V/V) |
| 10 - <i>C. winterianus</i> 2 % (V/V) | 1 µg/mL | 2 % (V/V) | 0,125 µg/mL | 0,0313 % (V/V) |

Começou-se por testar o OE de *C. winterianus* à concentração máxima de 0,25% (V/V), tal como foi testado com o OE de *C. citratus*. No entanto, nunca permitiu obter um MIC do OE isolado (B), o que indica que a concentração de OE utilizada não era a suficiente para inibir o crescimento da *C. albicans*. Desta forma, foi testado o OE de *C. winterianus* à concentração máxima de 1% (V/V), e ainda assim, o mesmo se sucedeu. Contudo, à concentração máxima de 2% (V/V) de OE de *C. winterianus* já foi possível obter o MIC do OE isolado (B).

Deste modo, comparando o OE de *C. winterianus* com o OE de *C. citratus*, a necessidade de concentrações mais elevadas do OE de *C. winterianus* para tornar visível nas microplacas o MIC do OE isolado tem por base as diferentes composições dos óleos essenciais. Ao contrário do OE

de *C. citratus*, o OE de *C. winterianus* não possui concentrações elevadas do citral(16), que é considerado o composto com demarcada atividade antifúngica.(14)

Num outro estudo efetuado com o OE de *C. winterianus* e a *C. albicans*, utilizando também o método de microdiluição em placa, obtiveram-se MIC do OE isolado contra as estirpes ATCC-76485, ATCC-76615 e ATCC-13802 de *C. albicans* entre 78 µg/mL e 625 µg/mL. De salientar que, as concentrações de OE testadas compreenderam-se entre 10000 µg/mL a 39 µg/mL. (16)

As MIC do OE isolado obtido no presente trabalho de investigação contra a estirpe ATCC-10231 foram de 10000 µg/mL (1%) e de 20000 µg/mL (2%), o que indica que é necessária uma concentração muito mais elevada de OE para inibir o crescimento da *C. albicans* da estirpe ATCC-10231, relativamente às estirpes testadas no outro estudo. Contudo, o OE compreendia concentrações testadas entre os 20000 µg/mL (2%) e 313 µg/mL (0,0313%), sendo as concentrações do estudo publicado bastante mais abrangentes.

Ainda, para além do método de extração do óleo essencial, do clima e dos demais fatores mencionados anteriormente, as diferentes estirpes da *C. albicans* testadas podem apresentar diferenças na suscetibilidade ao óleo essencial, provocando alterações díspares nos resultados.

Ao aplicar o cálculo FIC, anteriormente mencionado, chegamos aos seguintes resultados:

Tabela 6 - Índice FIC nos ensaios com OE de *C. winterianus*

| Ensaio | Índice FIC | Classificação |
|---------------------------------------|------------|---------------|
| 5 - <i>C. winterianus</i> 0,25% (V/V) | - | - |
| 6 - <i>C. winterianus</i> 0,25% (V/V) | - | - |
| 7 - <i>C. winterianus</i> 1% (V/V) | - | - |
| 8 - <i>C. winterianus</i> 1% (V/V) | - | - |
| 9 - <i>C. winterianus</i> 2% (V/V) | 1,0625 | Indiferente |
| 10 - <i>C. winterianus</i> 2% (V/V) | 0,14065 | Sinergia |

Dos seis ensaios com o OE de *C. winterianus* apenas em dois deles foi possível aplicar o cálculo do índice de FIC, e mesmo assim não permitiu ter dois resultados concordantes, pois obteve-se um resultado indiferente e outro sinérgico; além disso o elevado valor de MIC do OE isolado (B) obtido em todos os ensaios revelou que o OE de *C. winterianus* se demonstrou como o OE menos eficaz a inibir o crescimento da *C. albicans* em conjunto com o clotrimazol.

Já aos ensaios cujos ativos eram o clotrimazol e o OE de *C. flexuosus*, os resultados do MIC foram os seguintes:

Tabela 7 - Concentrações Mínimas Inibitórias dos ensaios com OE de *C. flexuosus*

| Ensaio | MIC clotrimazol isolado (A) | MIC OE isolado (B) | MIC em combinação | |
|------------------------------------|-----------------------------|--------------------|---------------------------------|------------------------|
| | | | Clotrimazol (MIC _A) | OE (MIC _B) |
| 11 - <i>C. flexuosus</i> 1 % (V/V) | 4 µg/mL | 0,0625 % (V/V) | 0,0625 µg/mL | 0,0313 % (V/V) |
| 12 - <i>C. flexuosus</i> 1 % (V/V) | 1 µg/mL | 0,0313 % (V/V) | 0,125 µg/mL | 0,0156 % (V/V) |

À concentração de 1% (V/V) de OE de *C. flexuosus*, verificam-se crescimentos semelhantes nas leituras visuais das microplacas, entre os ensaios 11 e 12, como pode ser observado em Anexo.

Ao aplicar o cálculo FIC, anteriormente mencionado, chegamos aos seguintes resultados:

Tabela 8 - Índice FIC nos ensaios com OE de *C. flexuosus*

| Ensaio | Índice FIC | Classificação |
|------------------------------------|------------|---------------|
| 11 - <i>C. flexuosus</i> 1 % (V/V) | 0,5164 | Indiferente |
| 12 - <i>C. flexuosus</i> 1 % (V/V) | 0,6234 | Indiferente |

Nos ensaios 11 e 12, os valores do índice FIC foram muito próximos, sendo classificados como indiferentes.

Num outro ensaio, disponível na literatura, efetuado com o OE de *C. flexuosus* isolado e a *C. albicans* obtiveram-se valores de MIC do OE isolado de 25 µL/mL contra a estirpe ATCC-10231 de *C. albicans*. Tendo em conta que a densidade do OE é de 0.984 g/mL, assim sendo a MIC do OE isolado é de 24,6 µg/mL (0,00246%). Usando a mesma estirpe de *C. albicans*, no artigo disponível foi necessária uma concentração muito inferior de OE para inibir o crescimento da levedura.

Ainda, no artigo publicado foi calculado o índice FIC com concentrações de OE compreendidas entre 6,25 µL/mL e 100 µL/mL. De notar que, o OE em estudo era composto por uma proporção de 75% de *C. flexuosus* e de 25% de *Melaleuca alternifolia*. O FIC obtido foi de 0,4, estabelecendo uma relação de sinergia. (19) Na presente investigação apenas se obteve uma relação de indiferença, ainda que perto da sinergia, no entanto, apenas se utilizou como ativo natural o *C. flexuosus*, não potenciando o efeito antifúngico oferecido pela *Melaleuca alternifolia*.(26)

Deste modo, e após 12 ensaios, podem-se destacar os seguintes 4 ensaios:

Tabela 9 - Par de ensaios com resultados concordantes

| Ensaio | MIC clotrimazol isolado (A) | MIC OE isolado (B) | MIC em combinação | | Índice FIC | Classificação |
|-------------------------------------|-----------------------------|--------------------|---------------------------------|------------------------|------------|---------------|
| | | | Clotrimazol (MIC _A) | OE (MIC _B) | | |
| 2 - <i>C. citratus</i> 0,25 % (V/V) | 0,5 µg/mL | 0,25 % (V/V) | 0,5 µg/mL | 0,0078 % (V/V) | 1,0312 | Indiferente |
| 4 - <i>C. citratus</i> 0,25 % (V/V) | 2 µg/mL | 0,25 % (V/V) | 2 µg/mL | 0,0078 % (V/V) | 1,0312 | Indiferente |
| 11 - <i>C. flexuosus</i> 1 % (V/V) | 4 µg/mL | 0,0625 % (V/V) | 0,0625 µg/mL | 0,0313 % (V/V) | 0,5164 | Indiferente |
| 12 - <i>C. flexuosus</i> 1 % (V/V) | 1 µg/mL | 0,0313 % (V/V) | 0,125 µg/mL | 0,0156 % (V/V) | 0,6234 | Indiferente |

Todos os ensaios deram uma relação de indiferença, no entanto, nos ensaios com o OE de *C. flexuosus* obteve-se um índice de FIC muito próximo da sinergia ($\leq 0,5$), assim considerou-se que

o OE mais eficaz, em conjunto com o clotrimazol, para combater a estirpe da *C. albicans* é o OE de *C. flexuosus* cuja concentração máxima testada foi de 1% (V/V).

Conjugando as duas microplacas dos ensaios 11 e 12 do *C. flexuosus*, obteve-se a seguinte representação da microplaca:

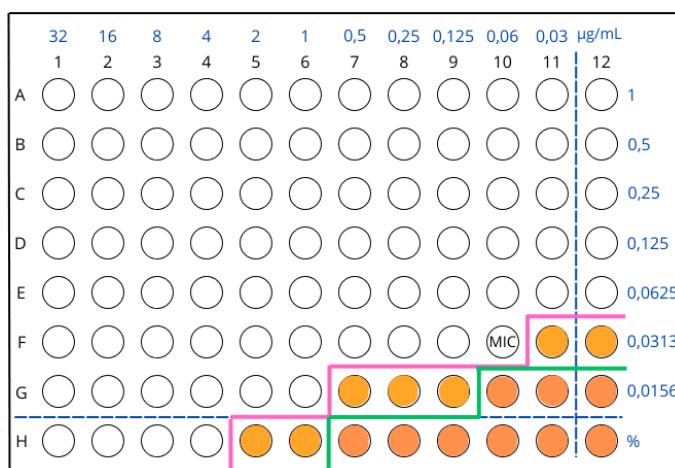


Figura 11 - Sobreposição das microplacas em concordância do OE de *C. flexuosus*

À concentração de 0,0625 µg/mL de clotrimazol e à concentração de 0,0313 % (V/V) de OE de *C. flexuosus* os dois ativos impedem o crescimento da *C. albicans* tanto no ensaio 11 como no ensaio 12, desta forma, serão as concentrações utilizadas no protocolo que se segue dos biofilmes, que tem o intuito de perceber o impacto na formação dos mesmos.

4.2 Impacto na formação de biofilmes

Os ensaios tiveram a duração de 4 dias consecutivos, ao quarto dia era feita a leitura visual e a leitura espectrofotométrica das microplacas, em Anexo. Cada microplaca só estava válida se no controlo positivo se observasse crescimento (alguma turbidez no poço) e se o controlo negativo tivesse os poços límpidos, sendo que, todos os ensaios efetuados estavam válidos.

Foram efetuados 9 ensaios, tal como específica a tabela seguinte:

Tabela 10 - Número de ensaios realizados por concentração

| Ensaio | Número de ensaios |
|--|-------------------|
| Clotrimazol 0,0625 µg/mL + <i>C. flexuosus</i> 0,0313% (V/V) | 5 |
| Clotrimazol 0,625 µg/mL + <i>C. flexuosus</i> 0,313% (V/V) | 4 |

Relativamente aos ensaios cujo as concentrações dos ativos foram **0,0625 µg/mL de clotrimazol e 0,0313% (V/V) de OE de *C. flexuosus*** e tendo em conta as leituras das absorvâncias, os resultados foram os seguintes, aplicando o cálculo mencionado anteriormente de uma forma repartida:

Tabela 11 - Percentagens de formação de biofilme em cada ensaio, tendo em conta o clotrimazol, o OE, o mix e o controlo positivo à concentração de 0,0625µg/mL de clotrimazol e 0,0313% (V/V) de OE

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ | |
|--------|--|--|--------------------------|---------|
| 1 | 1,145 | Clotrimazol | 0,998 | 87,12% |
| | | OE | 1,493 | 130,35% |
| | | Mix | 1,263 | 110,26% |
| 2 | 3,723 | Clotrimazol | 2,275 | 61,11% |
| | | OE | 1,918 | 51,51% |
| | | Mix | 2,820 | 75,76% |
| 3 | 1,110 | Clotrimazol | 0,873 | 78,60% |
| | | OE | 0,950 | 85,59% |
| | | Mix | 0,773 | 69,59% |
| 4 | 0,6325 | Clotrimazol | 0,583 | 92,09% |
| | | OE | 0,705 | 111,46% |
| | | Mix | 0,600 | 94,86% |
| 5 | 0,5675 | Clotrimazol | 0,560 | 98,68% |
| | | OE | 0,583 | 102,64% |
| | | Mix | 0,553 | 97,36% |

Posteriormente, foi calculada a média e o desvio-padrão para analisar a dispersão dos dados e concluir qual o conjunto de três ensaios tem os melhores resultados. De forma a contemplar todos os casos possíveis, foram feitas combinações de 3 em 3 ensaios, sem repetição, como mostra a tabela seguinte:

Tabela 12 - Médias e desvios padrão das percentagens de formação de biofilme em combinações de 3 ensaios à concentração de 0,0625µg/mL de clotrimazol e 0,0313% (V/V) de OE

| Combinação dos ensaios | Reagentes | Média dos valores $\frac{Y}{X} \times 100$ | Desvio Padrão dos valores $\frac{Y}{X} \times 100$ |
|------------------------|-------------|--|--|
| 1+2+3 | Clotrimazol | 75,61 % | 13,26 % |
| | OE | 89,15 % | 39,54 % |
| | Mix | 85,20 % | 21,92 % |
| 1+2+4 | Clotrimazol | 80,11 % | 16,64 % |
| | OE | 97,77 % | 41,16 % |
| | Mix | 93,63 % | 17,29 % |
| 1+2+5 | Clotrimazol | 82,30 % | 19,24 % |
| | OE | 94,83 % | 39,99 % |
| | Mix | 94,46 % | 17,43 % |
| 1+3+4 | Clotrimazol | 85,94 % | 6,82 % |
| | OE | 109,13 % | 22,47 % |
| | Mix | 91,57 % | 20,53 % |
| 1+3+5 | Clotrimazol | 88,13 % | 10,06 % |
| | OE | 106,19 % | 22,59 % |
| | Mix | 92,40 % | 20,78 % |
| 1+4+5 | Clotrimazol | 92,63 % | 5,80 % |
| | OE | 114,82 % | 14,15 % |
| | Mix | 100,83 % | 8,27 % |
| 2+3+4 | Clotrimazol | 77,27 % | 15,53 % |
| | OE | 82,85 % | 30,07 % |
| | Mix | 80,07 % | 13,17 % |
| 2+3+5 | Clotrimazol | 79,47 % | 18,80 % |
| | OE | 79,91 % | 26,03 % |
| | Mix | 80,90 % | 14,58 % |

| | | | |
|-------|-------------|---------|---------|
| 2+4+5 | Clotrimazol | 83,96 % | 20,06 % |
| | OE | 88,54 % | 32,37 % |
| | Mix | 89,32 % | 11,82 % |
| 3+4+5 | Clotrimazol | 89,79 % | 10,23 % |
| | OE | 99,90 % | 13,16 % |
| | Mix | 87,27 % | 15,36 % |

Posto isto, e analisando os resultados da tabela acima, a combinação de 3 ensaios que mostra menores desvios padrões e médias mais concisas é a combinação dos ensaios 3, 4 e 5.

Analisando a combinação dos ensaios 3, 4 e 5 individualmente:

Tabela 13 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 3

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ |
|--------|--|--|--------------------------|
| 3 | 1,110 | Clotrimazol | 0,873 |
| | | OE | 0,950 |
| | | Mix | 0,773 |
| | | | 78,60% |
| | | | 85,59% |
| | | | 69,59% |

Como mostra a Tabela 13, no ensaio número 3, os poços que continham tratamento com clotrimazol, permitiram a formação de biofilme em 78,60% em relação ao controlo positivo; os poços com óleo essencial permitiram a formação do biofilme em 85,59%; os poços com os dois reagentes (mix) permitiram a formação de biofilme em 69,59%. Estabelecendo uma ordem decrescente, os poços que contêm apenas óleo essencial têm menor impacto na formação de biofilmes comparativamente com os poços que contêm apenas clotrimazol e consequentemente com os poços que contêm o mix. (OE > clotrimazol > Mix) Assim sendo, o óleo essencial por si só não permite controlar tão eficazmente o crescimento de biofilme, não tendo isoladamente grande ação antifúngica. O clotrimazol apresenta uma maior capacidade em impedir a formação do biofilme em relação ao óleo essencial, no entanto, é realmente o mix que maior impacto tem na formação do biofilme (permite formar biofilme em 69,59%, ou seja, impede formar biofilme em 30,41%).

Tabela 14 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 4

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ |
|--------|--|--|--------------------------|
| 4 | 0,6325 | Clotrimazol | 0,583 |
| | | OE | 0,705 |
| | | Mix | 0,600 |
| | | | 92,09% |
| | | | 111,46% |
| | | | 94,86% |

Como mostra a Tabela 14, no ensaio número 4, os poços que continham tratamento com clotrimazol, permitiram a formação de biofilme em 92,09% em relação ao controlo positivo; os poços com óleo essencial permitiram a formação do biofilme em 111,46%; os poços com os dois reagentes (mix) permitiram a formação de biofilme em 94,86%. Estabelecendo uma ordem decrescente, os poços que contêm óleo essencial têm menor impacto na formação de biofilmes comparativamente aos poços que contêm o mix e consequentemente aos poços que contêm clotrimazol. (OE > Mix > clotrimazol) Assim sendo, o óleo essencial não só volta a ser o ativo que

isoladamente tem menor capacidade de impedir a formação de biofilme, como também, potencia a formação do biofilme comparativamente a um controlo positivo (100%), que é constituído apenas por *C. albicans* e não tem qualquer tratamento. Em contrapartida e aquém do resultado esperado é o clotrimazol que isoladamente mais impede a formação do biofilme, no entanto, com percentagens de formação de biofilme muito semelhantes às do mix.

Tabela 15 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 5

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ | |
|--------|--|--|--------------------------|---------|
| 5 | 0,5675 | Clotrimazol | 0,560 | 98,68% |
| | | OE | 0,583 | 102,64% |
| | | Mix | 0,553 | 97,36% |

Como mostra a Tabela 15, no ensaio número 5, os poços que continham o clotrimazol permitiram a formação de biofilme em 98,68%; os poços com óleo essencial permitiram a formação do biofilme em 102,64%; os poços com os dois reagentes (mix) permitiram a formação de biofilme em 97,36%. Estabelecendo uma ordem decrescente, os poços que contêm óleo essencial têm menor impacto na formação de biofilmes comparativamente aos poços que contêm o clotrimazol e consequentemente aos poços que contêm o mix. (OE > clotrimazol > Mix) Assim sendo, o óleo essencial, à vista dos outros ensaios, volta a ser o reagente que isoladamente tem menor capacidade de impedir a formação de biofilme. Inclusive, os poços com óleo essencial potenciaram o crescimento do biofilme em relação ao controlo positivo, uma vez que apresenta percentagens de crescimento superiores às do controlo positivo (100%). Do mesmo modo que o ensaio 3, o mix apresenta maior capacidade em impedir a formação do biofilme, no entanto, em percentagens menos promissoras do que as do ensaio 3.

Relativamente aos ensaios cujo as concentrações dos ativos estavam 10 vezes mais concentradas (**0,625 µg/mL de clotrimazol e 0,313% (V/V) de OE de *C. flexuosus***) e tendo em conta as leituras das absorvâncias, os resultados foram os seguintes, aplicando o cálculo repartido:

Tabela 16 - Percentagens de formação de biofilme em cada ensaio, tendo em conta o clotrimazol, o OE, o mix e o controlo positivo à concentração de 0,625µg/mL de clotrimazol e 0,313% (V/V) de OE

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ | |
|--------|--|--|--------------------------|---------|
| 6 | 0,668 | Clotrimazol | 0,560 | 83,90% |
| | | OE | 0,563 | 84,27% |
| | | Mix | 0,563 | 84,27% |
| 7 | 0,585 | Clotrimazol | 0,740 | 126,50% |
| | | OE | 0,670 | 114,53% |
| | | Mix | 0,640 | 109,40% |
| 8 | 0,730 | Clotrimazol | 0,720 | 98,63% |
| | | OE | 0,773 | 105,82% |
| | | Mix | 0,775 | 106,16% |
| 9 | 0,525 | Clotrimazol | 0,498 | 94,76% |
| | | OE | 0,485 | 92,38% |
| | | Mix | 0,508 | 96,67% |

Posteriormente, foi calculada a média e o desvio-padrão para analisar a dispersão dos dados e concluir qual o conjunto de três ensaios tem os melhores resultados. De forma a contemplar todos os casos possíveis, foram feitas combinações de 3 em 3 ensaios, sem repetição, como mostra a tabela seguinte:

Tabela 17 - Médias e desvios padrão das percentagens de formação de biofilme em combinações de 3 ensaios à concentração de 0,625µg/mL de clotrimazol e 0,313% (V/V) de OE

| Combinação dos ensaios | Reagentes | Média dos valores $\frac{Y}{X} \times 100$ | Desvio Padrão dos valores $\frac{Y}{X} \times 100$ |
|------------------------|-------------|--|--|
| 6+7+8 | Clotrimazol | 103,01 % | 21,63 % |
| | OE | 101,54 % | 15,57 % |
| | Mix | 99,95 % | 13,67 % |
| 6+7+9 | Clotrimazol | 101,72 % | 22,14 % |
| | OE | 97,06 % | 15,66 % |
| | Mix | 96,78 % | 12,57 % |
| 6+8+9 | Clotrimazol | 92,43 % | 7,64 % |
| | OE | 94,16 % | 10,89 % |
| | Mix | 95,70 % | 10,98 % |
| 7+8+9 | Clotrimazol | 106,63 % | 17,31 % |
| | OE | 104,24 % | 11,16 % |
| | Mix | 104,08 % | 6,62 % |

Posto isto, e analisando os resultados da tabela acima, a combinação de 3 ensaios que mostra menores desvios padrões e médias mais concisas é a combinação dos ensaios 6, 8 e 9.

Analisando cada um dos ensaios:

Tabela 18 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 6

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ |
|--------|--|--|--------------------------|
| 6 | 0,668 | Clotrimazol | 83,90% |
| | | OE | 84,27% |
| | | Mix | 84,27% |

Como mostra a Tabela 18, no ensaio número 6, os poços que continham o clotrimazol permitiram a formação de biofilme em 83,90%; os poços com óleo essencial e os poços que continham os dois reagentes (mix) permitiram igualmente a formação do biofilme em 84,27%. Estabelecendo uma ordem decrescente, os poços que contêm apenas óleo essencial e o mix têm menor impacto na formação de biofilmes comparativamente com os poços que contêm o clotrimazol (OE = Mix > clotrimazol). Ao contrário do expectável, os poços com clotrimazol isoladamente combateram melhor a formação de biofilmes comparativamente com os poços do mix, onde se esperavam percentagens de formação de biofilmes inferiores às dos clotrimazol.

Tabela 19 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 8

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ |
|--------|--|--|--------------------------|
| 8 | 0,730 | Clotrimazol | 98,63% |
| | | OE | 105,82% |
| | | Mix | 106,16% |

Como mostra a Tabela 19, no ensaio número 8, os poços que continham o clotrimazol permitiram a formação de biofilme em 98,63%; os poços com óleo essencial permitiram a formação do biofilme em 105,82%; os poços com os dois reagentes (mix) permitiram a formação de biofilme em 106,16%. Estabelecendo uma ordem decrescente, os poços que contêm o mix têm menor impacto na formação de biofilmes comparativamente aos poços que contêm o óleo essencial e consequentemente aos poços que contêm o clotrimazol (Mix > OE > clotrimazol), estando perante resultados pouco promissores, uma vez que o mix, a associação de interesse, é o que menos impede a formação de biofilme e consequentemente a recorrência da infeção por *C. albicans*.

Tabela 20 - Percentagens de formação de biofilme do ensaio 9

| Ensaio | $X = \left(\frac{Abs \oplus_1 + Abs \oplus_2 + Abs \oplus_3 + Abs \oplus_4}{4} \right) \times 10$ | $Y = \left(\frac{Abs_1 + Abs_2 + Abs_3 + Abs_4}{4} \right) \times 10$ | $\frac{Y}{X} \times 100$ |
|--------|--|--|--------------------------|
| 9 | 0,525 | Clotrimazol | 94,76% |
| | | OE | 92,38% |
| | | Mix | 96,67% |

Como mostra a Tabela 20, no ensaio número 9, os poços que continham tratamento com clotrimazol, permitiram a formação de biofilme em 94,76% em relação ao controlo positivo; os poços com óleo essencial permitiram a formação do biofilme em 92,38%; os poços com os dois reagentes (mix) permitiram a formação de biofilme em 96,67%. Estabelecendo uma ordem decrescente, os poços que contêm o mix têm menor impacto na formação de biofilmes comparativamente com os poços que contêm clotrimazol e consequentemente com os poços que contêm OE. (Mix > clotrimazol > OE) Ao contrário de todos os outros ensaios, o óleo essencial apresenta maior capacidade em impedir a formação de biofilme. Por sua vez, o mix, tal como no ensaio 8, apresenta menor capacidade em impedir a formação de biofilme.

4.2.1 Comparação dos ensaios com diferentes concentrações

Tabela 21 - Comparação da ordenação por percentagem de formação de biofilme

| Concentrações | Ensaio | Ordenação formação biofilmes |
|--|--------|------------------------------|
| 0,0625 µg/mL de clotrimazol 0,0313% (V/V) de OE | 3 | OE > clotrimazol > Mix |
| | 4 | OE > Mix > clotrimazol |
| | 5 | OE > clotrimazol > Mix |
| 0,625 µg/mL de clotrimazol 0,313% (V/V) de OE | 6 | OE = Mix > clotrimazol |
| | 8 | Mix > OE > clotrimazol |
| | 9 | Mix > clotrimazol > OE |

Às menores concentrações, que por sua vez, são as mesmas concentrações retiradas diretamente do primeiro protocolo (**0,0625 µg/mL de clotrimazol e 0,0313% (V/V) de OE**), o espectável era se obterem resultados como no ensaio 3 e 5, onde é o mix, a combinação do OE com o clotrimazol, que mais contribui para impedir a formação do biofilme de *C. albicans*, seguido do clotrimazol, um princípio ativo muito utilizado em várias formulações farmacêuticas no combate a infeções, e por último o OE.

No entanto, com concentrações 10 vezes superiores (**0,625 µg/mL de clotrimazol e 0,313% (V/V) de OE**), era também espectável que o mix continuasse a ser a combinação onde o OE potenciava o efeito do clotrimazol no impedimento da formação de biofilmes e da sua recorrência, contudo, o mesmo não aconteceu.

A elevadas concentrações os recetores de *Candida albicans* podem saturar e não permitir mais ligações dos princípios ativos ao microrganismo, onde elevadas concentrações dos princípios não demonstram necessariamente maior impacto na formação dos biofilmes, podendo mesmo desencadear efeitos de resistência, contribuindo negativamente no crescimento de biofilmes.

Ainda, os biofilmes como comportamentos de população e tendo em conta as suas matrizes extracelulares complexas demonstram vantagens adaptativas contra os agentes antifúngicos e as condições ambientais adversas(27), sendo que a concentrações mais elevadas os biofilmes podem ativar mecanismos de defesa que acabam por os proteger das agressões externas.

Num estudo publicado sobre a atividade antimicrobiana do óleo essencial *C. flexuosus* contra o biofilme de *C. albicans* e de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) demonstrou que a concentração de 0,3125% (V/V) de óleo essencial era suficiente para reduzir em 85% a viabilidade celular. O estudo publicado foi realizado apenas com um ativo, o óleo essencial, não permitindo comparar o impacto da formação de biofilme do OE, do antifúngico e da combinação dos dois ativos. De notar que o biofilme para além de ser formado por colónias de *C. albicans* também era formado por colónias de *S. aureus*.(18)

Comparativamente com o estudo conduzido neste presente trabalho, à concentração de 0,313% (V/V) de óleo essencial, os ensaios 6, 8 e 9 permitiram, em média, a formação do biofilme em 94,16%, tendo em conta as percentagens de formação de biofilme tratado com óleo essencial em cada um dos ensaios 84,27%, 105,82% e 92,38%, respetivamente.

Ou seja, no presente estudo permite-se a formação do biofilme em 94,16% e no estudo publicado impede-se a formação do biofilme em 85%, estando perante um cenário contraditório, no entanto, há que ressaltar que o biofilme do estudo publicado era formado por colónias de *S. aureus* e *C. albicans*.

5 Conclusão

A presente investigação proporcionou-me uma importante oportunidade de aplicar e aprofundar conhecimentos teóricos e práticos obtidos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, focando-se em temas que me suscitam bastante interesse.

Os primeiros ensaios realizados, que avaliaram a interação do clotrimazol com os óleos essenciais, através do índice de concentração inibitória fracionada, mostraram resultados diversificados, com especial predominância de relações de indiferença. Um ensaio com o óleo essencial *C. citratus* a 0,25% (V/V) e outro ensaio com o óleo essencial *C. winterianus* a 2% (V/V) demonstraram relação de sinergia, no entanto, não se obtiveram mais resultados concordantes dos mesmos.

Apenas com o óleo essencial *C. flexuosus* se obtiveram dois resultados concordantes próximos da sinergia, ainda que o índice FIC fosse considerado indiferente, sugerindo que o *C. flexuosus* fosse o óleo essencial mais promissor para esta combinação.

Posteriormente, nos ensaios que avaliaram o impacto na formação de biofilmes, era de esperar que fosse o mix, a combinação do antifúngico sintético e do antifúngico natural, a inibir a formação do biofilme.

Nas menores concentrações e tendo em conta os ensaios com menor disparidade de médias e desvios padrão, o mix assumiu esse papel em dois dos três ensaios destacados, fazendo do óleo essencial um ótimo aliado do clotrimazol a inibir os fatores de virulência associados a infeções por *C. albicans*.

Contudo, a concentrações mais elevadas não se observou o mesmo padrão. Tendo em conta também os ensaios com menor disparidade de médias e desvios padrão, o mix não assumiu esse papel em nenhum dos três ensaios.

Tendo em conta a estrutura complexa do biofilme de *Candida albicans*, a concentrações 10 vezes superiores os compostos podem saturar os sítios-alvo de ligação dos princípios ativos ao microrganismo, onde o aumento das concentrações não implica um aumento de eficácia, podendo se desencadear efeitos de resistência, prejudicando a eficácia da combinação.

Para rematar, considero o estudo um ótimo contributo para pesquisas futuras onde se podem aprimorar as interações entre o clotrimazol e os diferentes óleos essenciais e consequentemente otimizar concentrações. Posto isto, transportar a melhor combinação de clotrimazol e óleo essencial de *C. flexuosus* no combate à *C. albicans* para uma formulação tópica que incorpore estes compostos, pode ser bastante benéfico no tratamento e prevenção de infeções fúngicas.

Capítulo II – Experiência profissionalizante na vertente de Farmácia Hospitalar

1 Introdução

A Farmácia Hospitalar (FH) é uma das áreas profissionais de atuação dos Farmacêuticos. Os Serviços Farmacêuticos (SF) dos hospitais desempenham diversas funções, das quais a gestão e aprovisionamento de produtos farmacêuticos, desde a sua seleção, aquisição, armazenamento e distribuição, a produção de medicamentos, a participação em Comissões Técnicas e em Ensaio Clínicos, a prestação de Cuidados Farmacêuticos e da Informação de Medicamentos, entre outras.(28)

O Centro Hospitalar Tondela-Viseu (CHTV), EPE é constituído pela unidade Hospital São Teotónio em Viseu e pelo Hospital Cândido de Figueiredo em Tondela. No momento atual, após ter passado a Unidade Local de Saúde (ULS), integra ainda todos os Centros de Saúde pertencentes ao Agrupamento de Centros de Saúde Dão-Lafões, três concelhos pertencentes ao Agrupamento de Centros de Saúde Douro-Sul e a ULS da Guarda, em caso de referenciação secundária.(29)

Nos SF do CHTV estão implementadas as Normas ISO (*International Organization for Standardization*) 9001:2015, garantindo assim um comprometimento com a qualidade.

O meu estágio em FH descrito neste relatório de estágio foi realizado no Hospital S. Teotónio do Centro Hospitalar Tondela-Viseu, EPE, atualmente designado por ULS Viseu Dão-Lafões.(29) A sua duração foi de 8 semanas, com início a 4 de março de 2024 e com término a 26 de abril de 2024, das quais, 3 semanas foram passadas no setor de UCPC (Unidade Centralizada de Preparação de Citotóxicos), outras 3 semanas no Ambulatório e as restantes 2 semanas foram divididas pelos setores em falta.

2 Planificação dos Serviços Farmacêuticos

2.1 Localização dos Serviços Farmacêuticos

Os SF localizam-se no piso 1 do hospital, numa zona de fácil acesso aos utentes, perto do Hospital de Dia.

Os utentes têm acesso internamente ao ambulatório. Próximo a este, encontra-se a área de desinfecção de material, o armazém do ambulatório, a sala de reuniões, a área de tratamento de água e a distribuição tradicional.

Num outro corredor também próximo seguem-se os Administrativos, o gabinete da Diretora, a sala dos Técnicos e as casas de banho. Posteriormente, a sala do material de limpeza, e ainda, surge a área da farmacotecnia com o laboratório dos não-estéreis e os laboratórios dos estéreis, com o apoio da sala branca. Ao fundo do corredor aparece a área da reserva e da esterilização.

No último corredor, está a reembalagem, a câmara frigorífica, o armazém dos psicotrópicos, estupefacientes e benzodiazepinas, a sala da dose unitária, a distribuição da dose unitária, a sala dos ensaios clínicos, a sala de trabalho, a sala de apoio à UCPC, a sala de receção e encomendas e a sala de pessoal. Por último, e com acesso exterior está a zona de receção, seguido do armazém geral.

2.2 Recursos Humanos

Os Serviços Farmacêuticos são compostos por uma equipa de 15 Farmacêuticos, 4 Farmacêuticos residentes, 23 Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica (TSDT), 2 Assistentes Técnicos e 11 Assistentes Operacionais (AO). Durante o estágio tive a oportunidade de contactar com todos os profissionais que integram os Serviços Farmacêuticos.

2.3 Sistema Informático

O Sistema Informático utilizado amplamente pelos SF é o Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento (SGICM), pertencente à *Glintt*. É uma ferramenta essencial na prática farmacêutica, uma vez que, permite integrar os diferentes serviços hospitalares e facilitar a comunicação entre os demais profissionais de saúde. Proporciona maior eficácia e segurança em todo o circuito do medicamento, sendo uma mais-valia para o utente e para o seu bem-estar.(30)

3 Organização e Gestão dos Serviços Farmacêuticos

3.1 Aprovisionamento e Critérios de aquisição

O setor de Gestão dos SF em conjunto com o Setor de Aprovisionamento e Logística do CHTV asseguram a permanência de *stocks* dos produtos farmacêuticos necessários à prática da atividade farmacêutica hospitalar.

Existem procedimentos de aquisição de medicamentos distintos, que passo a enumerar:

- Concursos públicos com estabelecimento de Acordos – Quadro

Este é o método mais usual pelos SF para proceder à compra de medicamentos.

Os Acordos – Quadro são estabelecidos pelos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS) para adquirir medicamentos a preço base, através do Catálogo de Aprovisionamento Público de Saúde do SPMS, selecionando-se os fornecedores com as condições mais vantajosas consoante o critério de adjudicação definido.

- Hemoderivados

Nos hemoderivados houve uma agregação centralizada das compras por parte do SPMS, e acaba por funcionar de igual forma aos Acordos – Quadro. As instituições emitem a nota de encomenda aos fornecedores adjudicados na agregação centralizada.

- Procedimentos internos da instituição

Quando os medicamentos que se pretendem adquirir não constam no Catálogo de Aprovisionamento Público de Saúde, então estabelecem-se ajustes diretos, concursos limitados ou consultas prévias.⁽³¹⁾

No CHTV, a aquisição de medicamentos é da responsabilidade de duas Farmacêuticas escaladas permanentemente para o setor de Gestão e da Diretora dos SF.

Pelos vários setores dos SF, especialmente no setor de Distribuição Tradicional, os Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica (TSDT) vão anotando nas agendas os produtos que à data apresentam um *stock* reduzido. No Ambulatório, os Farmacêuticos possuem uma agenda própria onde anotam os medicamentos com baixo *stock* e, posteriormente, no fim do dia transportam os pedidos de compra para as agendas principais que se encontram à responsabilidade das Farmacêuticas do setor de Gestão.

Posto isto, diariamente, as Farmacêuticas responsáveis pelo setor de Gestão consultam as agendas e têm de averiguar a necessidade da compra dos produtos, tendo em conta as previsões de

consumo anual³, as previsões de consumo mensal, as compras efetuadas anteriormente, os *stocks* ainda existentes, entre outros fatores. Através do SGICM é emitida uma nota de encomenda para o fornecedor, que também é guardada até receção da encomenda.

A abertura de novos processos para emissão de nota de encomenda tem em conta a quantidade total adjudicada em concurso e a quantidade encomendada em concurso até à data. Quando se atinge a quantidade total adjudicada em concurso faz-se o pedido de abertura de novos processos. Desta forma, o Setor de Aprovisionamento e Logística consulta o Catálogo e dá o parecer aos SF, que propõem a adjudicação do fornecedor que apresenta a proposta economicamente mais favorável. Podem existir vários processos abertos de compra de fornecedores diferentes, no entanto, adquire-se do fornecedor economicamente mais vantajoso.

Para pedidos especiais entra-se diretamente em contacto telefónico com a *Alliance Healthcare* e desta forma, não é emitida automaticamente uma nota de encomenda, uma vez que, o pedido não é efetuado no SGICM. Após receção da encomenda, confirmam-se as faturas e gera-se, então, a nota de encomenda.

Durante a permanência no setor de Gestão tive a oportunidade de acompanhar uma Farmacêutica na abertura de um novo processo para emissão de nota de encomenda, na conferência da necessidade de compra de novos medicamentos consoante o anotado nas agendas e o respetivo pedido de compra. Ainda, me foram explicados os vários procedimentos de aquisição de medicamentos.

3.2 Receção, Conferência de produtos adquiridos

A receção de medicamentos, dispositivos médicos, reagentes e de outros produtos de saúde é da responsabilidade de um TSDT e auxiliada por um AO.

No CHTV as encomendas chegam pelo acesso externo dos SF, onde um AO aborda a transportadora, confere o destinatário das encomendas, abre as embalagens e separa os medicamentos por DCI (Denominação Comum Internacional).

Posteriormente, o TSDT confere todas as unidades rececionadas através da Guia de Remessa ou da Guia de Transporte ou da Fatura. É importante conferir sempre os fármacos, as dosagens, o número de unidades por caixa, a quantidade de caixas, o lote e a validade. (32)

Depois de conferida a medicação, o TSDT vai à sala da Receção e Encomendas onde existem três separadores denominados de “Por Rececionar”, “Rececionado” e “Duplicado” que o ajudam a dar seguimento ao seu trabalho de uma forma sequencial.

³ As previsões de consumo anual são calculadas por volta de setembro de cada ano, tendo em conta os consumos sazonais. (Como exemplo, partindo do princípio que normalmente é no inverno que há maior necessidade de recorrer a antibióticos.)

No separador “Por Rececionar” existem as notas de encomenda, previamente emitidas pelas Farmacêuticas responsáveis pelo setor de Gestão, que aguardam receção das encomendas.

Assim, o TSDT cruza as guias ou faturas com a nota de encomenda através de um número comum: no cruzamento da nota de encomenda com a fatura agrafa-se a nota de encomenda à fatura original e os duplicados da fatura são arquivados no separador “Duplicado”; no cruzamento da nota de encomenda com as guias, estas ficam temporariamente apensas até a receção da fatura. Através do sistema informático SGICM dá-se a entrada da medicação por unidades. Informações como o número da encomenda, data de entrada, tipo de documento, data do documento, lote, validade, quantidade, entre outros, são importantes no momento da receção. Após a receção pelo SGICM arquivam-se os cruzamentos no separador “Rececionado”. Ainda, numa folha de *Excel*, o TSDT faz um visto na medicação rececionada, assim, permite ao Assistente Técnico conferir a medicação que está em falta rececionar e reclamar a ausência da encomenda.

Frequentemente, é rececionada medicação da cadeia de frio (2-8°C) acompanhada do *datalogger*, um dispositivo que controla a temperatura no processo de transporte da medicação. O TSDT verifica se o *datalogger* apresenta um visto positivo (temperatura manteve-se dentro dos parâmetros durante todo o transporte). Caso apresente uma cruz, então é colocado em quarentena até reconfirmar a viabilidade de utilização pelo respetivo laboratório.

A receção de matérias-primas implica que estas venham acompanhadas de Boletim de Análise e a receção de Hemoderivados implica que estes venham acompanhados do CAUL (Certificado de Autorização de Utilização de Lote).(32)

Em caso de necessidade, o CHTV pode optar por pedir empréstimos a vários Hospitais, nomeadamente ao Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (CHUC), recentemente denominado de ULS Coimbra. Posto isto, o documento é arquivado em pasta própria para posterior pagamento.

Por último, no Setor de Receção e Encomendas também se emitem as etiquetas que identificam a medicação. As etiquetas são coladas nos *blisters*, atrás de cada medicamento e contêm informação da substância ativa, da dose, do lote e da validade. Todas as etiquetas emitidas são registadas em documentação manual.

No estágio tive oportunidade de acompanhar a receção da medicação e a sua conferência com base nas guias e faturas que acompanham a medicação. Especialmente, observei a receção de medicação de frio em que o *datalogger* apresentava o visto positivo e a receção de medicação emprestada pelo CHUC. Ainda, fiz o cruzamento da documentação e a sua receção no SGICM.

3.3 Armazenamento

No CHTV, o AO com a supervisão do TSDT armazena a medicação tendo em atenção as validades e os números de lote. Segue-se o critério FEFO – “*First Expired, First Out*”, que tive oportunidade

de pôr em prática, onde na parte da frente da prateleira fica sempre a medicação com validade mais curta. Cada prateleira tem identificação da substância ativa e respetiva dosagem, como mostra a imagem que se segue, sendo que todo o seguimento das prateleiras encontra-se por ordem alfabética de DCI.

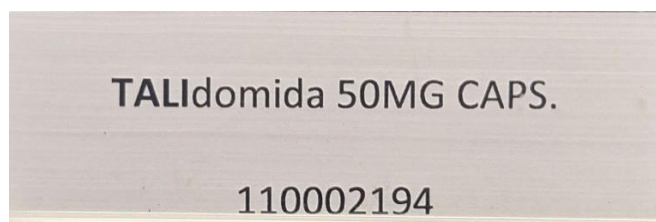


Figura 12 - Exemplo de etiqueta que respeita a nomenclatura LASA (Look-Alike Sound-Alike)

O armazém geral dos SF apresenta temperatura ambiente de $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ e humidade relativa inferior a 60%. No armazém há segregação entre os antibióticos, os antissépticos, as dietas entéricas, o material penso, os injetáveis de grande volume, as bolsas nutritivas e, ainda, parte da medicação que não está armazenada na Distribuição Tradicional.

No que concerne à medicação termolábil, esta é armazenada em câmara frigorífica com temperatura compreendida entre 2°C a 8°C . Os SF apresentam uma câmara frigorífica onde armazenam a maioria da medicação. No Ambulatório e no Armazém do Ambulatório também existem frigoríficos para armazenamento da medicação de frio que frequentemente é utilizada neste setor.

A medicação citotóxica é armazenada na sala de apoio à UCPC em armário próprio e sinalizado com o símbolo de risco biológico. Próximo à sala de apoio à UCPC existem dois frigoríficos para armazenamento da medicação citotóxica da cadeia de frio, devidamente identificadas.

Também, os estupefacientes, psicotrópicos e benzodiazepinas são armazenados em uma sala com acesso restrito, com atenção especial para os estupefacientes e psicotrópicos que se encontram dentro de um cofre.(32)

4 Distribuição

4.1 Distribuição Tradicional

O setor de Distribuição Tradicional do CHTV complementa o setor de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária, sempre que não é viável, neste último, se proceder à distribuição da medicação.(33)

A sala de Distribuição Tradicional é constituída centralmente por várias prateleiras onde a medicação está organizada por ordem alfabética de substância ativa. À parte, numa zona mais reservada, e também pela mesma ordem, existem prateleiras segregadas que comportam benzodiazepinas, antídotos, colírios e antibióticos.

Diversos serviços do Hospital têm um *stock* semanal de enfermaria pré-determinado pelo enfermeiro-chefe de cada serviço e pelos SF. Deste modo, foi elaborado um mapa semanal de atendimento, de forma a estabelecer quais serviços são satisfeitos em determinado dia da semana. Assim, antes do dia pré-estabelecido para cada serviço, o enfermeiro-chefe procede ao pedido informático da medicação com *stock* reduzido de momento na enfermaria. A validação dos pedidos efetuados é feita por um Farmacêutico.

No setor de Distribuição Tradicional, de manhã recebem-se telefonemas dos vários serviços para se agendar a hora em que a medicação pretendida tem de estar no próprio serviço. Conforme o agendamento, o TSDT procede à preparação da medicação, para ser recolhida por um AO dos demais serviços. Os débitos de consumos são posteriormente feitos a cada serviço.

Neste setor tive a oportunidade de acompanhar a validação dos pedidos e individualmente procedi à preparação dos carros com as quantidades pedidas pelo enfermeiro-chefe de cada serviço. Para tal, era impressa a listagem de todas as quantidades de medicamentos necessárias repor de cada serviço. Posteriormente, era tudo conferido uma segunda vez por um TSDT de forma a evitar erros.

4.1.1 Reposição por *stocks* nivelados

No Bloco Operatório a reposição é feita por *stocks* nivelados, ou seja, é estabelecido um *stock* máximo de cada medicação para o serviço.⁽³³⁾ Na Distribuição Tradicional, todas as terças e quintas o carro do bloco operatório chega aos SF, é higienizado e repostado por um TSDT, segundo o *stock* pré-definido. Procede-se à contagem das unidades que cada gaveta do carro tem e adicionam-se as unidades em falta. À semelhança do mencionado anteriormente, também é feito o débito de consumo ao serviço e o carro é transportado por um AO.

Observei um TSDT na contagem das quantidades que constavam no carro do bloco operatório e a respetiva reposição das unidades em falta consoante o *stock* máximo estabelecido. O processo foi conferido posteriormente por outro TSDT, uma vez que, é um processo mais suscetível a erros, por ser elaborado manualmente.

4.1.2 Reposição dos carros da Urgência Geral

Alternadamente dos dias de reposição do carro do Bloco Operatório, às segundas, quartas e sextas é feita a reposição dos carros da Urgência Geral. Neste caso, é um Farmacêutico e um TSDT que se deslocam a uma sala no serviço das Urgências, com acesso restrito. Nesta sala só entram profissionais dos SF, para proceder à reposição dos vários carros da Urgência. A sala é um pequeno armazém onde estão guardados medicamentos que habitualmente se utilizam na urgência.

Acompanhei uma Farmacêutica e uma TSDT na reposição de carros da Urgência, sendo repostos os carros da Área Médica, da Sala de Observações, da Pequena Cirurgia, da Sala das Pulseiras Verdes e Azuis, da Sala das Pulseiras Amarelas, da Sala de Emergência (Pulseiras Vermelhas) e da Unidade de Decisão Clínica.

4.2 Distribuição Individual Diária em Dose Unitária (DIDDU)

A DIDDU visa cumprir com as prescrições médicas, aumentando a segurança no uso do medicamento. A dispensa da medicação envolve a seleção cuidadosa dos medicamentos pelos SF, de forma a garantir que as doses unitárias prescritas chegam em conformidade até ao utente.(33)

No CHTV, a sala de Dose Unitária e a sala de Distribuição em Dose Unitária funcionam de forma sincronizada. Diariamente, de segunda a sexta-feira, é garantida a terapêutica aos utentes internados para um período de 24 horas. Nos fins de semana e feriados, a medicação é preparada para períodos no máximo de 48 horas, assegurando assim a continuidade da terapêutica.

Na sala de Dose Unitária, vários Farmacêuticos continuamente validam as prescrições médicas através do SGICM, tendo acoplado a si um papel ativo na revisão farmacoterapêutica. Desta forma, salvaguarda-se a adequação da terapêutica, da via de administração, da dosagem, da forma farmacêutica e da ausência de interações medicamentosas. No sistema informático SGICM aparecem os vários serviços hospitalares, com exceção da Pediatria que, ainda, é transcrita de documentação manual e validada posteriormente.

O Farmacêutico acessa os diferentes serviços e valida as prescrições pendentes, tendo em conta diferentes fatores:

- Durante a validação, o Farmacêutico direciona os medicamentos para o setor de Distribuição Tradicional, caso não sejam elegíveis para serem dispensados pelo DIDDU. Regra geral, grandes volumes, estupefacientes, psicotrópicos, material penso, multidoses, medicação SOS, inaladores e desinfetantes são alterados para Distribuição Tradicional. Também, nos serviços de UCIC (Unidade de Cuidados Intensivos Coronários), Obstetrícia, Pediatria e Cirurgia Pediátrica os medicamentos são todos alterados para Distribuição Tradicional, com exceção dos antibióticos. Ainda, na validação do serviço de Ortopedia, sempre que um utente tem prescrito metoclopramida, tramadol, ondasetron ou metamizol, estes também são alterados para Distribuição Tradicional, uma vez que os serviços têm *stock* destes fármacos. Em relação às alteradas, cabe aos TSDT gerarem os mapas das Alteradas antes das 10 horas, 12 horas e 14 horas e 30 minutos, uma vez que, a essas horas é enviada a medicação por um AO para os respetivos serviços.
- Quando são prescritos antibióticos e antifúngicos de reserva são acompanhados da devida justificação, como é o caso dos carbapenemos, dos aminoglicosídeos e da piperacilina com tazobactam;
- O Farmacêutico verifica se a dose prescrita está contemplada pelas dosagens existentes nos SF de forma a perfazer a dose prescrita. Na possibilidade de divisão de um comprimido com o dobro da dosagem ou na possibilidade de tomar dois comprimidos com metade da dosagem, a última opção é a preferencial.

Informações importantes sobre alergias medicamentosas dos utentes são destacadas na abertura da prescrição pendente de validação.

Na sala de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária existem dois equipamentos semiautomáticos que auxiliam na preparação da medicação dos utentes internados: o Kardex e o FDS (*Fast Dispensing System*). Na sala de Distribuição em Dose Unitária também existem pequenos módulos onde está armazenada alguma medicação por ordem alfabética de substância

ativa e, especificamente, existem módulos com algumas benzodiazepinas e antibióticos. Além disso, também estão expostos módulos com cassetes para onde é preparada a medicação de cada utente. As cassetes estão identificadas com o nome do utente, a respetiva cama, serviço clínico e número de processo.

Primeiramente, todos os dias é reposto o *stock* mínimo do Kardex, segundo os *stocks* existentes no fim do dia anterior. É ao Armazém Geral que os TSDT recorrem para ir buscar a medicação em falta no Kardex.

Entretanto começam a preparar os módulos por serviço, tendo em atenção os horários de saída da medicação de cada serviço, seguindo o mapa de produção geral do Kardex, do FDS e dos Externos (toda a medicação que não consta nem no Kardex nem no FDS).

Relativamente ao **Kardex**, no sistema informático associado ao equipamento vai se selecionando o serviço a executar de momento. Esta atividade é realizada por dois TSDT, um retira do Kardex a medicação solicitada no sistema informático e o outro coloca na cassette correspondente. No sistema informático consta a informação relativa ao nome do utente, ao número da cama e à substância ativa. O Kardex está programado de forma a dispensar a medicação por substância ativa, por exemplo, aquando da preparação do serviço de Ortopedia B, se 6 utentes desse serviço necessitarem de receber ondasetron, então, o Kardex indica quais as 6 cassetes onde se deve colocar o ondasetron e só posteriormente passa para um novo fármaco.

Simultaneamente, estão outros dois TSDT a operar com o **FDS**. De forma semelhante ao Kardex, no FDS também é necessário selecionar no sistema informático qual o serviço que se pretende iniciar. Pelo FDS temos acesso a medicação *desblisterada* reembalada, que sai por ordem do número das camas do serviço selecionado, posteriormente, a medicação é colocada devidamente nas cassetes dos módulos do serviço correspondente.

Quando cada compartimento do FDS fica sem a respetiva medicação, este é reposto com medicação previamente *desblisterada* pelos AO e na introdução do compartimento no FDS é feita a leitura ótica da caixa da medicação e confirmado o lote juntamente com a validade. O FDS atribui automaticamente a validade tendo em conta a informação da leitura ótica (o prazo de validade da embalagem original), atribuindo um prazo igual a vinte e cinco por cento da validade residual do medicamento até um máximo de seis meses. No fim de cada dia o FDS é higienizado com álcool a 70% nas partes metálicas e com água nas partes plásticas.

No que diz respeito aos **Externos**, a medicação é colocada nas cassetes por ordem de substância ativa, sendo cada serviço preparado isoladamente.

Por último, e após validação dos Farmacêuticos na sala da Dose Unitária, procede-se à preparação das **Alteradas**. Esta medicação é preparada tendo em conta os horários de saída mencionado anteriormente.

Antes do envio da terapêutica para cada serviço, é efetuado o consumo da mesma.

Na minha passagem por este setor acompanhei vários Farmacêuticos na validação das prescrições médicas, sendo que me foi explicado cada detalhe referente à validação. Ainda, procedi à preparação da medicação do serviço do UCA (Unidade de Cirurgia de Ambulatório) que acompanha os utentes durante 5 dias pós cirurgia. A folha de débito acompanha a medicação do utente. Na sala de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária operacionalizei tanto com o Kardex como com o FDS e auxiliei os TSDT a completar as cassetes dos demais serviços. Tive oportunidade de proceder à alteração da identificação das cassetes sempre que um utente mudava de serviço, ou tinha alta hospitalar ou, na pior das hipóteses, tinha falecido.

4.3 Distribuição a Doentes em Ambulatório

A Distribuição a Doentes em Ambulatório visa assegurar as necessidades de adesão à terapêutica a grupos de utentes com determinadas patologias que carecem de maior controlo e vigilância e cujo fármacos podem ter margem terapêutica estreita. A dispensa acaba por ser mais restrita tendo em conta os custos que estes medicamentos representam para o SNS (Serviço Nacional de Saúde), dado que, são 100 por cento comparticipados para os utentes.(28,34)

No Ambulatório a medicação está armazenada por ordem de substância ativa em prateleiras que cobrem as paredes da sala, de salientar que a medicação está organizada por patologia, em armários segregados. Ainda, a medicação da cadeia de frio está armazenada num frigorífico que se encontra nesta sala. De apoio ao Ambulatório existe, em frente, o Armazém do Ambulatório com mais três frigoríficos e outras prateleiras para armazenar a medicação que habitualmente é dispensada neste setor.

Para dispensa a nível hospitalar estão abrangidas as seguintes patologias com regimes excecionais de comparticipação: Acromegália, Artrite reumatóide / Espondilite anquilosante / Artrite psoriática / Artrite idiopática juvenil poliarticular / Psoríase em placas, Colite Ulcerosa, Deficiência da hormona de crescimento na criança / Síndrome de *Turner* / Perturbações do crescimento / Síndrome de *Prader-Willi* / Terapêutica de substituição em adultos, Doença de *Crohn*, Esclerose Lateral Amiotrófica, Esclerose Múltipla, Hepatite C, Fibrose quística, Hidradenite supurativa, Hiperfenilalaninemia, Ictiose, Infecção VIH (Vírus da Imunodeficiência Humana), Insuficiência Crónica e Transplantação Renal, Insuficiência Renal Crónica (IRC), Paraplegias espásticas familiares e ataxias cerebelosas hereditárias, Profilaxia de rejeição aguda do transplante hepático/cardíaco/renal alogénico e Síndrome de *Lennox-Gastaut*.(35)

No Ambulatório, duas Farmacêuticas dispensam a medicação aos utentes de segunda a sexta-feira das 9 horas às 18 horas. Os SF estão autorizados a dispensar a medicação para um período de tratamento de 1 mês, com exceção da medicação contra o VIH que pode ser dispensada para 3 meses de tratamento. Idealmente, a medicação é dispensada até à data da próxima consulta, uma vez que, ao serem avaliados novamente por um médico pode haver alterações à terapêutica e

implicar a devolução da medicação. Contudo, em determinadas situações os utentes podem requerer terapêutica para um período mais alargado de tempo.

Quando um utente vai iniciar a terapêutica ou vai fazer *switch* terapêutico de medicamentos biológicos é necessária autorização por parte do Diretor Clínico do CHTV para o tratamento prescrito. Posteriormente, o utente desloca-se aos SF para levantar a sua medicação e transcreve-se a autorização para o SGICM, de modo a ficar informaticamente tudo registado. Posto isto, é atribuído o cartão de terapêutica ao utente, onde consta a identificação do utente e do médico prescriptor e onde passa a ser sistematicamente anotado o dia e a quantidade de medicação dispensada. Além disso, na primeira cedência de medicação é disponibilizado o termo de responsabilidade para o utente ler cuidadosamente e assinar, de forma a assegurar que o utente tomou conhecimento do correto armazenamento da medicação e da importância da adesão à terapêutica.

O modo de dispensa a doentes em Ambulatório difere se estes provêm internamente do CHTV ou externamente de outra Instituição:

Internamente, após consulta médica do utente, a medicação pendente da consulta aparece no SGICM, sendo que o Farmacêutico valida a prescrição médica tendo em conta a patologia associada. Procede ao seu débito e arquiva a impressão do débito no contentor do respetivo mês, devidamente assinada pelo utente e pelo Farmacêutico. Sempre que necessário, o Farmacêutico entra em contacto com o médico prescriptor de forma a esclarecer qualquer dúvida relacionada com a prescrição.

Comumente, é cedida medicação aos AO para ser administrada no CHTV.

Externamente, no caso de biológicos cedidos a utentes de consultório do exterior, é necessário criar uma prescrição como episódio livre, inserir a medicação prescrita, posteriormente procede-se ao débito da medicação por lote e para finalizar é preciso fazer a leitura ótica do número da receita, o local da prescrição, o número da ordem do médico e adicionar a especialidade e a data de prescrição. Desta forma, a impressão do débito e a prescrição do médico (destaca-se a guia de tratamento para o doente) são arquivadas no separador da “Faturação”.

Pode ser necessário suprir a indisponibilidade da medicação por parte das Farmácias Comunitárias, desde que devidamente acompanhada com carimbo de confirmação que, pelo menos, três farmácias não têm disponível a medicação necessária pelo utente. Deste modo, procede-se à venda de um produto ao exterior.

À parte destas situações, as prescrições que contenham eritropoetinas, utilizadas por Doentes Renais Crónicos, e riluzol, utilizado em doentes com Esclerose Lateral Amiotrófica, também são faturadas.

Na minha passagem pelo Ambulatório tive oportunidade de observar os Farmacêuticos no atendimento aos doentes de Ambulatório e auxiliá-los no que concerne a ir buscar a medicação pretendida. Na dispensa de medicação de frio havia o cuidado especial de perceber se o utente

tinha saco térmico e termoacumulador de gelo, pois de outra forma o utente não poderia levar medicação de frio com o risco de quebrar a cadeia de frio e esta perder a sua estabilidade. De notar que, em todos os atendimentos, havia a preocupação de garantir que a informação correta fosse transmitida aos utentes, para que nunca saíssem dos SF com dúvidas, especialmente sobre o modo de administração. Sempre que possível, os Farmacêuticos cediam panfletos que complementavam a informação transmitida anteriormente.

Nos momentos que não havia utentes para atender aproveitava para organizar as prateleiras, repor medicação em falta e organizar os *dossiers* dos documentos das autorizações da terapêutica, dado que, diariamente havia autorizações novas que era necessário arquivar por ordem alfabética de nome do utente.

4.4 Distribuição de Medicamentos sujeitos a controlo especial

Medicamentos como psicotrópicos, estupefacientes e hemoderivados que necessitam de um controlo rigoroso, quer devido às suas características ou exigências legais, são repostos com base em pedidos individualizados por paciente.(33)

4.4.1 Distribuição de Psicotrópicos e Estupefacientes

Os Psicotrópicos e Estupefacientes são substâncias que atuam a nível do sistema nervoso central, que, apesar dos benefícios terapêuticos, apresentam riscos de habituação e dependência, sendo muitas vezes utilizadas de forma ilícita. Desta forma, necessitam de um controlo rigoroso pelas autoridades competentes devido ao potencial de abuso.(36,37)

No CHTV, a distribuição de Psicotrópicos e Estupefacientes é da responsabilidade do setor de Distribuição Tradicional, estando a medicação armazenada em sala de acesso restrito, dentro de um cofre.

Após prescrição médica e validação por parte de um Farmacêutico, um enfermeiro de determinado serviço faz-se acompanhar com o destacável da Ficha de Controlo de Estupefacientes ou com a Ficha de Controlo de Psicotrópicos. A ficha dos Estupefacientes apresenta uma coloração azulada e a dos Psicotrópicos apresenta uma coloração amarelada. Cada ficha diz respeito a um medicamento e à respetiva dosagem, no entanto, naquela mesma ficha podem constar informações de administração a dez utentes diferentes.

A parte de cima da ficha de controlo tem de ser devidamente preenchida com o nome do medicamento, a forma farmacêutica, a quantidade, o nome do TSDT que entregou a medicação e o nome do enfermeiro que a recebeu e a respetiva data. Também a parte de baixo da ficha é preenchida com o nome do doente a quem foi administrada a medicação, juntamente com a data e a hora de administração, o número da cama, a autorização médica, a dose e a rúbrica do enfermeiro.

O TSDT procede à preparação da medicação a ser entregue a um enfermeiro, faz o registo do débito do *stock*, anotando na folha do respetivo medicamento a quantidade de medicação retirada do cofre e por consequência a quantidade de medicação que ainda existem em *stock* no cofre, e arquiva a parte superior da ficha de controlo.

Na minha passagem pelo setor de Distribuição Tradicional tive oportunidade de acompanhar um TSDT na cedência deste tipo de medicação e no preenchimento da ficha de controlo e da folha dos débitos.

4.4.2 Distribuição de Hemoderivados

Hemoderivados ou Medicamentos derivados do plasma humano são, segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde), “constituídos por proteínas plasmáticas de interesse terapêutico que não se podem sintetizar por métodos convencionais, pelo que são obtidos de plasma de dadores humanos sãos”.(38)

A dispensa de hemoderivados no CHTV é efetuada por um Farmacêutico. É no armazém do ambulatório que se encontram os hemoderivados.

Sempre que um utente necessita da medicação, um AO vem aos SF acompanhado do modelo da Imprensa Nacional Casa da Moeda para requisição, distribuição e administração de Hemoderivados. A ficha modelo é constituída por duas vias, a Via Serviço e a Via Farmácia, sendo que a Via Farmácia é autocopiativa.(39)

Parte do modelo vem previamente preenchida por um médico, com a etiqueta autocolante da identificação do utente, onde consta o seu nome, número de identificação civil, número de processo e número de utente do SNS; identificação do médico prescriptor; e a requisição clínica com a devida justificação.

Nos SF, cabe ao Farmacêutico validar a prescrição médica, confirmando se todas as informações anteriores foram devidamente preenchidas e proceder ao registo do nome do hemoderivado, a quantidade cedida, o lote, o laboratório de origem, o número certificado (CAUL) do INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamentos e Produtos de Saúde I.P, assinar e datar. Também a caixa do hemoderivado é convenientemente identificada com a identificação do utente a quem se destina a medicação.

A medicação é transportada por um AO para o serviço requisitante, levando consigo a Via Serviço da ficha modelo. Posteriormente, um enfermeiro procede à administração da medicação e registo das informações.

Nos SF é feito o débito da medicação e é arquivado no separador “Hemoderivados” a impressão do débito juntamente com a Via Farmácia da ficha modelo.

No meu estágio, acompanhei um Farmacêutico na validação da prescrição e no preenchimento do modelo da Imprensa Nacional Casa da Moeda e tive oportunidade de proceder à etiquetagem das embalagens dos hemoderivados a dispensar.

5 Farmacotecnia

5.1 Preparação de Formas Farmacêuticas Estéreis

A preparação de formas farmacêuticas estéreis requer um controlo rigoroso para evitar contaminação por microrganismos.

No CHTV, a área da farmacotecnia de formas farmacêuticas estéreis é constituída por duas salas de manipulação, divididas por uma antecâmara que serve de apoio às duas salas, uma vez que tem dois *transfers* por onde é passado todo o material devidamente desinfetado. As salas de manipulação, também designadas por salas brancas, são constituídas por equipamentos diferentes. A sala branca principal é constituída por uma Câmara de Fluxo de Ar Laminar Vertical (CFLV), e a sala branca secundária é constituída por uma Câmara de Fluxo de Ar Laminar Horizontal (CFLH). Ambas as Câmaras possuem o filtro HEPA (*High Efficiency Particulate Air*). Ainda, há uma zona específica para os operadores se equiparem rigorosamente.

Nos SF diariamente há manipulação de citotóxicos para o Hospital Dia e esporadicamente há manipulação de colírios para a dispensa a doentes de Ambulatório.

No que concerne aos colírios, os utentes deslocam-se aos SF para levantar os colírios de 21 em 21 dias, uma vez que o prazo de validade é apenas de 28 dias. É no laboratório das preparações dos não estéreis que se controla o agendamento dos colírios, sendo que é necessário entender quantos colírios são necessários preparar semanalmente conforme o número de utentes a administrar colírios e avançar com a manipulação dos mesmos, em Câmara de Fluxo Laminar Vertical. A manipulação ocorre habitualmente na sala branca principal por dois TSDT e supervisionada por um Farmacêutico, antes da manipulação dos citotóxicos. Posteriormente, no laboratório dos Não-Estéreis, a Farmacêutica debita a medicação por utente e armazena no frigorífico do Ambulatório juntamente com a respetiva folha do débito. Em relação aos colírios, acompanhei a manipulação de colírios de ciclosporina a 0,1%.

5.1.1 Unidade Centralizada de Preparação de Citotóxicos (UCPC)

A Ordem dos Farmacêuticos publicou o Manual de Preparação de Citotóxicos que é tido em conta na UCPC dos SF do CHTV. (40)

5.1.1.1 Validação das prescrições

Na sala de trabalho, dois Farmacêuticos operam diariamente neste setor. Por norma, um dos Farmacêuticos fica sobretudo responsável pela validação das prescrições e o outro Farmacêutico

fica encarregue de confirmar as prescrições validadas e interligar com a zona de produção Citotóxica.

A UCPC serve o Hospital Dia de Oncologia, o Hospital Dia de Hematologia e o Hospital Dia de Gastroenterologia.

À disposição do Farmacêutico está uma agenda que contém a identificação dos utentes e o protocolo terapêutico estabelecido que permite ao Farmacêutico perceber quantos utentes irão ser atendidos naquele dia e irá permitir ao longo do dia confirmar se todos os utentes receberam o tratamento. A agenda é preenchida nos dias antecessores, de acordo com os ciclos de tratamento.

Diariamente, o Farmacêutico responsável pela validação das prescrições receciona as prescrições médicas. Estas são prescritas segundo protocolos referenciados em *guidelines* nacionais e internacionais. As doses de substância ativa administradas a cada utente dependem do seu peso ou da área de superfície corporal ou da AUC (Área sob a curva) e de eventuais reduções da dose estabelecidas pelo médico.

No SGICM são rececionadas a grande maioria das prescrições, no entanto, algumas prescrições ainda são rececionadas em papel.

Após receção das prescrições, o Farmacêutico confirma as doses segundo o peso, a superfície corporal ou AUC do utente. Ainda, caso haja reduções da dose, o Farmacêutico tem também a obrigação de efetuar os cálculos que confirmam a redução, estabelecida pelo médico, de determinada percentagem. Quando há prescrição de Bombas de Infusão Portáteis (BIP) cabe ao Farmacêutico também confirmar a quantidade de substância ativa e o volume de diluente tendo em conta as horas de infusão da bomba, o volume total e o volume residual que esta irá comportar.⁴

Após validação das prescrições, o Farmacêutico entra em contacto com o Hospital Dia de forma que o Enfermeiro confirme os utentes elegíveis para tratamento, dado que, antes de receber tratamento os utentes são submetidos a análises. Após confirmação por parte do Enfermeiro, o Farmacêutico imprime os rótulos das manipulações.

Também é impressa a folha resumo das manipulações que dois TSDT usam para recolher as embalagens necessárias para a manipulação citotóxica, num tabuleiro de quimioterapia.

Os protocolos terapêuticos, além dos seus principais ativos, muitas vezes são constituídos por antieméticos (metoclopramida, dexametasona, ondasetron, fosaprepitant), hidratações de cloreto

⁴ Frequentemente é prescrito o BIP para 44 horas de infusão. Estas bombas são constituídas por um elastómero que permite uma perfusão a taxa constante, contudo, o elastómero retém sempre um volume residual de manipulado, volume esse que está tabelado e se tem conhecimento dele. Também o volume total de cada BIP está tabelado. Posto isto, os cálculos do Farmacêutico têm em conta todos estes fatores para assim se validar a prescrição.

de sódio a 0,9%, filgrastim, entre outros, que são administrados enquanto os utentes estão no Hospital Dia ou são dispensados para administração em domicílio.

As substâncias que são dispensadas aos utentes para domicílio são preparadas pelo Farmacêutico aquando da validação das prescrições. A medicação é colocada em envelopes com indicação do nome do utente e da posologia. A medicação da cadeia de frio é ainda acompanhada de etiqueta com as condições de armazenamento, de forma que os utentes conservem a medicação adequadamente.

As substâncias administradas em Hospital Dia são retiradas do *stock* do serviço e no fim do dia, nos SF procede-se ao seu débito e à reposição dos *stocks* às enfermarias.

No que diz respeito às prescrições eletrónicas, é tudo efetuado no SGICM, desde a validação, à impressão dos rótulos e da folha resumo das manipulações e ao débito da medicação para ambulatório.

No entanto, as prescrições em papel implicam que os rótulos sejam elaborados à parte. Este passo requer um cuidado redobrado por parte do Farmacêutico, uma vez que, informações como identificação do utente, concentrações, volumes e quantidades das substâncias ativas são transcritos para os rótulos manualmente pelo Farmacêutico. A folha resumo das manipulações também é elaborada manualmente. No que diz respeito ao débito da medicação dos protocolos manuais, esta é feita no SGICM, no entanto cabe ao Farmacêutico inserir as quantidades manualmente.

Posteriormente, dependendo do protocolo terapêutico e do ciclo de tratamento em que o utente se encontra, o Farmacêutico agenda-o para os dias previstos que se seguem, para que, no começo de cada dia a agenda já esteja completa com todos os utentes.

No meu estágio nos SF tive oportunidade de acompanhar os Farmacêuticos na validação das prescrições e perceber quais patologias que frequentemente passam pelo CHTV e algumas considerações importantes da medicação.

No Hospital Dia de Oncologia eram validados vários protocolos para o tumor maligno do colon, do reto, do estômago, do pâncreas, da próstata, do fígado, da bexiga e da mama. Fármacos como a oxaliplatina aparecia em vários protocolos, associado ao seu protocolo de dessensibilização, onde são feitas várias diluições e administrações de uma dose menos concentrada para uma dose mais concentrada e aumentando as velocidades de perfusão até ao utente tolerar perfusões de duas horas. Associado aos protocolos com paclitaxel estava a clemastina, que prevenia reações associadas ao óleo de ricínio do paclitaxel.

No Hospital Dia de Hematologia frequentemente apareciam patologias como a Síndrome mieloplástica, o Mieloma múltiplo, a Leucemia mieloide, o Linfoma de *Hodgkin*, entre outras. Os protocolos de azacitidina eram muito utilizados: Um utente que lhe fosse prescrito 800 mg, a dose

total seria distribuída por cinco dias, em injeções subcutâneas de 4 mL com 100 mg de azacitidina cada.

No Hospital Dia de Gastroenterologia são tratadas a Colite Ulcerosa e a Doença de *Crohn* e para estas patologias o infliximab é tratamento de primeira linha e o vedolizumab é tratamento de segunda linha.

Foi-me também permitido elaborar os envelopes com a medicação para o domicílio dos doentes, sempre com confirmação posterior do Farmacêutico que me acompanhava.

5.1.1.2 Manipulação

Após validação de grande parte dos utentes que se encontravam agendados para o próprio dia, um Farmacêutico vai para a antecâmara estabelecer a ordem das preparações. Para isto, leva consigo os rótulos dos manipulados. Nos rótulos consta informação como: a identificação do utente, a data de preparação, o código de barras com identificação da preparação, a dose e o volume de cada substância ativa, o volume da solução de diluição, a duração e o ritmo da perfusão, a via de administração, as condições de conservação, a estabilidade e algumas observações importantes (por exemplo, se necessita de filtro 0,22µm ou se o sistema de administração contém PVC (*Polyvinyl Chloride*)).

Para cada preparação são impressos dois rótulos: um para o saco escuro e opaco exterior que protege o manipulado e outro para o manipulado em si. O Farmacêutico cola os dois rótulos nos sacos exteriores e ordena as preparações consoante as substâncias ativas e o tempo das perfusões. De forma a assegurar uma maior segurança e qualidade nas manipulações, em primeiro são manipulados os anticorpos monoclonais e posteriormente a quimioterapia convencional, sendo que os tratamentos com perfusões mais demoradas são prioritários.

Enquanto isto, dois TSDT recolhem as embalagens necessárias para os tratamentos no tabuleiro de inox e retiram os frascos das embalagens. Os lotes dos frascos das substâncias ativas são colados na folha resumo de manipulações. Posto isto, colocam os frascos, os solventes, as seringas, as agulhas e outros equipamentos dentro de um tabuleiro de inox no *transfer* e desinfetam com álcool a 70%. Neste momento, o TSDT operador e o ajudante equipam-se adequadamente para entrarem na sala branca. O equipamento é composto pela bata, a proteção do calçado, máscara de proteção, óculos de proteção, touca de proteção e luvas. A CFLV é higienizada com álcool a 70% e fica em funcionamento, pelo menos, 10 minutos para o fluxo de ar estabilizar e garantir a segurança do operador. Os TSDT voltam a desinfetar e retiram o que foi colocado no *transfer* e organizam tudo na bancada de apoio.

Enquanto isso, o Farmacêutico na antecâmara começa por fazer a leitura ótica do código de barras dos rótulos das prescrições eletrónicas e coloca ordenadamente os sacos exteriores no *transfer*, devidamente desinfetados.

Do outro lado e após a CFLV estabilizar, o TSDT ajudante desinfeta e recolhe os sacos. Com o TSDT operador preparado para dar início à manipulação, o TSDT ajudante vai colocando os materiais, solventes e princípios ativos necessários a cada manipulação dentro da CFLV, do lado esquerdo. Ao centro, está o TSDT operador a manipular com técnica asséptica e do lado direito são colocadas as preparações manipuladas finalizadas. Ainda, do lado esquerdo estão compressas embebidas em álcool a 70% e do lado direito está o contentor para depósito de todo o material citotóxico.

Durante a manipulação de citotóxicos os TSDT têm de ser bem regrados para que nenhum acidente ocorra. Durante a manipulação tive oportunidade de observar algumas regras como:

- Apenas é aberta uma porta do transfer de cada vez;
- É verbalizado sempre o mínimo indispensável entre o TSDT operador e ajudante. Ambos sabem os procedimentos a seguir, daí também não haver necessidade em falar;
- O TSDT operador evita descansar as mãos e braços na zona central de trabalho, tal como, evita compor a máscara ou os óculos;
- Caso caiam salpicos de citotóxicos na CFLV estes são imediatamente absorvidos com compressa embebida em álcool;
- Os movimentos do operador são lentos e calculados de forma a não passar nunca com as mãos sobre a manipulação;
- As mãos do operador não saem dentro da CFLV, sendo que não existe necessidade em fazê-lo, dado que tudo o que o operador necessita para manipular é posto dentro da câmara pelo TSDT ajudante;
- Na sala branca ninguém come ou bebe.

Após manipulação, o TSDT ajudante recolhe do lado direito o manipulado e coloca-lhe um dos dois rótulos do manipulado que se encontra no saco exterior e posteriormente, acondiciona no respetivo saco exterior. O manipulado é enviado para a antecâmara através do *transfer*, devidamente desinfetado. Do lado da antecâmara, o Farmacêutico recolhe o saco, verifica-o, sela o saco com calor e faz a leitura ótica novamente o código de barras de forma a dar saída da sala branca.

Um AO vem várias vezes aos SF com o objetivo de ir levando os manipulados consoante são finalizados. O Farmacêutico faz a leitura ótica por uma última vez do código de barras e coloca as manipulações no carro do Hospital Dia. No carro também vai a medicação anteriormente preparada pelo Farmacêutico nos envelopes, para o utente levar para o seu domicílio.

No fim de toda a manipulação, os resíduos citotóxicos são removidos da CFLV e colocados para incinerar, tal como o equipamento de proteção.

Na minha passagem pela manipulação de citotóxicos tive a oportunidade de acompanhar o Farmacêutico na logística da sequenciação da ordem de manipulação e observei os TSDT na manipulação propriamente dita. Observei o TSDT operador a fazer a reconstituição de liofilizados, a ter o cuidado de deixar o solvente escorrer pelas paredes do frasco e agitar com o auxílio de uma compressa embebida em álcool; a retirar cuidadosamente o ar das seringas, sempre com uma compressa embebida em álcool a proteger; a diluir o citotóxico no solvente,

adicionando o citotóxico ao saco de solvente (o solvente tanto poderia ser uma solução de cloreto de sódio ou uma solução de glicose, dependendo do citotóxico).

Ainda, observei os TSDT a manipular microesferas de doxorubicina para quimioembolização de carcinoma hepático e foi-me proporcionada a oportunidade de ir ao setor de Imagiologia observar a esferas num utente que apresentava carcinoma hepático localizado.

5.1.1.3 **Controlo Microbiológico**

O controlo microbiológico acontece semanalmente e mensalmente à segunda-feira. Semanalmente faz-se o controlo microbiológico dentro da CFLV e mensalmente faz-se o controlo microbiológico também na sala branca. O controlo microbiológico envolve o controlo do ar através de placas de sedimentação de gelose de sangue, em que a placa fica aberta durante todo o trabalho de manipulação, e o controlo das superfícies e do pessoal através de placas de contacto, em que o TSDT encosta as placas às superfícies pretendidas.

Semanalmente, são utilizadas 9 placas para efetuar o controlo, sendo elas para: as luvas do operador no início da manipulação; as luvas do operador no fim da manipulação; a parte esquerda da CFLV antes manipulação; a parte esquerda da CFLV depois da manipulação; a parte central da CFLV antes manipulação; a parte central da CFLV depois da manipulação; a parte direita da CFLV antes manipulação; a parte direita da CFLV depois da manipulação; a sedimentação no interior da CFLV.

Mensalmente, além das 9 placas mencionadas, são utilizadas outras 11 placas, sendo elas para: as luvas do técnico ajudante no início da manipulação; as luvas do técnico ajudante no fim da manipulação; a bancada da sala branca no início da manipulação; a bancada da sala branca no fim da manipulação; um sítio aleatório da sala branca no início da manipulação; um sítio aleatório da sala branca no fim da manipulação; o *transfer* no início da manipulação; o *transfer* no fim da manipulação; a manga do operador; a sedimentação exterior da CFLV; como controlo das placas.

O Farmacêutico é responsável por identificar respetivamente as placas e dar as mesmas aos TSDT para colocarem nos lugares pretendidos. Posteriormente, o Farmacêutico entrega as placas ao laboratório de microbiologia e aguardam os resultados. Caso os resultados não sejam satisfatórios há repetição do controlo microbiológico.

Tive oportunidade de ver os TSDT a colocarem as placas nos sítios pretendidos e observei um Farmacêutico a analisar o relatório do controlo microbiológico.

5.1.1.4 **Kit de Derrames para acidente com citotóxicos**

Na sala de apoio à UCPC e na sala branca principal existem dois *kits* de derrames que vão proteger quer os operadores de contaminações quer o meio envolvente.

O *kit* é constituído por: placa e fita sinalizadora, touca de proteção, óculos de proteção, protetores de calçado, bata de proteção, luvas de látex e luvas de borracha, máscara, pó *Green Z*, panos *Power-Sorb*, pá, pinça, sacos plásticos e fio para selar os sacos.

Aquando de um derrame, alertam-se o máximo de pessoas e delimita-se a zona contaminada com a fita e placa sinalizadora. Veste-se o equipamento de proteção pela seguinte ordem: bata, luvas de borracha, touca, óculos, máscara, proteção de calçado e luvas de látex.

Caso o derrame seja de um líquido, coloca-se o pó *Green Z* por cima e o líquido transforma-se em hidrogel, uma vez que, o pó *Green Z* trata-se de um polímero. Desta forma, existe maior facilidade em limpar a zona contaminada.

Se o derrame se tratar de um pó então com panos humedecidos transforma-se o pó em líquido e procede-se como mencionado anteriormente.

Na eventualidade de existirem vidros, estes são apanhados com a pinça para o contentor dos resíduos citotóxicos.

Em caso de necessidade, o pessoal contaminado deve utilizar o chuveiro e o lava olhos de emergência.

Toda a zona tem de ser higienizada pelo menos três vezes, como habitualmente, da zona menos contaminada para a zona mais contaminada. Todo o material utilizado é colocado dentro do saco, selado com o fio e colocado para incinerar.

O *kit* de derrames deve ser o quanto antes reposto e é obrigatório notificar o acidente preenchendo o formulário de exposição a citotóxicos. A instituição hospitalar também tem de ser notificada.

Durante o meu estágio não houve nenhum acidente em que o *kit* tivesse de ser usado, o que é bastante positivo, contudo uma Farmacêutica mostrou-me o *kit* e explicou-me como se deve proceder em caso de derrame.

5.1.2 Preparação de Nutrição Parentérica

A nutrição parentérica é um método de alimentação por via intravenosa, onde os macro e os micronutrientes são diretamente introduzidos na corrente sanguínea. Este método é utilizado para suprir parcial ou totalmente as necessidades do utente, principalmente em situações onde o utente tem o trato gastrointestinal inativo ou precisa de o manter em repouso. A nutrição parentérica pode ser administrada por via central ou periférica, sendo cada uma das vias utilizadas conforme as necessidades específicas do utente.(41,42)

A preparação individualizada da nutrição parentérica não é uma prática dos SF do CHTV, uma vez que, a sua preparação dá-se nas enfermarias dos serviços hospitalares, dado que se usam bolsas padronizadas que apenas necessitam de aditivação.

5.2 Preparação de Formas Farmacêuticas Não-Estéreis

As formulações farmacêuticas manipuladas a nível hospitalar respeitam as “Boas Práticas a Observar na Preparação de Medicamentos Manipulados em Farmácia de Oficina e Hospitalar”, segundo a Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho.(43)

O laboratório destinado à manipulação de preparações não-estéreis é composto por vários equipamentos e matérias-primas. Equipamentos como banho-maria termoestabilizado, a *hotte*, a balança analítica, entre outros, podem ser encontrados no laboratório. Diverso material de laboratório está arrumado nos armários, como almofarizes, vidros de relógio, provetas graduadas, balões volumétricos, matrizes, funis, entre outros. As matérias-primas também estão armazenadas nos armários do laboratório, de uma forma segregada. As matérias-primas sólidas à parte das matérias-primas líquidas. Ainda, as substâncias ativas que habitualmente se utilizam neste setor também ocupam um espaço seguro no laboratório.

A Farmacêutica responsável pelo setor de farmacotecnia tem o encargo de verificar o Boletim de Análise das matérias-primas segundo a respetiva monografia da Farmacopeia Portuguesa, aquando da chegada de novas matérias-primas aos SF.

No laboratório de não-estéreis são manipulados quer formulações para serem dispensadas aos utentes, quer veículos de preparação que ficam armazenados para posterior utilização.

Através do SGICM, as prescrições previamente validadas pelo Farmacêutico são reencaminhadas para o setor de não-estéreis. A Farmacêutica responsável por este setor confirma a manipulação e cria uma guia no sistema informático onde regista a quantidade total a preparar, o lote e automaticamente são introduzidas a validade e as quantidades de todas as matérias-primas tendo em conta a quantidade total. Posto isto, é criada e impressa a Ficha Técnica de Preparação com o lote associado do manipulado. O lote atribuído é alfanumérico, tendo a seguinte configuração GPAAAAMMYYY.

“GP” é a referência a Manipulado do Laboratório dos Não-Estéreis; AAAA é referência ao ano de preparação do manipulado; MM referente ao mês de preparação; “YYY” identifica a ordem de preparação dos manipulados ao longo do mês.

Um TSDT devidamente equipado com luvas descartáveis, máscara, touca e bata reúne o material necessário e higieniza com álcool a 70% a bancada e todo o material. Posteriormente, procede à manipulação da prescrição com a supervisão da Farmacêutica, que também se encontra devidamente equipada. Todos os passos efetuados por um TSDT têm de ter dupla confirmação pela Farmacêutica que acompanha a manipulação. No fim da preparação, são verificadas as características organoléticas, a quantidade e a conformidade consoante a Farmacopeia Portuguesa.

Após manipulação toda a área é higienizada e o material lavado.

A Farmacêutica encarrega-se de fazer os rótulos, que são colados quer no manipulado quer na Ficha Técnica de Preparação. Nos rótulos consta informação como o nome do manipulado, as quantidades dos fármacos e excipientes, a via de administração, a posologia, o nome do utente com a sua data de nascimento e morada, o lote, a data de preparação, a validade, as orientações de conservação e as observações. Por último, é assinada a Ficha Técnica de Preparação pelo operador e pelo supervisor e arquivada.

Enquanto estive no laboratório tive oportunidade de acompanhar a preparação de vaselina salicilada a 2%, gel de metilcelulose a 1%, suspensão oral de ondasetron 0,8mg/mL e papéis medicamentosos de bicarbonato de sódio 1g.

5.3 Reembalagem

O processo de reembalagem assegura a dispensa de formas individualizadas de maneira a cumprir a dose prescrita pelo médico. O reembalamento tem de garantir a segurança e a qualidade do medicamento.

Nos SF do CHTV, o processo de reembalagem acontece tanto na sala de Reembalagem como na sala de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária.

Na sala de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária ocorre grande parte do processo de Reembalagem, dado que, o equipamento FDS procede à reembalagem dos medicamentos por inteiro ou das fórmulas fracionadas. Após validação das prescrições médicas por parte do Farmacêutico, o TSDT opera o FDS.

Na sala de Reembalagem um TSDT procede à reembalagem manual de formas sólidas que não são passíveis de serem reembaladas no FDS. A *desblisteração* e ao fracionamento dos medicamentos são da responsabilidade de um AO.



Figura 13 - Exemplo da reembalagem pelo FDS de um medicamento fracionado

Os medicamentos reembalados são identificados com o nome de substância ativa, a dosagem, o prazo de validade, o lote do medicamento e o lote atribuído após reembalagem.

O lote atribuído após reembalagem é alfanumérico, tendo a seguinte configuração RYAAMMDD.

“R” identifica a reembalagem; “Y” identifica a ordem de preparação de medicamentos reembalados num determinado dia; AA é referência ao ano de preparação do manipulado; MM referente ao mês de preparação; DD referente ao dia de preparação. Assim sendo, o manipulado da Figura 13 cujo lote é RE231211 foi o quinto manipulado preparado no dia 11 de dezembro de 2023.

O prazo de validade atribuído a medicamentos reembalados tem em conta o prazo de validade remanescente da embalagem original, sendo atribuído vinte e cinco por cento do prazo até ao máximo de seis meses.

6 Farmacovigilância

A Farmacovigilância consiste no processo de monitorização dos medicamentos após serem colocados no mercado, garantindo a sua segurança, com o fulcral objetivo de identificar e prevenir Reações Adversas a Medicamentos (RAM). O Sistema Nacional de Farmacovigilância, coordenado pelo INFARMED, é responsável por desempenhar esta atividade, recolhendo e analisando continuamente as informações sobre os medicamentos, de forma a proteger os utentes e a promover a Saúde Pública. Informações estas que são reportadas à Agência Europeia do Medicamento, responsável pelo Sistema de Farmacovigilância da União Europeia.(44,45)

Em Portugal, o Sistema Nacional de Farmacovigilância, criado em 1992, é constituído por 9 unidades, espalhadas por todo o país, estando elas situadas em Braga, no Porto, em Coimbra, na Covilhã, em Lisboa, em Évora, em Faro, em Ponta Delgado e no Funchal.(45)

As suspeitas de RAM podem ser notificadas tanto por profissionais de saúde como por utentes que identifiquem estar a passar por uma resposta não intencional do medicamento ou por um familiar ou cuidador do mesmo. A notificação pode ser feita no portal próprio para o efeito ou por telefone, *email* ou correio.(44,45)

No CHTV, não existe nenhum setor dedicado à prática de Farmacovigilância e no meu estágio pelos SF não se observou nenhuma situação passível de RAM, pelo que, apesar de não existir o setor, os Farmacêuticos também não tiveram a necessidade de desempenhar essa função.

7 Participação do Farmacêutico nos ensaios clínicos

A prática dos ensaios clínicos está ao abrigo da Lei da Investigação Clínica, Lei n.º 21/2014 de 16 de abril, que protege os direitos dos participantes e a sua dignidade humana e entende-se por

ensaio clínico todo o estudo conduzido no ser humano com o objetivo de descobrir ou verificar os efeitos clínicos ou de identificar os efeitos indesejáveis ou de analisar o processo de absorção, distribuição e excreção de um ou mais medicamentos experimentais com o intuito de averiguar a sua segurança ou eficácia. (46)

No CHTV, duas Farmacêuticas afetas ao setor dos Ensaio Clínicos estão responsáveis pelo armazenamento e distribuição dos medicamentos experimentais e toda a logística exigida pela participação em ensaios clínicos.

A realização dos ensaios clínicos é definida pelo Conselho de Administração (CA), pelo Investigador principal e pelo Promotor, que, posteriormente contacta com os SF.

A sala dos Ensaio Clínicos de acesso restrito é constituída por uma zona de trabalho, um frigorífico que armazena os medicamentos experimentais da cadeia de frio e vários armários onde está armazenada por prateleira a medicação de cada ensaio conforme especificações do Promotor. Também, é nesta sala que é arquivada a documentação referente aos Ensaio Clínicos e o arquivo “morto”, que contém todos os ensaios realizados nos últimos vinte e cinco anos.

A cedência da medicação pode ou não implicar a sua preparação ou reconstituição. Dependendo da medicação experimental, esta pode ser preparada na própria sala dos ensaios clínicos ou, em caso de citotóxicos, pode ser preparada na UCPC. Após a cedência da medicação, as caixas da medicação têm de ser guardadas até passagem do Monitor pelos SF. O Monitor tem o dever de monitorizar os Ensaio Clínicos, conforme definido pelo Promotor.

Posteriormente, o Farmacêutico procede ao débito por lote da medicação, no sistema informático. Além do débito informático, também se procede ao registo do débito manualmente, caso seja um dos documentos exigidos pelo Promotor.

Na minha passagem pelos SF, tive oportunidade de acompanhar duas vezes a participação de uma Farmacêutica nos ensaios clínicos.

Da primeira vez, acompanhei a cedência do fármaco risankizumab para a doença inflamatória intestinal. O Farmacêutico validou a prescrição médica, confirmou o número de *kits*, a validade, a quantidade e o lote, assinou e datou todas as folhas e procedeu à cedência da medicação para ser administrada a nível hospitalar. Posteriormente, fez o débito da medicação e arquivo dos documentos.

Da segunda vez, acompanhei um ensaio que era necessária preparação do medicamento. O ensaio era com o patisiran para a paramiloidose, vulgarmente conhecida como a Doença dos Pezinhos. A Farmacêutica organizou todo o material necessário para a Enfermeira proceder à diluição da medicação em cloreto de sódio e à sua filtração. Acompanhei o débito da medicação e o registo dos respetivos *logs*.

8 Farmacocinética Clínica

A Farmacocinética Clínica é um ramo que combina os princípios farmacocinéticos e farmacodinâmicos de modo a otimizar a terapia medicamentosa através da individualização posológica. Vulgarmente, entende-se por “o que o corpo faz ao fármaco”.

Em contexto hospitalar, a Farmacocinética Clínica é essencial para a correta utilização dos medicamentos com margem terapêutica estreita ou que apresentem uma correlação ou ausência dela entre concentrações séricas e a resposta farmacológica, ainda para situações onde há variações significativas na absorção, distribuição, metabolização e eliminação dos fármacos devido a fatores clínicos como insuficiência hepática, insuficiência renal, síndrome de má absorção. Deste modo, a prática da Farmacocinética Clínica requer profissionais dedicados a este setor com conhecimento profundo das características dos medicamentos e do estado de saúde do paciente, de forma a atender às necessidades do utente e a desprender-se apenas de conhecimentos teóricos.

Assim, a Farmacocinética Clínica visa otimizar as terapias farmacológicas, reduzindo os riscos de toxicidade dos fármacos ao mesmo tempo que não compromete a eficácia terapêutica.(47)

No CHTV, não existe o setor próprio de Farmacocinética Clínica, pelo que, não é utilizado nenhum *software* que permita proceder à determinação dos parâmetros farmacocinéticos de cada indivíduo.

9 Comissões Técnicas

A participação em Comissões Técnicas é uma das funções dos Farmacêuticos Hospitalares e no CHTV os SF estão envolvidos nas Comissões Técnicas: Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT), Comissão de Ética para a Saúde (CES) e no Programa de Prevenção e Controlo de Infecções e Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA).

A Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT) desempenha um papel crucial nas entidades hospitalares, tendo a responsabilidade de propor as orientações terapêuticas e garantir o uso racional dos medicamentos, visando a igualdade no acesso à terapêutica.

A CFT é presidida pelo Diretor Clínico hospitalar e constituída por médicos e farmacêuticos em número igual, nomeados pelo CA para atuação durante três anos.

Entre as suas competências, destaca-se a seleção dos medicamentos com base nas alternativas terapêuticas previstas pelo Formulário Nacional de Medicamentos, o cumprimento dos critérios de utilização de medicamentos impostos pela Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica (CNFT) e o cumprimento dos protocolos estabelecidos, avaliar através de auditorias periódicas os custos associados às terapêuticas, entre outros.(48)

A Comissão de Ética para a Saúde (CES) é uma das comissões obrigatórias em entidades hospitalares e tem como principal objetivo garantir o cumprimento dos princípios éticos tanto na prestação de cuidados de saúde como na investigação clínica, salvaguardando a dignidade humana e a integridade dos procedimentos.

Os membros da CES cumprem mandatos de quatro anos e é da sua competência emitir pareceres e recomendações sobre questões éticas que surjam, oferecer assistência ética nas decisões clínicas zelando pelo respeito dos direitos dos utentes e dos profissionais, colaborar com outras entidades do ramo da ética.(49)

O Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA) é composto por várias Unidades Locais do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e Resistência aos Antimicrobianos (UL-PPCIRA), onde está inserido o CHTV, várias Unidades Regionais PPCIRA (UR-PPCIRA) e pela direção nacional do Programa. O PPCIRA tem como objetivos prevenir e controlar as infeções associadas a cuidados de saúde e as resistências aos antimicrobianos, e conseqüentemente, diminuir a incidência de microrganismos multirresistentes.

As UL-PPCIRA são constituídas por médicos, farmacêuticos e enfermeiros destacando-se algumas competências como a promoção e supervisão das práticas de prevenção e controlo de infeção, a garantia do cumprimento de programas de vigilância epidemiológica, a gestão de isolamentos para conter agentes multirresistentes e a promoção do uso adequado de antimicrobianos.(50)

10 Análise SWOT

Strengths (FORÇA)

Sistema informático amplamente utilizado pelos SF

Forma rápida e eficiente em pedir medicação à *Alliance Healthcare*

Cartão terapêutico do ambulatório do utente, permite ao utente ter sempre um registo da quantidade de medicação dispensada

Weaknesses (FRAQUEZAS)

Anotação manual dos *stocks* em falta em agendas

Validação não informatizada do serviço de Pediatria

Validação não informatizada em parte da UCPC

Balanco manual dos Psicotrópicos e Estupefacientes

Opportunities (OPORTUNIDADES)

Criação do setor de Farmacocinética

Expansão tecnológica na informatização de tudo o que ainda é manual

Threats (AMEAÇAS)

Armazenamento de produtos farmacêuticos após a passagem a ULS, tendo em conta o espaço limitado dos SF

Mudanças nas regulamentações de saúde

Escassez de medicamentos

Riscos ocupacionais associados à UCPC

11 Conclusão

Durante o meu percurso pelo Centro Hospitalar Tondela-Viseu tive a oportunidade de conhecer e aprender sobre todos os setores dos Serviços Farmacêuticos, o que me permitiu ter uma melhor perceção do papel do Farmacêutico a nível hospitalar.

Os dois meses de estágio foram fundamentais para consolidar e relembrar os conhecimentos teóricos que adquiri enquanto estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas e, mais importante, foram fundamentais para obter novos conhecimentos e habilidades práticas que certamente serão essenciais no futuro da minha profissão farmacêutica.

A minha passagem pelo Ambulatório foi, sem dúvida, um marco muito importante do meu estágio. O tempo que estive no Ambulatório ditaram os meus primeiros momentos em contacto com os utentes, que apesar das suas condições de saúde, não deixam de ser seres humanos que querem ser ouvidos e compreendidos. O papel do Farmacêutico no atendimento ao público não se pode limitar à dispensa da medicação, é necessário nutrir empatia pelos utentes que estão à nossa frente a precisar de ajuda.

A Unidade Centralizada de Preparação de Citotóxicos, por sua vez, foi o setor por onde comecei o meu estágio em Farmácia Hospitalar. Foram três semanas de descoberta. Quer da descoberta de novos fármacos, que até então desconhecia, quer da descoberta da manipulação rigorosa e com normas de segurança restritas. Foi um setor especialmente enriquecedor.

A diversidade de setores com os quais tive contacto durante o estágio permitiram-me compreender o circuito do medicamento a nível hospitalar, desde a sua aquisição até à sua distribuição.

Em suma, o estágio na vertente de Farmácia Hospitalar além de me permitir desenvolver competências técnicas, permitiu-me desenvolver competências interpessoais com os profissionais que diariamente operam nos SF do CHTV, para contribuir para a segurança e o bem-estar de todos os utentes que por aqui passam.

Capítulo III – Experiência profissionalizante na vertente de Farmácia Comunitária

1 Introdução

A Farmácia Comunitária (FC), anteriormente designada por Farmácia de Oficina, é um local de proximidade dos cidadãos no que concerne a cuidados de saúde primários. O Farmacêutico desempenha um papel crucial no que diz respeito à Saúde Pública e é, muitas vezes, o primeiro profissional de saúde a que os utentes recorrem em caso de necessidade. Além da dispensa de medicamentos e do acompanhamento farmacoterapêutico, o Farmacêutico desempenha em FC muitas outras funções, como a determinação de parâmetros bioquímicos, a administração de medicamentos injetáveis, a promoção de estilos de vida saudáveis, entre outras.(51,52)

Em Portugal, a Farmácia Comunitária é, entre as demais áreas profissionais do ramo farmacêutico a que distintamente possui um maior número de Farmacêuticos a exercer.(53)

O meu estágio em Farmácia Comunitária foi realizado na Farmácia Grão Vasco, em Viseu. Teve a duração de 12 semanas, entre 29 de abril de 2024 e 19 de julho de 2024.

A Farmácia Grão Vasco, pertencente ao grupo *BRfarma*, pauta pela proximidade com o utente, estando 24 horas por dia aberta ao público. O seu principal foco é o utente, o seu bem-estar e a prestação do melhor cuidado de saúde personalizado, por conseguinte a farmácia conta com uma ampla variedade de produtos aos melhores preços, elevando a Farmácia Grão Vasco quer a nível profissional quer a nível comercial.(54)

A par da Farmácia Grão Vasco, outras três farmácias no concelho de Castro Daire, a Farmácia Moderna, a Farmácia Gastão-Fonseca e a Farmácia Misericórdia, pertencem ao mesmo proprietário.

2 A Farmácia Grão Vasco

2.1 Instalações da Farmácia

2.1.1 Espaço Exterior

A Farmácia Grão Vasco (FGV), localizada na Avenida António José de Almeida em Viseu, apresenta no seu espaço exterior a “cruz verde” identificativa das Farmácias, com a indicação que está aberta permanentemente, todos os dias durante 24 horas.

Na fachada frontal pode-se ler “grão vasco” em letras a três dimensões. Ainda, na montra está visivelmente escrita a palavra “farmácia”. Por cima da montra, é visível um grande ecrã onde passam algumas informações relativas aos serviços que a farmácia disponibiliza.

2.1.2 Espaço Interior

A FGV tem o seu espaço distribuído por dois pisos. De seguida, consta a planta do piso zero da FGV:

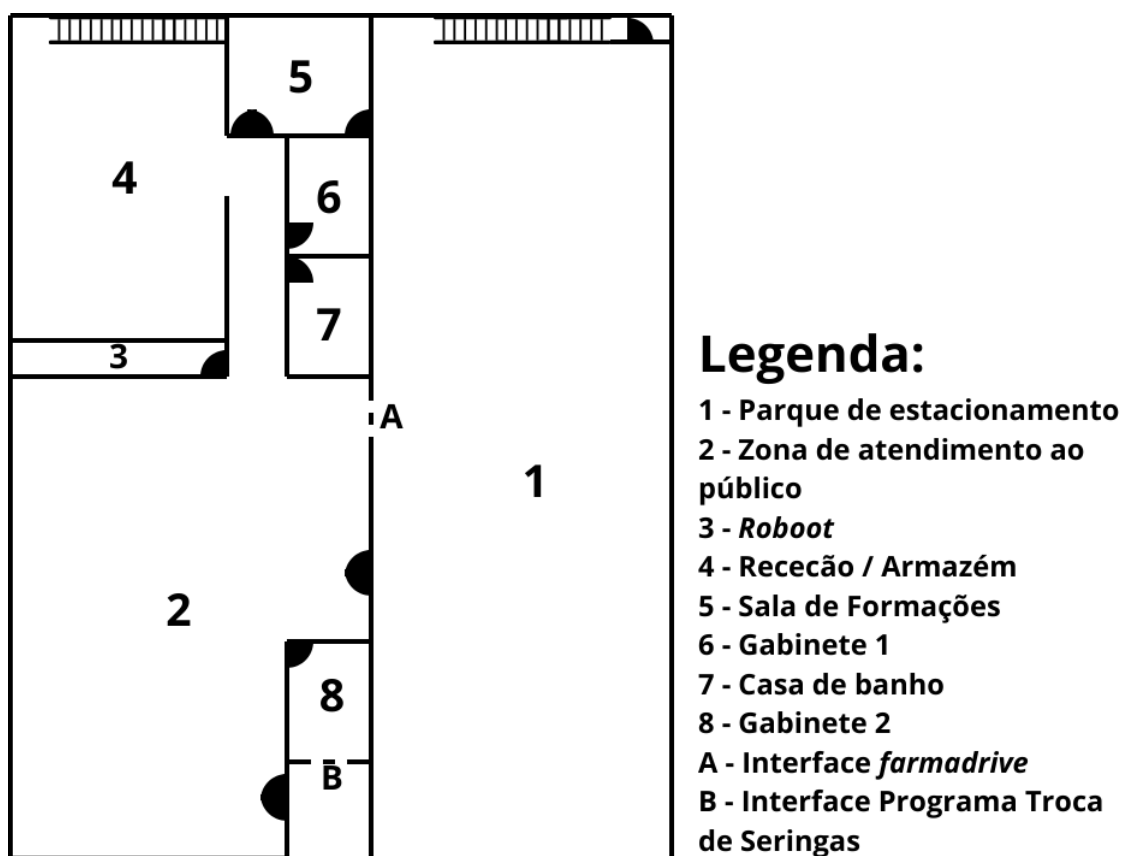


Figura 14 - Planta do piso zero da Farmácia Comunitária

O piso zero dá acesso à estrada principal e voltado para a rua encontra-se o acesso dos utentes à Farmácia. Estes, tanto têm acesso pedonal como por meio de transporte automóvel.

No primeiro piso encontra-se o armazém geral, o gabinete do proprietário da FGV, o laboratório dos manipulados e a sala de refeições.

2.1.2.1 Parque de Estacionamento [1]

Os utentes que se deslocam à FGV têm um parque de estacionamento com quatro lugares vagos à sua disposição, que lhes permite estacionar o carro durante o momento de ida à farmácia. Para isso, basta retirar um *ticket* na cancela do parque de estacionamento e aceder ao mesmo. No parque de estacionamento, os utentes também têm a oportunidade de usufruir do atendimento *Farmadrive*. O atendimento é feito por um Farmacêutico, que se encontra do lado de dentro da janela de interface do *Farmadrive* [A].

Ainda, é pelo parque de estacionamento que os fornecedores entram para entregar e levantar encomendas, numa zona reservada para o efeito, junto da sala de formações [5].

2.1.2.2 Zona de Atendimento ao Público [2]

Na parte frontal e principal da farmácia encontra-se a zona de atendimento ao público.

O utente ao entrar na farmácia encontra um sistema de senhas com diferentes opções, que vai seleccionar a melhor opção que o direciona para o atendimento pretendido. As opções são: A – Atendimento Geral; B – Levantamento de Encomendas; C – Aconselhamento Dermocosmético; D - Medição de Parâmetros; E - Atendimento Prioritário.

O Farmacêutico, num dos oito balcões de atendimento, vai chamando informaticamente as senhas por ordem de chegada, com exceção da senha de atendimento prioritário, que, como o nome indica, têm prioridade no atendimento em relação às demais senhas. Através de um ecrã no centro da farmácia, os utentes conseguem ir acompanhando a chamada das senhas e o respetivo balcão de atendimento para o qual foram chamados.

Cada balcão de atendimento é constituído por um computador, um teclado, um controlador do cursor, uma impressora, um leitor de códigos e uma impressora de etiquetas. Além do equipamento individual de cada balcão, existe um equipamento comum a todos os balcões denominado de *SafePay*[®], que permite aos Farmacêuticos procederem ao pagamento das dispensas realizadas.

Dos oito balcões da farmácia, do um ao seis o atendimento é feito de modo convencional, onde tanto o Farmacêutico como o utente se encontram em posição vertical. No balcão oito o atendimento é feito sentado, quer para o Farmacêutico quer para o utente. O balcão sete encontra-se desativado.

A área de atendimento ao público é bastante espaçosa, permitindo expor uma diversidade enorme de produtos de venda livre, que os utentes podem explorar. Os produtos estão segregados em diferentes categorias, que passo a enumerar: Cabelo; Corpo e Rosto; Nutrição e Suplementos Alimentares; Bebê e Mamã; Higiene Oral; Equipamentos; Espaço Sénior.

Ainda, atrás dos balcões existem prateleiras e gavetas, onde estão armazenados os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM), segregados por diferentes categorias. Nas prateleiras estão expostos MNSRM referentes a:

- Sistema Urinário e Ginecológico
- Problemas de Pele
- Cabelo e Unhas

- Cérebro
- Multivitamínicos
- Sistema Circulatório
- Músculos e Articulações
- Sistema Digestivo
- Mal-estar geral e Febre
- Sistema Respiratório e Orofaríngeo
- Olhos e Ouvidos

Nas gavetas, e por consequência não expostos ao público, a distribuição, da esquerda para a direita, está identificada da seguinte forma, tendo em conta que nas gavetas não constam apenas

MNSRM:

| | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| Urinários | Complementaridades |
| Grávida | Aftas |
| Bebé | Soros fisiológicos |
| Caixa de arrumação de medicamentos | Receitas |
| Antifúngicos | Pomadas anti-inflamatórias |
| Ginecológicos | Compressas |
| Teste de gravidez e outros | Pré e probióticos e sistema digestivo |
| Adesivos | Detox e cólicas |
| Batons | Laxante, anti-diarreicos e antiácidos |
| Herpes e picadas | Analgésicos e antipiréticos |
| Pomadas de queimaduras e reparadoras | Sistema imunitário |
| Antissépticos | Pastilhas |
| Cabelo | Descongestionantes nasais |
| Piolhos | Anti-histamínicos |
| Calos e bolhas | Xaropes |
| Multivitamínicos | Oculares |
| Anti-tabágicos | Auriculares |
| Circulatório e hemorroidas | Seringas |

2.1.2.3 Robot [3]

O *robot* é um equipamento semi-automático que auxilia no processo de armazenamento e dispensa ao público. Dentro do *robot* estão armazenados os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM). O *robot* está inserido entre duas paredes próximas e tem duas entradas para a medicação. Nos balcões de atendimento quando um Farmacêutico faz um pedido ao *robot*, este entrega a medicação pretendida numa das zonas mais próxima possível do balcão.

2.1.2.4 Receção / Armazém [4]

Na sala de receção e armazenamento existem quatro postos onde é possível dar entrada das encomendas. É nesta sala que se tem acesso às duas entradas da medicação para o *robot*.

Uma vez que o *robot* não consegue armazenar todos os MSRM, nesta zona encontram-se várias prateleiras dispostas paralelamente onde são armazenados os medicamentos por ordem alfabética de nome comercial, separados por forma farmacêutica ou por via de administração: Comprimidos, injetáveis, xaropes, adesivo/sistema transdérmicos, via retal, colírios, soluções orais (ampolas), via inalatória, uso vaginal e granulados/pós/soluções orais em saqueta.

Ainda, encontra-se uma prateleira para os MUV (Medicamentos de Uso Veterinário) e quatro gavetas grandes onde estão armazenados os antibióticos, várias formas farmacêuticas de paracetamol e de ibuprofeno.

Parte da medicação da cadeia de frio é armazenada por ordem alfabética de nome comercial num frigorífico, que se encontra entre 2 a 8 °C, idealmente a 5 °C.

2.1.2.5 Sala de Formações [5]

A sala de formações dá acesso ao parque de estacionamento, onde os fornecedores descarregam e carregam as encomendas. A sala de formações está destinada à formação contínua dos colaboradores, por isso, encontra-se uma mesa com várias cadeiras para o efeito.

2.1.2.6 Gabinete 1 [6]

O gabinete 1 é o principal gabinete da farmácia que serve os utentes. É neste gabinete que são medidos os parâmetros bioquímicos dos utentes, que são conduzidas as consultas de nutrição, os momentos com as conselheiras de dermocosmética e onde são feitos os pensos.

O gabinete é composto por uma cadeira reclinável, um armário com material penso e antissépticos, um espectrofotómetro para a medição dos parâmetros, vários medidores da pressão arterial, uma balança, um equipamento para análise de pele, uma mesa com um computador, um contentor de resíduos biológicos e um contentor de cortantes.

2.1.2.7 Gabinete 2 [8]

O gabinete 2 é utilizado sempre quando o gabinete 1 se encontra ocupado e, também, na realização de testes rápidos que detetam o antigénio do *SARS-CoV-2* e no Programa Troca de Seringas (PTS). É um gabinete que tem uma mesa de apoio para a realização dos testes, um computador, um contentor de resíduos biológicos e um contentor de cortantes. O PTS ocorre através da interface [B].

2.1.2.8 Armazém geral

O armazém geral, situado no primeiro piso, além de armazenar grandes quantidades de produtos que já existem no piso zero da farmácia, também armazena bolsas de colostomia, que apenas se encontram nesta zona da farmácia. Ainda, a outra parte da medicação da cadeia de frio é armazenada num frigorífico nesta área da farmácia. O armazém geral tem acesso restrito ao parque de estacionamento.

2.1.2.9 Laboratório de manipulados

O laboratório dos manipulados encontrava-se em processo de mudança, uma vez que, em breve será transferido para a farmácia Misericórdia em Castro Daire. No entanto, ainda era constituído por uma bancada de apoio, uma balança analítica, algumas matérias-primas, material de laboratório e embalagens de acondicionamento primário.

2.2 Recursos Humanos

A FGV é composta por uma equipa jovem e dinâmica, constituída por catorze Farmacêuticos, sete Técnicos de Farmácia, uma Enfermeira e duas Operadoras de Armazém.

De entre os Farmacêuticos, destacam-se a Diretora Técnica da Farmácia, a Dra. Cláudia Carvalho que é responsável por todos os atos farmacêuticos tidos na Farmácia, como por exemplo, pela promoção do uso racional do medicamento, a garantia da higienização e segurança da Farmácia e o assegurar do cumprimento das regras deontológicas;(55)

O Dr. Luís Fernandes, responsável pelo Departamento de Compras e Substituto da Diretora Técnica;

A Dra. Sílvia Margarida, responsável pelo Departamento de *Marketing*;

A Dra. Marta Cosme, responsável pelo Departamento de Logística e Conservação.

2.3 Sistema Informático

O sistema informático amplamente utilizado na FGV é o *Winphar*, um sistema rápido e bastante intuitivo. O *Winphar* é um *software* que permite rececionar as encomendas, fazer movimentos de *stock* entre farmácias com o mesmo número de identificação fiscal, imprimir etiquetas, obter listagens de produtos com baixa validade, integrar o *software* com o *robot*, consultar as estatísticas das vendas, acompanhar a ficha do cliente, entre outros.(56)

Associado ao *Winphar* existe também o *YClient*, um *software* utilizado para acumulação de saldo dos utentes, que podem utilizar em dispensas futuras.

3 Informação e Documentação Científica

A profissão farmacêutica requer uma constante renovação dos conhecimentos adquiridos de forma a assegurar o correto acompanhamento do utente, deste modo, cabe à Farmácia ter a documentação científica necessária e atualizada.

Assim, a FGV tem disponível em papel a Farmacopeia Portuguesa e outros documentos indicados pelo INFARMED, tal como é exigido no Artigo 37º do Decreto-Lei nº 307/2007, de 31 de agosto. Arquivado na FGV encontram-se também os mapas de apoio à dispensa facultados pela ANF (Associação Nacional de Farmácias).

O Prontuário Terapêutico é um documento importante a ter na Farmácia, mencionado nas Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BFP)(57), tal como o Formulário Galénico Português.

O INFOMED, uma base de dados de medicamentos de uso humano, é um *site* de acesso livre e em constante atualização que se utiliza na FGV para consultar os RCM (Resumo das

Características dos Medicamentos). Também, através do *software Winphar* é possível aceder diretamente aos RCM, facilitando a pesquisa em momentos de dispensa de medicamentos.

Ainda, o CIM (Centro de Informação do Medicamento), pertencente à Ordem dos Farmacêuticos (OF) oferece vastos documentos de informação atualizados e fidedignos. (58)

A par da documentação exigida, a FGV prioriza momentos de Formação, que ajudam a consolidar diversos temas e a ter conhecimento de novos.

4 Aquisição e armazenamento de encomendas

4.1 Realização de encomendas

A gestão de *stocks* numa Farmácia é um procedimento que requer uma análise prévia de determinados fatores, de modo a suprir as necessidades dos utentes e, também, de modo a evitar faltas e excessos de *stocks*. Fatores como épocas sazonais, espaço de armazenamento, campanhas publicitárias, hábitos de prescrição dos médicos e prazos de validade têm de ser tidos em conta aquando da aquisição de novos produtos.

Na FGV distinguem-se dois tipos de encomendas, cada uma com as suas particularidades, as encomendas diretas e as encomendas diárias.

As encomendas diretas são estabelecidas diretamente com os delegados dos laboratórios e são realizadas com menos frequência em comparação com as encomendas diárias. Este tipo de encomendas acarreta uma maior vantagem comercial para a FGV, dado que estão associadas a bonificações e descontos por parte dos laboratórios devido ao elevado número de produtos adquiridos.

As encomendas diárias são pedidas aos fornecedores. Os fornecedores que trabalham com a FGV são, por ordem de preferência, a *Alliance Healthcare*, a *Empifarma*, a OCP Portugal e a Plural-Udifar.

Dentro das encomendas diárias, existem várias formas de realização de encomendas: Automática, Instantânea, Via verde e Colaboradores.

A encomenda automática, como o nome indica, é realizada automaticamente pelo *Winphar* em todos os medicamentos que estão padronizados para tal. Sempre que o *stock* atinge o *stock* mínimo estabelecido para determinado medicamento, então é realizada automaticamente uma encomenda. A encomenda automática é realizada todos os dias, quer de manhã quer da parte da tarde;

A encomenda instantânea é realizada ao balcão no ato de dispensa. Associada às encomendas instantâneas são estabelecidas reservas no *Winphar* em nome dos utentes que pretendem o produto em falta. Para a realização deste tipo de encomendas é pressionada a tecla “Y” e posteriormente seleciona-se o fornecedor preferencial. A informação relativa à previsão da chegada da encomenda é emitida pelo *Winphar* e transmitida ao utente;

A encomenda por via verde é realizada mediante uma receita médica válida quando um produto específico não tem *stock* na Farmácia. Os produtos que podem ser adquiridos por via verde estão descritos na Circular Informativa do Projeto Via Verde do Medicamento, após os titulares de AIM (Autorização de Introdução no Mercado) disponibilizarem o medicamento no projeto.(59) A encomenda por via verde é feita na presença da receita médica e pressionando a tecla “W” do teclado;

A encomenda realizada pelos colaboradores, e a par das encomendas automáticas, é também realizada quer de manhã quer da parte da tarde em medicamentos que não estão predefinidos no *Winphar* como automáticos.

4.2 Receção de encomendas e armazenamento

Diariamente, por volta das oito da manhã e por volta das quatro da tarde, os fornecedores entregam as encomendas na área reservada para o efeito na FGV. As encomendas chegam em contentores selados para garantir a inviolabilidade dos produtos adquiridos.

As encomendas são levadas para o interior da farmácia e primeiramente confirma-se o destinatário das encomendas, posteriormente são localizados os contentores de frio e é armazenada a medicação de frio. Os restantes contentores são organizados segundo a fatura, que acompanha a encomenda. Nas faturas há a indicação de quais contentores pertencem àquela encomenda. Deste modo, os contentores que pertencem à mesma fatura ficam juntos e separados dos restantes.

A entrada das encomendas é feita no *Winphar* através dos computadores da sala de receção, à exceção das encomendas automáticas.

As encomendas instantâneas, automáticas e por via verde aparecem diretamente no *software* e desta forma a entrada da medicação no sistema acaba por ser mais rápida em comparação com as encomendas diretas e elaboradas pelos colaboradores, que não aparecem no *software*.

Para estas últimas é necessário conferir as unidades rececionadas com as folhas de *Excel* que contém a informação das unidades efetivamente pedidas e uma vez que não aparecem no *Winphar* é necessário fazer receção direta para inserir a encomenda no *software*.

Estando as encomendas no *software* o processo de dar entrada de encomendas acaba por ser o mesmo, à exceção das encomendas automáticas.

Para as encomendas automáticas a receção é feita diretamente no *robot*. Para dar entrada no *robot* introduz-se o número da encomenda e automaticamente o *robot* sabe de que encomenda

especificamente se vai estar a dar entrada, posto isto, é feita a leitura ótica do código bidimensional da embalagem do medicamento e esta é colocada na entrada do *robot*. Caso o *robot* não esteja a conseguir fazer a leitura ótica do código bidimensional, então é lido o prazo de validade do medicamento e feita a leitura ótica do código de barras da embalagem referente ao CNP (Código Nacional de Produto).

Para as restantes encomendas, a entrada da encomenda é feita num computador, onde se faz a leitura ótica do CNP e confirma-se o prazo de validade. Neste caso, só se modifica a validade se associado ao CNP ainda não existir nenhum prazo de validade no sistema ou se o prazo de validade do medicamento que chegou é inferior ao prazo de validade do medicamento no sistema.

Estando a encomenda toda introduzida no *robot* ou no computador, procede-se à confirmação das unidades totais dos produtos. Caso seja coincidente, passa-se à confirmação do PVF (Preço de Venda à Farmácia) consoante o PVF indicado na fatura. É importante ter em atenção as margens de comercialização dos medicamentos e produtos de venda livre conforme o estipulado na Farmácia.

Resta finalizar a encomenda introduzindo o número da fatura, a data em que a encomenda foi enviada, os *fees* e os impostos sobre valor acrescido (IVA) e confirmando o montante final, que tem de coincidir com o indicado na fatura. A fatura é assinada, datada, coloca-se o número da encomenda e é arquivada.

Ao finalizar a encomenda, podem aparecer as reservas existentes no *Winphar*. As reservas são satisfeitas e guardadas em duas gavetas próprias até que o utente venha levantar. O utente recebe automaticamente uma mensagem em relação à chegada do produto pretendido. As reservas não pagas são guardadas durante 48 horas. As reservas ficam juntas de um talão que identifica o utente e o produto.

Após ter sido dada entrada, os produtos de venda livre com os quais os utentes têm contacto na farmácia, que se localizam no *front office*, são alarmados e etiquetados. As etiquetas são impressas diretamente pelo *Winphar*, associadas ao CNP do produto.

Aquando da chegada de um novo produto que ainda não tem ficha criada no sistema é necessário, também, proceder à criação de uma nova ficha do produto, introduzindo informações relativas aos fornecedores, ao prazo de validade, aos *stocks* máximos e mínimos e à categoria onde o produto se insere.

O armazenamento é feito segundo o critério FEFO (*First Expired, First Out*). Medicamentos psicotrópicos e estupefacientes são armazenados num local de acesso restrito, deste modo, são todos armazenados dentro do *robot*. A restante medicação encontra-se armazenada quer no *robot* quer nas prateleiras, no entanto, dentro do *robot* fica sempre a medicação com prazo de validade mais curto.

Foi nesta parte da FGV que tive oportunidade de passar metade do meu estágio, e, desta forma, participei em todas as tarefas mencionadas anteriormente.

4.3 Devoluções

As devoluções dos produtos podem ser elaboradas em diversas situações, como, por exemplo, quando são rececionadas embalagens danificadas, quando ocorrem erros no pedido, quando chegam produtos com prazo de validade muito diminuto, entre outros.

Nestas situações é emitida uma guia de devolução em triplicado. Na guia de devolução aparecem informações relativas à FGV, ao fornecedor, ao CNP, ao nome comercial do produto, à quantidade, ao respetivo motivo e ao valor de devolução. Todas as guias têm de ser impressas, autografadas e carimbadas. O original e o duplicado são enviados para o fornecedor juntamente com o produto e o triplicado é armazenado na farmácia.

Todas as devoluções criadas, posteriormente, têm de ser regularizadas. Para isto, entra-se em contacto com o fornecedor e pede-se nota de crédito do produto devolvido ou novos produtos entregues pelo delegado ou produtos a zero na encomenda.

Durante o meu percurso na FGV tive oportunidade de proceder à devolução de vários produtos que chegavam muitas vezes faturados, mas que não eram enviados e vice-versa.

4.4 Controlo de prazos de validade

O controlo de prazos de validade é fundamental para garantir a segurança e estabilidade dos produtos farmacêuticos.

No começo de cada mês é retirada uma listagem dos produtos com um prazo de validade inferior a três meses. A listagem tem informação do produto com validade diminuta e da quantidade de produtos existentes na FGV. Ela é dividida pelos colaboradores e estes têm o dever de ir confirmando os prazos de validade de todos os produtos da lista. As listas também eram divididas comigo, sendo que tive oportunidade de realizar esta tarefa.

Os produtos com prazo de validade inferior a um mês são retirados das prateleiras e colocados numa caixa destinada para o efeito. Mesmo nos medicamentos introduzidos no *robot* é necessário confirmar o prazo de validade deles, retirando-os a todos do *robot*.

Posteriormente, nos produtos com prazo de validade inferior a um mês é feita uma devolução dos mesmos ao fornecedor.

O *robot* acaba por ser um ótimo aliado na dispensa de medicamentos, dado que, no ato da dispensa retira sempre das suas prateleiras os medicamentos com prazo de validade inferior.

Os restantes produtos com prazo de validade inferior a três meses são sinalizados via *WhatsApp* num grupo da FGV, com o objetivo de se direcionarem as dispensas daqueles produtos de venda livre ao público, caso o utente demonstre que o irá terminar num prazo inferior aos três meses.

4.5 Controlo da temperatura e humidade

O controlo da temperatura e humidade é importante para garantir a conservação adequada dos produtos e a sua estabilidade.

Na FGV, o controlo de temperatura e humidade é registado através de termo higrómetros que se encontram na farmácia. A temperatura das divisões tem de estar compreendida entre 15° e 25°C, sendo que a humidade relativa tem de estar entre 40 a 60 %. O frigorífico tem de ter uma temperatura compreendida entre 2 e 8 °C.

Os registos da temperatura e humidade são analisados semanalmente por um Farmacêutico responsável e arquivados na Farmácia.

5 Dispensa de Medicamentos

A dispensa ao público é a atividade farmacêutica em que o Farmacêutico investe grande parte do seu tempo. A boa comunicação entre profissional de saúde-utente é crucial no momento de aconselhamento e dispensa farmacêutica, desta forma, o Farmacêutico deve adotar comportamentos como: adequar a sua comunicação ao utente que encontra do outro lado do balcão; manter uma postura corporal que deixe o utente confortável para partilhar o seu problema (posicionar-se para ouvir o utente); fazer várias questões para perceber bem o que trouxe o utente à Farmácia, exercendo uma escuta ativa; além da comunicação oral, escrever as indicações dadas ao utente, de forma a garantir que assimilou tudo o que foi aconselhado.

5.1 Cartão da Farmácia Grão Vasco e Ficha no *Winphar*

Na FGV o utente pode decidir se pretende aderir ao cartão da Farmácia, que o acompanha nas futuras dispensas. Com o cartão da Farmácia, o utente pode acumular 10% do valor total da sua dispensa no cartão e descontar o valor acumulado nas dispensas que se seguem.

Os profissionais de saúde não têm necessidade em ter o cartão da Farmácia, uma vez que, face à sua profissão a FGV estabelece 12% de desconto direto nas dispensas na Farmácia. Também, utentes com *Medicare* usufruem de descontos diretos nas dispensas.

Para além do cartão da Farmácia é criada a ficha do utente no *Winphar*, onde dados como nome do utente, data de nascimento, nacionalidade, morada, número de identificação fiscal, entre outros, são inseridos na ficha com consentimento escrito do próprio. A ficha do utente permite aceder ao histórico de dispensas do utente e, se aplicável, à existência de vendas suspensas e créditos. O primeiro passo na dispensa de qualquer produto é a sincronização com a ficha do utente, para, assim, o atendimento acontecer de uma forma mais fluída, dado que, o Farmacêutico tem ao seu dispor as informações relativas às dispensas do utente.

A adesão aos cartões da Farmácia e criação de fichas no *Winphar* foram muitas vezes atividades desempenhadas por mim aquando do atendimento ao público.

5.2 Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

Medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) cumprem pelo menos uma destas especificações, segundo o Artigo 114º do Decreto-Lei nº 176/2006 de 30 de agosto: “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; 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; Conttenham substâncias, ou preparações à base dessas substâncias, cuja atividade ou reações adversas seja indispensável aprofundar; Destinem-se a ser administrados por via parentérica.(60)

A dispensa de MSRM difere do tipo de receita que o utente apresenta. Existem três tipos de receitas médicas – as eletrónicas desmaterializadas, as eletrónicas materializadas e as manuais.

As receitas eletrónicas desmaterializadas são receitas prescritas por via eletrónica sem papel com validade de 12 meses, à exceção de tratamentos de curta ou média duração que têm validade de 30 dias. A validação da receita é feita automaticamente pela Base de Dados Nacional de Prescrições.(61,62)

As receitas eletrónicas materializadas são prescritas por via eletrónica e impressas em papel tendo também validade de 12 meses, à exceção de tratamentos de curta ou média duração que têm validade de 30 dias. Elas podem apresentar uma referência em letras maiúsculas tendo em conta o produto prescrito (Por exemplo, MM – refere-se à prescrição de medicamento manipulado) e podem ser prescritas até três vias. A validação da receita é feita pela Base de Dados Nacional de Prescrições, no entanto, o Farmacêutico confirma a assinatura do médico prescriptor.(62)

As receitas manuais são prescritas manualmente pelo médico prescriptor, têm validade de 30 dias independentemente da duração do tratamento e não podem ser rasuradas.

Antes da dispensa da medicação, o Farmacêutico tem o dever de verificar se a receita se encontra válida. Desta forma, confirma o número de embalagens e de linhas prescritas – a receita manual apenas pode conter quatro linhas prescritas de medicamentos diferentes e um total de quatro embalagens por receita, sendo que cada medicamento só pode ter associado duas embalagens; a validade atribuída de 30 dias; a exceção que justifica a prescrição em receita manual – falência informática ou inadaptação do prescriptor ou prescrição no domicílio ou até 40 receitas por mês; a identificação do médico prescriptor, incluindo a vinheta e a assinatura; a identificação do utente incluindo o número nacional do utente e, se aplicável, o número de beneficiário da entidade financeira responsável; a identificação do medicamento por DCI (Denominação Comum

Internacional), forma farmacêutica, dosagem, apresentação, posologia e número de embalagens.(62)

O modo de dispensa de medicação na FGV difere do tipo de receita que o utente apresenta:

Utentes com receita eletrónica desmaterializada – No *Winphar* abre-se o separador “Receita eletrónica” e introduz-se o número da receita e o código de acesso. Aparecem várias linhas, sendo que, cada linha corresponde a uma embalagem da receita e tem a descrição do medicamento, o CNP, o CNPEM (Código Nacional para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos), uma extensão para a ficha do produto, informação sobre a existência da medicação em suspenso e uma extensão dos medicamentos por os quais o utente pode optar.

O Farmacêutico seleciona a medicação que o utente pretende levantar, confirmando sempre os laboratórios com o mesmo. Utentes que tenham ficha no *Winphar* aparece, ao abrir a receita, o laboratório do medicamento que o utente costuma fazer habitualmente, sendo uma mais-valia, porque grande parte das vezes os utentes desconhecem o nome do laboratório que costumam levantar.

Segundo o Artigo 17º da Portaria n.º 263/2023, de 17 de agosto as farmácias apenas podem dispensar terapêutica para 2 meses de tratamento,(63) , salvo algumas exceções com devida justificação técnica, como: Posologia, Extravio/perda/roubo/dano do medicamento e Ausência prolongada do país.

Por fim, a medicação selecionada é transportada para o separador “Vendas Balcão” do *Winphar* e finalizada a venda. Informações relativas ao modo de administração, possíveis efeitos secundários e esclarecimentos de dúvidas que surjam ao utente são explicadas no momento da dispensa. Nas embalagens da medicação é colada uma etiqueta que irá orientar o utente sobre a posologia.

Utentes com receita eletrónica materializada – A dispensa deste tipo de receitas é muito semelhante à dispensa de receitas eletrónicas desmaterializadas, no entanto, a metade da receita referente ao guia de tratamento é entregue ao utente. No verso da receita são impressos os códigos da dispensa e é assinada pelo utente e pelo farmacêutico, carimbada e datada. A receita é arquivada na farmácia.

Utentes com receita manual – À dispensa de receitas manuais acresce a necessidade de o Farmacêutico confirmar se a receita se encontra válida. Caso a receita esteja válida, o Farmacêutico insere manualmente a medicação no separador das “Vendas Balcão” do *Winphar*. Posteriormente, é inserido o código relativo à entidade responsável. Quando a entidade responsável é o SNS (Serviço Nacional de Saúde) no “Vendas Balcão” é inserido o número 1 no espaço destinado à entidade.

Este processo exige uma dupla verificação, dado que se trata de uma transcrição manual de uma receita para o *Winphar*. Ao finalizar a dispensa, o *Winphar* solicita o número da receita médica. Após dispensa da medicação, o Farmacêutico imprime nas costas da receita os códigos da

dispensa, que é essencial para a conformidade da prescrição e da dispensa. O utente e o Farmacêutico rubricam as costas da receita, sendo também datada e carimbada pelo Farmacêutico, e esta é arquivada na Farmácia.

Ao longo do estágio tive oportunidade de dispensar vários MSRM, tanto de receitas eletrónicas como de receitas manuais. Sempre que surgiam dúvidas em relação à dispensa da medicação consultava imediatamente o RCM, disponível no *Winphar*, e os Farmacêuticos também se demonstraram sempre disponíveis para esclarecer qualquer dúvida.

Uma das situações que ocorreu durante o meu estágio foi a dispensa do inalador Anoro Ellipta® (Brometo de umeclidínio + Vilanterol), em que a utente iria iniciar o tratamento e não sabia funcionar com o inalador. De forma a ter a certeza que a informação certa passava para a utente pedi à mesma se poderia abrir a embalagem de forma a lhe mostrar o inalador e explicar os procedimentos para o uso correto. Também, orientei a utente para a leitura do folheto informativo onde constava também informação ilustrativa de como proceder à inalação.

5.2.1 Dispensa de psicotrópicos e estupefacientes

As substâncias psicotrópicas e estupefacientes estão ao abrigo do Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro.(37)

A dispensa deste tipo de medicação em Farmácia Comunitária é bastante controlada, dado os efeitos que a medicação pode suscitar nos utentes e alguns pontos importantes têm de ser cumpridos aquando da prescrição e dispensa destas substâncias.

A prescrição destas substâncias pode ser feita nos três tipos de receita, mas em receitas eletrónicas materializadas e em receitas manuais as substâncias têm de ser prescritas isoladamente, com indicação RE – prescrição de psicotrópicos e estupefacientes sujeitos a controlo.

Além disso, é necessário registar informações relativas ao doente e relativas à pessoa que efetivamente veio levantar a receita. Regista-se o nome, a data de nascimento, a morada e o número do cartão de cidadão. Após a dispensa, é guardada a impressão da dispensa dos psicotrópicos e estupefacientes no arquivo de psicotrópicos e estupefacientes da farmácia e enviadas ao fim de cada mês ao INFARMED.

5.2.2 Regimes de participação

Existem duas possibilidades de participação de medicamentos através do regime geral de participação e através do regime especial de participação.

5.2.2.1 Regime geral de participação

Os utentes do SNS e beneficiários de subsistemas públicos de saúde, são passíveis de participação por parte do estado. A participação é de 90% para o escalão A, 69% para o escalão B, 37% para o escalão C e 15% para o escalão D do PVP (Preço de Venda ao Público).(64)

5.2.2.2 Regime especial de participação

No regime especial de participação, a participação é em função dos beneficiários ou da patologia ou grupos especiais de utentes ou dos cidadãos estrangeiros com estatuto de refugiados ou com direito de asilo em Portugal.

Aos pensionistas acresce 5% no escalão A e 15% nos restantes escalões.(62)

5.2.2.3 Participação em complementaridade com outras entidades

Além da participação do SNS, vários utentes usufruem de sistemas de participação em complementaridade com outras entidades.

Na FGV tive oportunidade de dispensar medicamentos nestas condições. Atendi utentes com as seguintes complementaridades: Tranquilidade – Seguradoras Unidas, Multicare, SAMS (Serviço de Assistência Médico-Social), EDP-Sávida, Abem, SNQTB (Sindicato Nacional dos Quadros e Técnicos Bancários). A complementaridade é introduzida manualmente aquando da dispensa no *Winphar* e o cartão do beneficiário é validado. Após a dispensa, a impressão da dispensa das complementaridades é arquivada na Farmácia.

5.3 Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica e Automedicação

Os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) são, segundo o Artigo 115º Decreto-Lei nº 176/2006 de 30 de agosto, todos os outros medicamentos que não cumpram nenhuma condição dos MSRMs.(60)

A dispensa de MNSRM muitas vezes está associada à Automedicação, tendo em conta que o utente chega à Farmácia a pedir especificamente um MNSRM. No entanto, cabe ao Farmacêutico perceber e explicar qual a melhor opção para o utente.

As situações passíveis de automedicação estão descritas no Despacho n.º 17690/2007, de 10 de agosto.(65)

A dispensa de MNSRM foi um grande desafio na minha passagem pela Farmácia Comunitária. Os colaboradores acompanharam-me e esclareceram-me muitas dúvidas relativas às situações passíveis de automedicação, orientando-me em relação às perguntas mais pertinentes a fazer ao utente nestas situações.

De seguida, menciono algumas situações que presenciei durante o meu estágio na FGV:

- Queixa de uma utente com irritação, desconforto e ardor vaginal

Questionei a utente relativamente à duração e frequência dos sintomas. Tratava-se de uma situação recente, de há 2 dias, e não recorrente.

Questionei a utente relativamente à existência de corrimento vaginal. Existia corrimento esbranquiçado sem cheiro característico.

Questionei a utente se era diabética, ou se fez recentemente tratamento com antibióticos ou corticosteroides. A utente não se encontrava em nenhuma destas situações.

Desta forma, tendo em conta a situação da utente, optei por dispensar clotrimazol 10 mg/g em creme vaginal. Para complementar, questionei a utente se utilizava um produto de higiene íntima apropriado, como a resposta foi negativa sugeri o *Lactacyd Sensitive*[®].

- Queixa de um utente com congestão e comichão nasal

Questionei o utente relativamente à duração dos sintomas. Era uma situação recente, de há 3 dias.

Questionei o utente relativamente há existência de outros sintomas, como rinorreia, espirros, olhos lacrimejantes, febre. Não tinha mais nenhum sintoma para além dos mencionados.

Questionei o utente relativamente à frequência dos sintomas. Tratava-se de uma situação isolada.

Questionei o utente relativamente à existência de outras condições associadas, como hipertensão. Não apresentava quadros de hipertensão.

Dispensei uma solução para pulverização nasal, o Rinerge[®] (oximetazolina 0,5 mg/mL), associado a um anti-histamínico H1, o Cetix[®] (cetirizina 10mg).

- Queixa de um utente com indisposição no estômago associado a algum desconforto e inchaço.

Questionei o utente relativamente à duração dos sintomas. Era um situação que durava há duas horas.

Questionei o utente relativamente ao início dos sintomas. Os sintomas começavam pouco tempo depois de fazer as grandes refeições.

Questionei o utente relativamente à existência de alguma condição, por exemplo, gastrite, refluxo gástrico, úlcera gástrica. Achava que não tinha nenhuma dessas condições.

Dispensei o RefluZero[®] comprimidos para tomar durante dois dias e posteriormente o Digespan[®] (pantoprazol 20mg) comprimidos para tomar durante catorze dias.

- Um utente chegou à Farmácia a solicitar o Dulcolax[®].

Questionei o porquê de o utente querer tomar este medicamento, de forma a perceber os sintomas em causa. Estava com dificuldade em defecar há cerca de uma semana.

Questionei a recorrência dos sintomas. O utente partilhou que costuma ter este tipo de problema e que recorre ao Dulcolax[®] (bisacodilo 5 mg).

Expliquei a forma de atuação do Dulcolax® em comparação com um laxante osmótico e o utente percebeu a problemática associada à habituação dos laxantes de contacto, como é o caso do Dulcolax®, acabando por dispensar o Laevolac® (lactulose) xarope 10g/15mL.

Perante situações passíveis de automedicação e após o atendimento do utente, o Farmacêutico pode registar o CNP do Serviço de Intervenção Farmacêutica perante uma Situação Clínica Ligeira e preencher o formulário explicativo da situação. O formulário vem parcialmente preenchido com o CNP dos produtos dispensados.

5.4 Dispensa ao Domicílio

A FGV tem serviço de entrega ao domicílio. Os utentes ligam para a FGV e o colaborador que atender a chamada regista no *Winphar* os produtos que o utente pretende e finaliza a dispensa. Os domicílios são entregues no próprio dia se forem efetuados até às 13 horas. As entregas ocorrem por volta das 15 horas, em carro próprio da FGV.

O nome do utente, contacto telefónico, morada, valor a pagar e forma de pagamento são registadas manualmente em papel que acompanha o saco do utente ao domicílio, para que, a colaboradora que fizer a entrega saiba exatamente as informações sobre o domicílio. O registo *online* dos domicílios também é efetuado em *Excel* partilhado pela equipa da FGV.

Enquanto estive no período de *back office* tive oportunidade de satisfazer vários pedidos ao domicílio.

5.5 Programa de Entrega Medicamentos de Proximidade (PemProxi)

O Programa PemProxi do CHUC (Centro Hospitalar Universitário de Coimbra) visa aumentar a adesão à terapêutica e a redução dos custos das deslocações periódicas ao hospital de utentes que cumprem os critérios de inclusão com razões válidas da dificuldade de deslocação ao CHUC.

Os utentes que escolham a FGV como ponto de destino da sua medicação hospitalar podem deslocar-se até à Farmácia para levantar a sua medicação depois de preencherem e fazerem chegar ao CHUC os documentos de informação do doente e de aceitação da participação no Programa PemProxi por parte da Farmácia.

A FGV receciona e armazena a medicação até à chegada do utente. A folha farmacoterapêutica que acompanha os medicamentos tem de ser devolvida ao CHUC.

Todos os intervenientes do programa são identificados, desde o Farmacêutico, que envia a medicação, à distribuidora e ao Farmacêutico que receciona a medicação.

5.6 Medicamentos Esgotados

Durante todo o meu estágio na FGV uma série de medicamentos encontravam-se esgotados, como é o caso do Concerta® (metilfenidato), da Trulicity® (dulaglutido) e do Ozempic® (semaglutido). Os utentes muitas vezes chegavam à Farmácia à procura deste tipo de medicamentos e, por vezes, não entendiam a problemática dos medicamentos esgotados e insistiam na possibilidade de efetuar um pedido a algum dos fornecedores, o que não era uma opção.

Depois de algum diálogo com os utentes eles percebiam que realmente um produto esgotado não tem previsão de chegada nem possibilidade de fazer uma encomenda instantânea.

Na FGV o procedimento a seguir nesta situação era questionar o utente se pretendia criar uma reserva em seu nome, que o permitia ficar numa lista de espera para o medicamento pretendido.

Quando eventualmente chegassem algumas unidades começavam-se a satisfazer as reservas mais antigas e, neste caso, para além da mensagem automática que o utente recebe ao se satisfazer uma reserva, também se estabelecia contacto telefónico com o utente, dada a extensão das listas de espera.

5.7 Venda Suspensa

Em situações excecionais, na FGV procedia-se a uma venda suspensa, nomeadamente quando o utente não tinha nenhuma receita válida, no entanto, tinha um comprovativo de que habitualmente fazia determinada medicação para uma situação crónica. O histórico da medicação habitual no *Winphar* ou a apresentação de receitas antigas ou a consulta das receitas médicas antigas do doente através da Área Pessoal do SNS(66) serviam como comprovativo para se proceder à cedência de medicação crónica de uma forma segura, no entanto, alertava-se o utente da importância de consultar o seu médico o quanto antes para ser novamente avaliado e para regularizar a medicação suspensa na Farmácia assim que possível.

Numa venda suspensa o utente não tem direito a qualquer comparticipação, sendo devolvida a diferença no ato de regularização da medicação suspensa.

5.8 Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

5.8.1 Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Segundo o Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de setembro, produto cosmético é “qualquer substância ou preparação 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 aspecto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais”.(67)

Considero a FGV muito rica em produtos de dermocosmética, sendo a categoria com maior número de produtos expostos ao público.

Podem se encontrar marcas mais conceituadas como é o caso da *SkinCeuticals*[®], *Filorga*[®] e *Martiderm*[®] e também, marcas relativamente mais acessíveis, como *CeraVe*[®], *SVR*[®], *ISDIN*[®], *Eucerin*[®], *Bioderma*[®], *Uriage*[®], *Avène*[®], *La Roche-Posay*[®], *Vichy*[®], entre muitas outras.

Na Farmácia, algumas destas marcas oferecem aos utentes benefícios ao adquirirem produtos das suas marcas. As dispensas realizadas são posteriormente registadas no cartão da marca de cada utente acompanhado dos CNP dispensados e da impressão da faturação. Ao se atingirem os diferentes patamares impostos pelas marcas, os utentes são recompensados.

Durante o meu estágio na FGV senti alguma dificuldade no aconselhamento dermocosmético dado o elevado número de marcas disponíveis.

5.8.2 Produtos dietéticos para alimentação especial e infantil

Segundo o Decreto-Lei n.º 216/2008, de 11 de novembro, entende-se por produto dietético para alimentação especial “uma categoria de géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial, sujeitos a processamento ou formulação especial, com vista a satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes e para consumo sob supervisão médica, destinando-se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade limitada, diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar géneros alimentícios correntes ou alguns dos nutrientes neles contidos ou seus metabólicos, ou cujo estado de saúde determina necessidades nutricionais particulares que não géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial ou por uma combinação de ambos.” (68)

Na FGV os produtos mais dispensados são da marca *Fresubin*[®], no entanto, também existe a opção da *Fortimel*[®]. Em armazém e expostos aos utentes existe uma gama bastante ampla de *Fresubin*[®], que inclui, produtos de comer e de beber. Na FGV existe regularmente em *stock* para beber do *Fresubin*[®] 3.2 kcal, do *Fresubin*[®] 2 kcal, do *Fresubin*[®] Pro, do *Fresubin*[®] Energy, do *Fresubin*[®] Protein Energy, do *Fresubin*[®] DB, do *Fresubin*[®] Original, do *Fresubin*[®] Jucy e do *Fresubin*[®] Renal e para comer o *Fresubin*[®] 2kcal e o *Fresubin*[®] DB. Os utentes podem optar pelo sabor que melhor lhes aprouver.

Durante o meu estágio na Farmácia Comunitária tive oportunidade de dispensar alguns *Fresubin*[®] para determinadas condições específicas, por exemplo, o *Fresubin*[®] DB dispensei para um utente com Diabetes e o *Fresubin*[®] Protein Energy para uma utente com perda de peso não intencional.

No entanto, é necessário desmistificar os pedidos de muitos utentes que, ao verem produtos equiparados a iogurtes nas prateleiras, demonstram interesse em levar para casa, no entanto, não têm nenhuma condição que implique ingerirem este tipo de produtos.

Em vigor, encontra-se uma campanha dos Fresubin®, que o utente ao adquirir a quarta embalagem, leva uma quinta embalagem a preço zero.

Em relação aos produtos dietéticos infantis, a FGV apresenta também um grande leque de leites em pó para substituição ou suplementação do leite materno, nomeadamente da gama NAN® e da gama Novalac®.

Dentro da gama NAN®, a farmácia dispõe do NAN® SUPREMEpro e do NAN® OPTIpro que são duas opções para lactentes saudáveis e que podem acompanhar a fase de crescimento do bebé, havendo uma transição para um NAN® apropriado à idade do bebé. Dispõe também do NAN® EXPERTpro A.R. para lactentes com regurgitação, do NAN® EXPERTpro TOTAL para lactentes com obstipação, cólicas e regurgitação. Ainda, os leites com indicação HA são indicados para lactentes hipoalergénicos. A gama Novalac® acaba por acompanhar o seguimento da gama NAN®, disponibilizando leites para as mesmas finalidades.

5.8.3 Dispositivos médicos

Segundo o Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho, dispositivo médico é “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o *software* destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico ou terapêuticos e que seja necessário para o bom funcionamento do dispositivo médico, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios, destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para fins de: Diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença; Diagnóstico, controlo, tratamento, atenuação ou compensação de uma lesão ou de uma deficiência; Estudo, substituição ou alteração da anatomia ou de um processo fisiológico; Controlo da concepção.”(69)

No meu estágio na FGV, dispensei poucas vezes sacos para ostomia e preservativos e com alguma frequência meias de compressão.

A dispensa de meias de compressão acaba por ser feita por encomenda aos fornecedores, dada a variedade de meias existentes no mercado. Um exemplo que presenciei enquanto estava no atendimento ao balcão foi de uma utente que trouxe uma receita médica com a indicação de umas meias de compressão Juzo® AD Classe II 2702 Tamanho I, que especificamente é uma meia abaixo do joelho (AD) de compressão média (Classe II) com biqueira de malha extrafina (2702) entre 27 a 33 cm (Tamanho I). A meia de compressão específica foi pedida por via telefone à *Alliance Healthcare*.

Quando os utentes chegam sem indicação médica à Farmácia, cabe ao Farmacêutico proceder à correta medição dos diâmetros da perna do utente e encomendar a meia que melhor se adequa às suas dimensões. A medição tem de ser feita pouco tempo depois do utente acordar.

5.8.4 Fitoterapia e suplementos alimentares

A fitoterapia é um modo de terapia que utiliza plantas medicinais para prevenir diversas doenças, como é o caso da ansiedade, *stress*, insónia, colesterol elevado, retenção de líquidos, entre muitas outras doenças.(70)

NA FGV encontram-se vários produtos da marca *Arkopharma*[®], *Fitos*[®], *Advancis*[®] e *Aquilea*[®]. Durante o meu estágio tive oportunidade de dispensar o produto *Aquilea*[®] *Relax* para um utente que pretendia um produto natural e que ia fazer uma viagem de avião, mas tinha algum receio e sentia-se *stressado*.

Também, dispensei uma infusão de sene para uma utente que vinha especificamente à procura de um “chá de sene”, alertando para a possibilidade de sentir algumas cólicas caso ingerisse uma quantidade grande desta infusão.

Os suplementos alimentares são complementos à alimentação normal dos utentes e não devem ser vistos como um substituto da alimentação. São constituídos por concentrados de substâncias nutritivas, comercializados em forma doseada.(71)

Habitualmente, os utentes vão à procura de suplementação para a memória, fadiga muscular e multivitamínicos.

Durante o meu estágio, tive oportunidade de acompanhar a dispensa do produto Arroz Vermelho da marca *BioKygen*[®] para um utente que apresentava colesterol elevado.

Também, dispensei suplementação de magnésio para um utente que relatou episódios de cansaço muscular e de tremores na pálpebra.

5.8.5 Medicamentos de uso veterinário

Considera-se medicamento de uso veterinário o que cumpre qualquer uma das seguintes especificações: “É apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais; Destina-se a ser utilizada nos animais ou a ser-lhes administrada com vista a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas ao exercer uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica; Destina-se a ser utilizada em animais para fazer um diagnóstico médico; Destina-se a ser utilizada para a eutanásia de animais;”(72)

A FGV tem parceria com a *Global Vet* para apoio à dispensa de Medicamentos de Uso Veterinário. A *Global Vet* proporciona uma linha de apoio durante 24 horas com médico veterinário e formações contínuas na Farmácia.

De forma a facilitar a dispensa deste tipo de medicação, as prateleiras definidas para a medicação veterinária estão organizadas por situação clínica e forma farmacêutica. Na prateleira podem-se encontrar os seguintes nomes comerciais: *Pilucat*[®], *Anthelmin*[®], *Drontal*[®], *Seresto*[®], *Scalibor*[®], *Amflee*[®], *Bravecto*[®], *Ataxxa*[®], *Advantix*[®], entre outros.

Na minha passagem pela FGV tive a oportunidade de dispensar medicação para situações de desparasitação interna e externa de cães, dependendo do seu peso, e anticoncepcionais para gatos.

6 Preparação de Medicamentos

6.1 Medicamentos Manipulados

Segundo a Portaria n.º 594/2004, de 2 de Junho, medicamento manipulado é “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um Farmacêutico”.(43)

Sendo que, preparado oficial entende-se por “qualquer medicamento preparado segundo as indicações compendiais, de uma farmacopeia ou de um formulário, em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares, destinado a ser dispensado diretamente aos doentes assistidos por essa farmácia ou serviço” e fórmula magistral entende-se por “o medicamento preparado em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares segundo receita que especifica o doente a quem o medicamento se destina”.(43)

Aquando do meu estágio na FGV, a Farmácia tinha um laboratório destinado à manipulação de medicamentos, no entanto, encontrava-se em processo de desconstrução e transferência para a Farmácia Misericórdia de Castro Daire. Contudo, cumpria com os equipamentos mínimos obrigatórios a apresentar num laboratório, legislados pela Deliberação n.º 1500/2004, 7 de dezembro.(73)

Com maior frequência, na FGV era necessário manipular preparados oficinais em relação às fórmulas magistrais, sendo que, os utentes chegam à farmácia com uma receita médica válida. Após analisada a prescrição médica, era dado o parecer ao utente em relação à manipulação ou não do medicamento prescrito. Dada a desconstrução do laboratório, de momento apenas eram aceites algumas manipulações, como, pó antitranspirante, vaselina salicilada, vaselina com enxofre, solução aquosa de ácido bórico e suspensão oral de nitrofurantoína. No entanto, o utente nunca ficava sem resposta, era sempre reencaminhado para um outro local onde fosse possível procederem à manipulação ou era encomendado o manipulado ao laboratório Luciano e Matos. Esta última situação aconteceu comigo ao balcão, onde um utente tinha prescrito um manipulado de ivermectina e foi necessário reencaminhar a manipulação para o laboratório Luciano e Matos.

Tive oportunidade de manipular o pó anti-transpirante, a suspensão oral de nitrofurantoína e a vaselina com enxofre. Os procedimentos a seguir, após a validação da receita médica são os seguintes:

- Garantir as normas básicas de higiene do pessoal
- Ir preenchendo a ficha de preparação
- Manipular segundo as regras básicas de segurança no laboratório

- Verificar as características organoléticas, a conformidade com a Farmacopeia Portuguesa e a quantidade
- Debitar as matérias-primas utilizadas na folha de matérias-primas.
- Elaborar o rótulo, recorrendo aos *templates* disponíveis na FGV e rotular a embalagem de acondicionamento e a ficha de preparação.
- Calcular o PVP, recorrendo à folha de Excel do cálculo do PVP de manipulados disponível na FGV.
- Imprimir as etiquetas com o PVP e etiquetar a embalagem de acondicionamento.
- Guardar na gaveta destinada aos manipulados
- Arquivar a cópia da receita médica, a ficha de preparação e a folha do cálculo do PVP após assinatura e verificação da Diretora Técnica da FGV

A manipulação é executada por um Farmacêutico e supervisionada por um segundo Farmacêutico.

O cálculo do PVP é efetuado segundo a Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho, utilizando a seguinte fórmula: (Valor dos honorários + Valor das matérias-primas + Valor dos materiais de embalagem) x 1,3, acrescido o valor do IVA à taxa em vigor.(74)

O valor dos honorários depende de um Fator (F), atualizado anualmente. No presente ano, o F é de 5,75.

Posteriormente, dependendo do manipulado prescrito, este pode ser passível de comparticipação em 30% do PVP do medicamento manipulado. A Portaria n.º 160/2023, de 12 de junho define quais são as substâncias ativas e as respetivas formas farmacêuticas passíveis de comparticipação.(75)

Dos medicamentos que tive oportunidade de manipular a suspensão oral de nitrofurantoína é um exemplo de manipulado comparticipado.

6.2 Preparações Extemporâneas

As preparações extemporâneas são manipuladas no ato de dispensa.

Na FGV tive oportunidade de proceder à preparação extemporânea de alguns medicamentos, nomeadamente de antibióticos para a população pediátrica.

No folheto informativo estão mencionadas as indicações para reconstituição. Por norma, os frascos de antibióticos contêm uma linha indicadora do volume da solução.

Tive oportunidade de reconstituir o antibiótico Clavamox DT® (amoxicilina + ácido clavulânico) e Cipamox® (amoxicilina). Para começar, é necessário agitar o frasco para soltar bem o pó, adicionar poucas quantidades de água destilada, ir agitando e por fim, perfazer até à linha indicadora e agitar novamente.

7 Serviços prestados

7.1 Medição parâmetros bioquímicos

Na Farmácia Grão Vasco a medição de parâmetros bioquímicos é efetuada com o auxílio de um espectrofotómetro, adicionando o reagente, a enzima e o capilar com o sangue do utente pela ordem e segundo orientações disponíveis no equipamento, que se encontra no gabinete 1.

Na FGV é possível proceder à medição da glicémia, do colesterol total, da lipoproteína de alta densidade, de triglicéridos e do ácido úrico.

À exceção do ácido úrico, tive oportunidade de realizar a medição dos restantes parâmetros mencionados anteriormente.

7.2 Medição pressão arterial

A medição da pressão arterial na FGV pode ser efetuada de formas diferentes, no gabinete 1:

Pode ser feita uma medição única, onde o utente senta-se em repouso, é-lhe colocada a braçadeira do tensiómetro e é efetuada uma única medição da sua pressão arterial;

Medição AOBP (*Automated Office Blood Pressure*), onde o utente senta-se confortavelmente no cadeirão, é colocado a braçadeira do tensiómetro e são descontados 5 minutos até ao início das medições. São efetuadas 3 medições e no fim o aparelho mostra a média das três medições;

MAPA (Monitorização Ambulatória da Pressão Arterial) onde o utente tem de agendar uma ida à Farmácia para colocação e retirada do tensiómetro. O utente fica com o aparelho durante 48 horas e no momento da colocação são feitas três medições teste, para confirmar a correta colocação do equipamento. Posteriormente são feitas medições de hora a hora. Ao fim das 48 horas o utente regressa à Farmácia, é-lhe retirado o equipamento e o Farmacêutico valida o MAPA e explica ao utente os resultados do mesmo. Os resultados são facultados ao utente, dentro de um envelope, para o mesmo poder mostrar ao seu médico. A FGV é uma das farmácias pertencentes à UAH (Unidade de Apoio ao Hipertenso).

Durante o meu estágio na FGV tive oportunidade de atender utentes que queriam fazer a medição da pressão arterial única e da AOBP. Acompanhei também um Farmacêutico na realização de MAPA.

7.3 Medição parâmetros antropométricos

Na FGV o utente pode solicitar a medição do peso. No gabinete 1 encontra-se uma balança inteligente que, para além do peso do utente, também indica a percentagem de massa gorda, a percentagem de massa magra e o IMC (Índice de Massa Corporal), sendo que, foi um dos serviços que tive oportunidade de desempenhar durante o estágio.

7.4 Aluguer de Material de Ortopedia

O aluguer de material ortopédico é um dos serviços disponibilizados pela FGV. Aquando da dispensa ao público tive oportunidade de fazer a recolha das muletas de um utente.

O utente tinha requisitado duas muletas para um prazo de 15 dias e passado o tempo definido entregou as muletas na FGV. O registo do levantamento e entrega do material ortopédico é registado em dossier próprio.

7.5 Administração de vacinas e injetáveis

A administração de vacinas e injetáveis é frequente na FGV e ocorre no gabinete 1. A administração é feita por Farmacêuticos com formação na administração de vacinas e de medicamentos injetáveis.

Antes da administração é registado informaticamente e em papel o nome do utente, o número de utente de saúde, o CNP, a validade e o lote do medicamento administrado, o local anatómico onde será administrado, a identificação do Farmacêutico que irá administrar e possíveis doenças e reações aquando de administrações anteriores.

7.6 Programa Troca de Seringas (PTS)

O Programa Troca de Seringas é um dos serviços disponíveis na Farmácia Grão Vasco e surgiu na sequência da prevalência de VIH (Vírus da Imunodeficiência Humana) e VHC (Vírus da Hepatite C). Cada *kit* do PTS é constituído por duas unidades de seringas, toalhetes desinfetantes, ampolas de água bidestilada, filtros, recipientes para preparação das substâncias, carteiras de ácido cítrico e um folheto informativo. (76)

Durante o meu estágio tive oportunidade de dispensar vários *kits* do PTS. A troca é feita na interface B, onde os utentes têm à sua disposição um contentor de cortantes onde podem introduzir as seringas antigas e uma zona por onde o Farmacêutico dispensa os *kits* pretendidos pelo utente. Ainda que a dispensa dos *kits* seja gratuita ela tem de ser registada no *Winphar*.

7.7 Preparação Individualizada da Medicação (PIM)

A Preparação Individualizada da Medicação (PIM) é um serviço disponibilizado pela FGV, no entanto, é na Farmácia Misericórdia, em Castro Daire, que é preparada a medicação.

De forma a acompanhar o processo, um dia do meu estágio foi passado na Farmácia Misericórdia. No primeiro piso da Farmácia Misericórdia encontram-se as áreas de preparação da medicação, nomeadamente da PIM.

A PIM é efetuada sobretudo para utentes residentes em Lares de forma a ajudar no trabalho do enfermeiro, mas também, para qualquer outro utente que queira usufruir do serviço e que seja

elegível para tal, que por norma são utentes que estão a cargo de cuidadores informais ou que têm dificuldade a gerir a sua medicação.

Para a FGV, as PIM são preparadas num equipamento semiautomático de 14 em 14 dias, após atualizações dos planos terapêuticos e validação farmacêutica.



Figura 15 - Equipamento semiautomático de reembalagem

Na Farmácia Misericórdia, segundo o plano terapêutico do utente é dispensado pelo equipamento da Figura 15 as saquetas de reembalagem da medicação. As saquetas são dispensadas por utente com as horas e os dias de toma organizadas. A medicação administrada à mesma hora do mesmo dia é embalada toda dentro da mesma saqueta. Cada saqueta tem a informação relativa ao nome do utente, ao dia e hora de toma, às substâncias ativas a administrar e dois códigos bidimensionais. Aparecem dois códigos bidimensionais iguais para garantir que pelo menos um deles é lido, sendo que os códigos têm a função de identificar a medicação que deveria estar dentro das saquetas e permitir comparar com a medicação que o equipamento semiautomático de reembalagem colocou dentro da saqueta.

Após a reembalagem de toda a medicação dos utentes da FGV, esta passa por um outro equipamento que faz a leitura visual da medicação presente dentro de cada saqueta e a leitura ótica dos códigos bidimensionais. No sistema informático aparecem identificadas as saquetas que este equipamento detetou que não estariam conformes. As saquetas identificadas são manipuladas de forma que a medicação dos utentes fique de acordo com o plano terapêutico.

Além da verificação por parte deste equipamento, a verificação de todas as saquetas também é feita manualmente pelos colaboradores.

Durante o meu dia no laboratório das PIM tive oportunidade de participar em todo o processo de preparação da medicação, desde a desblisteragem das formas sólidas, à reposição de medicação em falta nas cassetes do equipamento semiautomático até à conferência das saquetas quer manualmente quer no sistema informático.

7.8 Teste rápido antigénio SARS-CoV-2

Os utentes que pretendam perceber se contraíram o vírus SARS-CoV-2, podem recorrer à FGV para a realização do teste rápido de antigénio. O teste é efetuado no gabinete 2 por um colaborador da FGV e ao fim de 10 minutos os resultados são anotados através da plataforma da ANF, que faz a comunicação direta com o SINAVE-lab (Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica) e são impressos para o utente.

Durante o meu estágio procedi muitas vezes à realização de testes rápido de antigénio ao SARS-CoV-2.

7.9 FarmaDrive

O serviço *FarmaDrive* está disponível durante todo o dia, sendo a única forma de dispensa ao público da meia-noite às oito da manhã. O atendimento Farmadrive acontece a partir da janela de interface A, com o auxílio de microfone e coluna, de forma a estabelecer a comunicação entre utente e Farmacêutico.

Durante o período noturno fica um Farmacêutico na farmácia a fazer as dispensas, sendo que tive oportunidade de ficar com a Diretora Técnica da Farmácia a presenciar e a fazer os atendimentos noturnos.

7.10 Outros serviços

Os utentes podem recorrer à FGV também para obterem um acompanhamento nutricional, por parte de uma nutricionista externa à FGV.

O teste rápido para a deteção qualitativa do antigénio *Streptococcus A* e o teste rápido para a deteção qualitativa de anticorpos de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) também podem ser feitos na FGV, sendo que este último tive oportunidade de realizar.

Um utente que pretenda ter uma avaliação facial também tem o serviço disponível na FGV.

8 Formação Contínua

Durante o meu percurso pela Farmácia Grão Vasco tive oportunidade de participar em várias formações que foram acontecendo na Farmácia quase todas as semanas, que passo a nomear:

Produtos Curaprox® – 30 minutos

Produtos Bioscalin® – 2 horas

Formação medicamentos de uso veterinário – 1 hora

Produtos Pierre Fabre® Oral Care – 30 minutos

Produtos FotoIsdin® – 30 minutos

Produtos Heliocare® e Elancyl® – 1 hora

Produtos Bella Aurora® – 1 hora

Programa Ezfy® – 1 hora

Produtos Epaplus® – 15 minutos

Produtos Reckitt® (Nurofen®, Strepfen®, Strepils®) – 30 minutos

Produtos Frontline® e Frontpro® – 45 minutos

9 Contabilidade e Gestão

Na FGV existe uma Farmacêutica responsável pela conferência do receituário e pela faturação, procedimentos que são supervisionados posteriormente pela Diretora Técnica da Farmácia.

As receitas manuais e as receitas eletrónicas materializadas são confirmadas pela Farmacêutica responsável e agrupadas em lotes.

Mensalmente, até ao último dia do mês, procede-se ao fecho dos lotes. Cada lote é composto por trinta faturas. Através do mapa resumo da situação de entidades consegue-se acompanhar as entidades que têm de ser fechadas no presente mês, o número de lotes, o número de faturas, entre outros.

Os seguintes documentos têm de se enviar por correio para o serviço de faturação de entidades da ANF, até ao oitavo dia de cada mês: Resumo dos lotes, os verbetes indicativos e a fatura. Para a ANF são enviadas as faturas originais, os duplicados e os triplicados. Na FGV ficam as faturas quadruplicadas e para a contabilidade é enviado as quintuplicadas. Para além do envio por correio, as faturas são exportadas informaticamente para a ANF, no entanto, é necessário importar manualmente no site da ANF todas as complementaridades que não entram automaticamente.

Posteriormente, a ANF procede à validação dos documentos enviados, em especial das receitas médicas manuais. Caso alguma receita médica se encontre não conforme, são devolvidas à FGV, existindo a possibilidade de alteração do erro. Sempre que estiver tudo conforme o valor referente das participações é devolvido à FGV.

Durante o meu estágio tive oportunidade de presenciar as Farmacêuticas a desempenharem os procedimentos acima mencionados, presenciando o fecho dos lotes do mês de junho.

10 Análise SWOT

Strengths (FORÇA)

A Farmácia aberta 24 horas permite ter contacto com realidades diferentes de utentes: na parte da manhã recebemos muitos doentes idosos, que pretendem dispensar as suas receitas; na parte da tarde recebemos um misto de utentes em que alguns realmente pretendem só dispensar as receitas, como de outros utentes que procuram mais aconselhamento dermocosmético e atendimentos de situações clínicas ligeiras; no período noturno é comum atender utentes vindos das urgências gerais do Hospital.

A Formação Contínua é um ponto bastante positivo, tendo em conta a frequência de formações que ocorrem na FGV.

A equipa da FGV sempre incansáveis comigo, muito preocupados em me acompanhar, orientar e explicar as situações que iam aparecendo.

Weakenesses (FRAQUEZAS)

Por ser uma farmácia muito movimentada, há alturas do dia que a fila de espera é extensa, havendo algum descontentamento por parte do utente, ainda que, todos os balcões tenham Farmacêuticos a atender.

Insegurança no aconselhamento farmacêutico em situações clínicas ligeiras e em aconselhamento dermocosmético face à grande oferta destes últimos.

Oportunities (OPORTUNIDADES)

Diversos serviços farmacêuticos. A FGV, para além do atendimento ao balcão, oferece uma serie de serviços farmacêuticos, que o utente procura com bastante frequência.

Cartão do utente com acumulação de 10% do valor da sua dispensa e desconto imediato para profissionais de saúde colocam a FGV num patamar de preferência das demais Farmácias do distrito.

Threats (AMEAÇAS)

Os medicamentos esgotados são um entrave no seguimento da terapêutica dos utentes e era difícil explicar aos utentes que determinado medicamento se encontra esgotado, não havendo forma de o conseguir dispensar. Também quando determinado laboratório se encontrava esgotado,

havendo outros laboratórios disponíveis, existia alguma resistência por parte do utente na mudança de laboratório.

11 Conclusão

O meu percurso pela Farmácia Grão Vasco, em Viseu, proporcionou-me uma experiência bastante enriquecedora no que concerne à farmácia comunitária. Ao longo de três meses tive oportunidade de consolidar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas e de desenvolver novas competências, sobretudo no atendimento farmacêutico ao público. Tive também oportunidade de pôr em prática algumas técnicas adquiridas na unidade curricular de Farmácia Galénica, na preparação de medicamentos manipulados.

Enfrentei vários desafios, como a gestão de medicamentos esgotados, sendo um obstáculo no seguimento terapêutico dos utentes.

O aconselhamento farmacêutico de MNSRM e produtos de venda livre também se demonstrou ser um grande desafio, no entanto, considero que foi sendo ultrapassado no contacto repetido das situações clínicas ligeiras.

Estes desafios permitiram-me desenvolver uma maior capacidade de comunicação e empatia com o utente.

Outro aspeto relevante foi o contacto com o serviço de Preparação Individualizada da Medicação (PIM), sendo crucial a intervenção farmacêutica no apoio à adesão à terapêutica e na gestão da terapêutica de utentes polimedicados, proporcionando-me uma visão mais profunda sobre a personalização dos cuidados farmacêuticos.

A formação contínua foi outro ponto fulcral durante o meu estágio, que me foi dando informações e curiosidades que considero bastante importantes aquando do atendimento ao público, pois proporcionavam-me maior autonomia e confiança e permitiu-me manter atualizada face à evolução da indústria farmacêutica.

Em suma, o estágio na Farmácia Grão Vasco foi crucial no meu desenvolvimento enquanto profissional e no meu desenvolvimento enquanto indivíduo, preparando-me para enfrentar com maior competência e confiança desafios que acabam por ser inerentes à prática farmacêutica.

Referências Bibliográficas

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia Médica 7ª Edição, Capítulo 73.
2. Mendes AP. Candidíase vulvovaginal. CIM - Centro de Informação do Medicamento. 2020 Dec;
3. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia Médica 7ª Edição, Capítulo 69.
4. Sudbery P, Gow N, Berman J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. Trends Microbiol. 2004 Dec;12(7):317–24.
5. Goering R, Dockrell H, Zuckerman M, Chiodini P. Medical Microbiology and Immunology 6ª Edição, Capítulo 4.
6. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia Médica 7ª Edição, Capítulo 65.
7. Gulati M, Nobile CJ. *Candida albicans* biofilms: Development, regulation, and molecular mechanisms. Microbes Infect. 2016 Dec;18(5):310–21.
8. Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology 12ª Edição, Capítulo 50. 2007.
9. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiologia Médica 7ª Edição, Capítulo 68.
10. Brunton LL, Brunton LL, Chabner BA. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman 12ª Edição, Capítulo 57. Grupo A - AMGH; 2012. 2101 p.
11. Song JL, Harry JB, Eastman RT, Oliver BG, White TC. The *Candida albicans* Lanosterol 14- α -Demethylase (ERG11) Gene Promoter Is Maximally Induced after Prolonged Growth with Antifungal Drugs. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Dec;48(4):1136–44.
12. Macwan SR, Dabhi BK, Aparnathi KD, Prajapati JB. Essential Oils of Herbs and Spices: Their Antimicrobial Activity and Application in Preservation of Food. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2016 Dec;5(5):885–901.
13. Jardim Botânico UTAD | *Cymbopogon citratus*.
14. Ekpenyong CE, Akpan E, Nyoh A. Chinese Journal of Natural Medicines ‘Review’ Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts. Vol. 13, Chinese Journal of Natural Medicines. 2015. p. 321–337.
15. *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor | Plants of the World Online | Kew Science.
16. Oliveira WA De, Pereira FDO, Luna GCDG de, Lima IO, Wanderley PA, Lima RB de, Lima E de O. Antifungal Activity Of *Cymbopogon winterianus* Jowitt Ex Bor Against *Candida albicans*. Brazilian Journal of Microbiology. 2011;42:433–41.
17. *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Will. Watson | Plants of the World Online | Kew Science.
18. Gao S, Liu G, Li J, Chen J, Li L, Li Z, Zhang X, Zhang S, Thorne RF, Zhang S. Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil (*Cymbopogon flexuosus*) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* Species. Front Cell Infect Microbiol. 2020 Dec;10.

19. Kola-Mustapha AT, Aliu MH, Bello RH, Adedeji OJ, Ghazali YO. The Formulation and Evaluation of *Melaleuca alternifolia* Cheel and *Cymbopogon flexuosus* Linn Essential Oils Emulgel for the Treatment of Vulvovaginal Candidiasis. Gels. 2023 Dec;9(12).
20. Palmeira-De-Oliveira A, Gaspar C, Palmeira-De-Oliveira R, Silva-Dias A, Salgueiro L, Cavaleiro C, Pina-Vaz C, Martinez-de-Oliveira J, Queiroz JÁ, Rodrigues AG. The anti-*Candida* activity of *Thymbra capitata* essential oil: Effect upon pre-formed biofilm. J Ethnopharmacol. 2012 Dec;140(2):379–83.
21. M27 M44S | Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, 3ª Edição.
22. Antimicrobial Synergy Study – Checkerboard Testing - Emery Pharma.
23. Córdoba S, Vivot W, Szusz W, Albo G. Antifungal Activity of Essential Oils Against *Candida* Species Isolated from Clinical Samples. Mycopathologia. 2019 Dec;184(5):615–23.
24. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. Int J Food Microbiol. 2004 Dec;94(3):223–53.
25. Schaneberg BT, Khan IA. Comparison of extraction methods for marker compounds in the essential oil of lemon grass by GC. J Agric Food Chem. 2002 Dec;50(6):1345–9.
26. Carson CF, Hammer KA, Riley T V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. Clin Microbiol Rev. 2006 Dec;19(1):50–62.
27. de Barros PP, Rossoni RD, de Souza CM, Scorzoni L, Fenley JDC, Junqueira JC. *Candida* Biofilms: An Update on Developmental Mechanisms and Therapeutic Challenges. Mycopathologia. 2020 Dec;185(3):415–24.
28. Manual da Farmácia Hospitalar - INFARMED, I.P.
29. Unidade Local de Saúde de Viseu Dão-Lafões, EPE – SNS.
30. Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento - aprendis.
31. Sobre as Compras Públicas – SPMS.
32. Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar - Aquisição e Armazenamento.
33. Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar - Distribuição.
34. Portaria n.º 210/2018 | DR.
35. Regimes excecionais de comparticipação - INFARMED, I.P.
36. Psicotrópicos e Estupefacientes - INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. 2010.
37. Decreto-Lei n.º 15/93 | DR.
38. Neves MJ. Medicamentos Derivados do Plasma Humano.
39. Despacho Conjunto n.º 1051/2000 | DR.
40. Manual de Preparação de Citotóxicos - Normas Profissionais - Publicações - Ordem dos Farmacêuticos.
41. Nutrição parenteral: O que é, para que serve e como administrar - Tua Saúde.
42. Sousa A, Martins C, Freitas O, Lourenço R. Ordem dos Farmacêuticos - manual de nutrição artificial.
43. Portaria n.º 594/2004 | DR.

44. O que é a Farmacovigilância? - Artigos - Ordem dos Farmacêuticos.
45. Farmacovigilância - INFARMED, I.P.
46. Lei da investigação clínica | DR.
47. Falcão A, Mirco A, Martins M, Rodrigues M, Duarte M, Pereira M, Pinheiro R. Boas Práticas em Farmacocinética Clínica.
48. Despacho n.º 2325/2017 | DR.
49. Decreto-Lei n.º 80/2018 | DR.
50. Despacho n.º 10901/2022 | DR.
51. A Farmácia Comunitária - Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos.
52. Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos.
53. Farmacêuticos em Números - Ordem dos Farmacêuticos.
54. Farmácia Grão Vasco | | Farmácia Grão Vasco.
55. Decreto-Lei n.º 307/2007 | DR.
56. Winphar - Sistema de Informação para Farmácias.
57. Santos H, Cunha I, Coelho P, Cruz P, Botelho R, Faria G, Marques C, Gomes A. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF2009) - Ordem dos Farmacêuticos. 2009.
58. Apresentação - Centro de Informação do Medicamento - Serviços - Ordem dos Farmacêuticos.
59. Projeto Via Verde do Medicamento - Publicações - INFARMED, I.P.
60. Regime jurídico dos medicamentos de uso humano | DR.
61. Receita sem papel - SNS24.
62. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde - INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. 2024 Dec;
63. Análise Jurídica - Portaria n.º 263/2023 | DR.
64. Portaria n.º 195-D/2015 | DR.
65. Despacho n.º 17690/2007 | DR.
66. Área Pessoal do SNS24 - Login.
67. Decreto-Lei n.º 189/2008 | DR.
68. Decreto-Lei n.º 216/2008 | DR.
69. Decreto-Lei n.º 145/2009 | DR.
70. Fitoterapia: O que é, para que serve, benefícios e como é feita - Tua Saúde.
71. Suplementos Alimentares – DGAV.
72. Medicamentos Veterinários – DGAV.
73. Deliberação n.º 1500/2004, 7 de Dezembro.
74. Portaria n.º 769/2004 | DR.
75. Portaria n.º 160/2023 | DR.
76. Portaria n.º 301-A/2016 | DR.

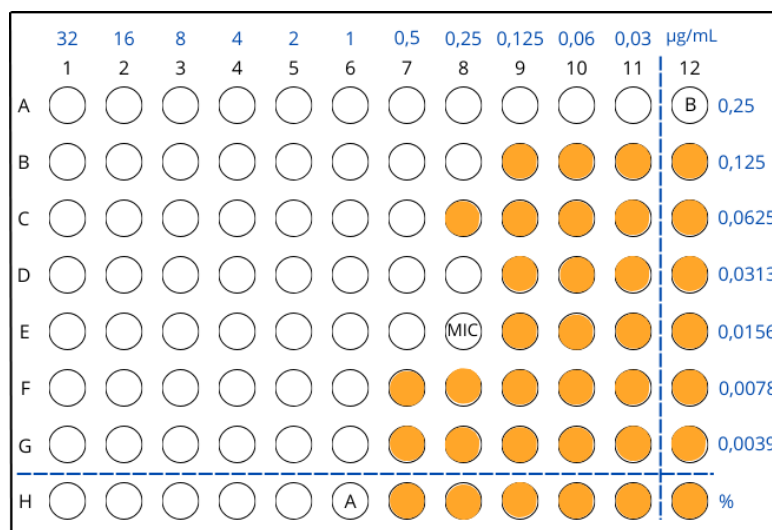
Anexos

Determinação da MIC

Anexo I - Leitura das absorvâncias do ensaio 1 de *C. citratus* 0,25% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,051 | 0,054 | 0,051 | 0,048 | 0,047 | 0,053 | 0,051 | 0,051 | 0,054 | 0,05 | 0,052 | 0,05 |
| B | 0,05 | 0,05 | 0,048 | 0,05 | 0,047 | 0,063 | 0,058 | 0,053 | 0,125 | 0,138 | 0,166 | 0,376 |
| C | 0,053 | 0,049 | 0,047 | 0,051 | 0,049 | 0,048 | 0,053 | 0,083 | 0,228 | 0,247 | 0,244 | 0,561 |
| D | 0,055 | 0,053 | 0,048 | 0,049 | 0,047 | 0,048 | 0,058 | 0,091 | 0,198 | 0,25 | 0,269 | 0,371 |
| E | 0,059 | 0,048 | 0,048 | 0,055 | 0,054 | 0,048 | 0,051 | 0,07 | 0,178 | 0,268 | 0,166 | 0,563 |
| F | 0,057 | 0,061 | 0,063 | 0,048 | 0,066 | 0,099 | 0,187 | 0,316 | 0,243 | 0,228 | 0,195 | 0,652 |
| G | 0,055 | 0,056 | 0,047 | 0,048 | 0,06 | 0,165 | 0,377 | 0,148 | 0,342 | 0,213 | 0,204 | 0,489 |
| H | 0,054 | 0,052 | 0,049 | 0,046 | 0,047 | 0,064 | 0,07 | 0,115 | 0,18 | 0,161 | 0,182 | 0,406 |

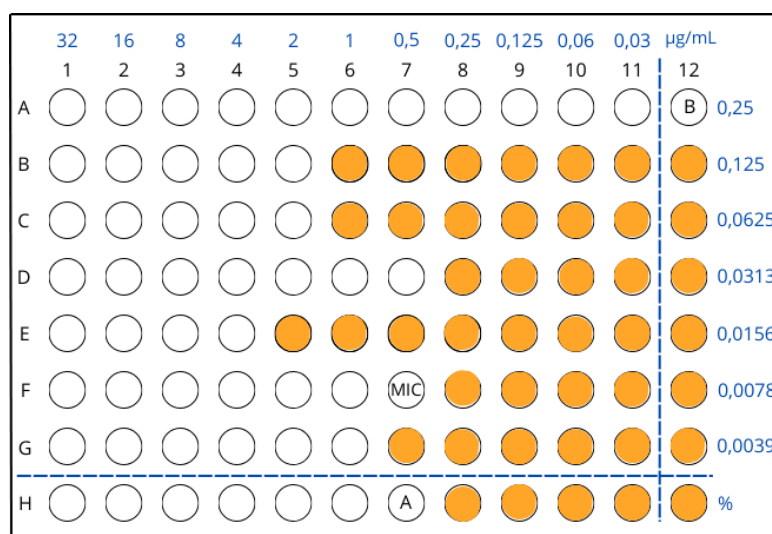
Anexo II - Leitura visual do ensaio 1 de *C. citratus* 0,25% (V/V)



Anexo III - Leitura das absorvâncias do ensaio 2 de *C. citratus* 0,25% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,047 | 0,055 | 0,051 | 0,057 | 0,048 | 0,05 | 0,052 | 0,052 | 0,052 | 0,053 | 0,306 | 0,442 |
| B | 0,055 | 0,052 | 0,048 | 0,047 | 0,054 | 0,078 | 0,116 | 0,172 | 0,238 | 0,268 | 0,285 | 0,488 |
| C | 0,051 | 0,053 | 0,05 | 0,048 | 0,056 | 0,098 | 0,138 | 0,172 | 0,237 | 0,249 | 0,278 | 0,573 |
| D | 0,052 | 0,052 | 0,051 | 0,048 | 0,05 | 0,07 | 0,109 | 0,155 | 0,224 | 0,235 | 0,262 | 0,536 |
| E | 0,052 | 0,052 | 0,049 | 0,05 | 0,111 | 0,08 | 0,106 | 0,147 | 0,165 | 0,18 | 0,169 | 0,554 |
| F | 0,058 | 0,056 | 0,051 | 0,048 | 0,055 | 0,048 | 0,048 | 0,079 | 0,117 | 0,134 | 0,169 | 0,56 |
| G | 0,052 | 0,055 | 0,049 | 0,051 | 0,047 | 0,056 | 0,105 | 0,11 | 0,185 | 0,166 | 0,167 | 0,533 |
| H | 0,054 | 0,054 | 0,047 | 0,048 | 0,047 | 0,047 | 0,048 | 0,076 | 0,103 | 0,152 | 0,242 | 0,574 |

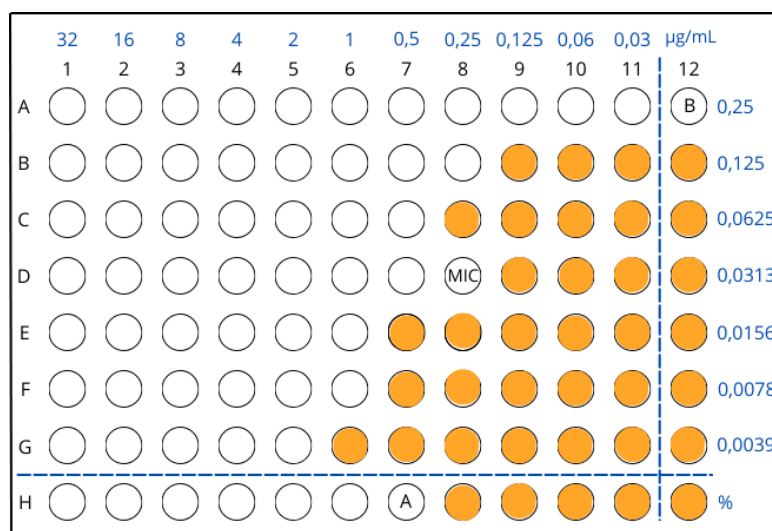
Anexo IV - Leitura visual do ensaio 2 de *C. citratus* 0,25% (V/V)



Anexo V - Leitura das absorvâncias do ensaio 3 de *C. citratus* 0,25% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,051 | 0,05 | 0,05 | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,052 | 0,048 | 0,048 | 0,049 | 0,05 | 0,06 |
| B | 0,049 | 0,052 | 0,049 | 0,048 | 0,047 | 0,047 | 0,05 | 0,066 | 0,089 | 0,192 | 0,245 | 0,524 |
| C | 0,06 | 0,055 | 0,05 | 0,049 | 0,047 | 0,048 | 0,068 | 0,152 | 0,235 | 0,302 | 0,343 | 0,504 |
| D | 0,072 | 0,051 | 0,049 | 0,05 | 0,051 | 0,048 | 0,055 | 0,101 | 0,186 | 0,317 | 0,396 | 0,548 |
| E | 0,055 | 0,056 | 0,07 | 0,077 | 0,052 | 0,057 | 0,105 | 0,163 | 0,241 | 0,312 | 0,373 | 0,582 |
| F | 0,053 | 0,054 | 0,051 | 0,051 | 0,048 | 0,067 | 0,095 | 0,133 | 0,152 | 0,283 | 0,321 | 0,585 |
| G | 0,053 | 0,051 | 0,049 | 0,124 | 0,062 | 0,11 | 0,12 | 0,169 | 0,167 | 0,221 | 0,292 | 0,593 |
| H | 0,055 | 0,056 | 0,047 | 0,051 | 0,051 | 0,049 | 0,049 | 0,057 | 0,074 | 0,093 | 0,108 | 0,613 |

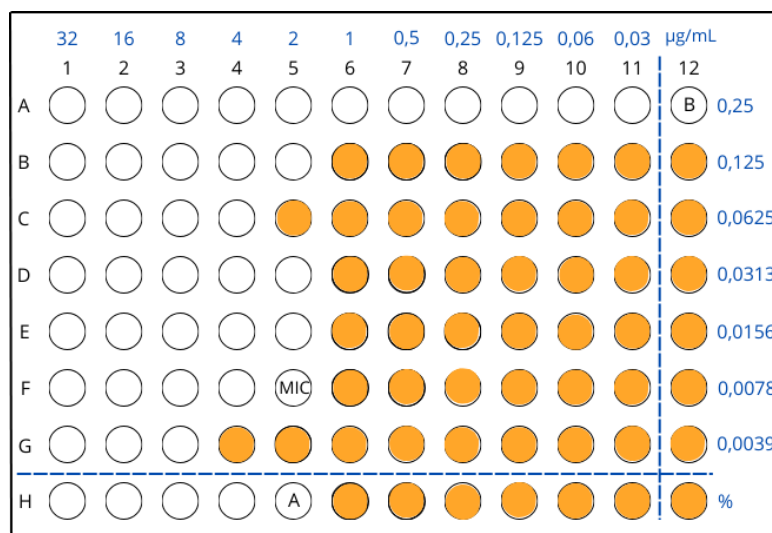
Anexo VI - Leitura visual do ensaio 3 de *C. citratus* 0,25% (V/V)



Anexo VII - Leitura das absorvâncias do ensaio 4 de *C. citratus* 0,25% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,053 | 0,051 | 0,05 | 0,048 | 0,046 | 0,052 | 0,054 | 0,053 | 0,057 | 0,06 | 0,061 | 0,063 |
| B | 0,062 | 0,066 | 0,05 | 0,082 | 0,099 | 0,133 | 0,25 | 0,257 | 0,304 | 0,321 | 0,334 | 0,568 |
| C | 0,076 | 0,067 | 0,074 | 0,128 | 0,163 | 0,244 | 0,254 | 0,239 | 0,275 | 0,286 | 0,31 | 0,563 |
| D | 0,052 | 0,062 | 0,05 | 0,063 | 0,129 | 0,146 | 0,199 | 0,181 | 0,298 | 0,317 | 0,347 | 0,572 |
| E | 0,048 | 0,054 | 0,048 | 0,075 | 0,122 | 0,129 | 0,147 | 0,202 | 0,274 | 0,322 | 0,376 | 0,557 |
| F | 0,055 | 0,067 | 0,05 | 0,071 | 0,124 | 0,143 | 0,169 | 0,206 | 0,278 | 0,329 | 0,362 | 0,561 |
| G | 0,067 | 0,061 | 0,143 | 0,162 | 0,178 | 0,198 | 0,204 | 0,265 | 0,29 | 0,314 | 0,324 | 0,578 |
| H | 0,048 | 0,041 | 0,067 | 0,088 | 0,112 | 0,169 | 0,241 | 0,266 | 0,365 | 0,412 | 0,493 | 0,542 |

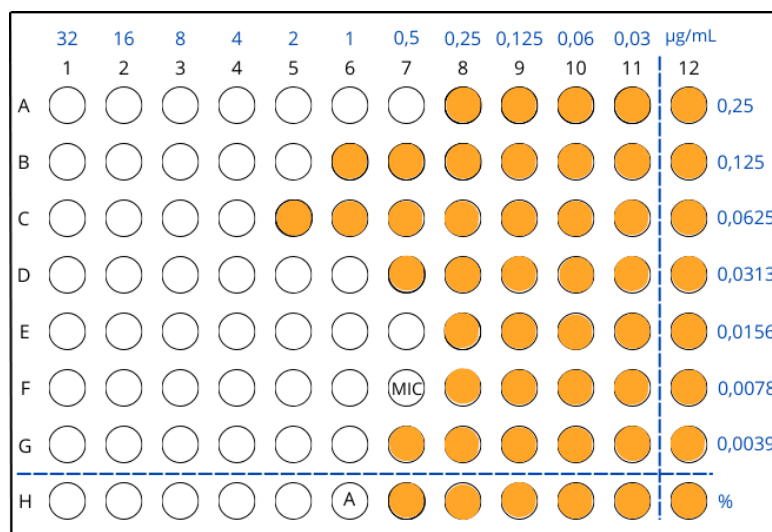
Anexo VIII - Leitura visual do ensaio 4 de *C. citratus* 0,25% (V/V)



Anexo IX - Leitura das absorvâncias do ensaio 5 de *C. winterianus* 0,25% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,063 | 0,068 | 0,055 | 0,062 | 0,055 | 0,074 | 0,082 | 0,141 | 0,199 | 0,268 | 0,292 | 0,593 |
| B | 0,05 | 0,049 | 0,047 | 0,047 | 0,06 | 0,12 | 0,183 | 0,205 | 0,234 | 0,258 | 0,268 | 0,594 |
| C | 0,053 | 0,052 | 0,048 | 0,05 | 0,124 | 0,246 | 0,22 | 0,253 | 0,272 | 0,277 | 0,271 | 0,633 |
| D | 0,052 | 0,054 | 0,047 | 0,049 | 0,048 | 0,052 | 0,176 | 0,254 | 0,268 | 0,266 | 0,287 | 0,647 |
| E | 0,051 | 0,048 | 0,052 | 0,047 | 0,05 | 0,048 | 0,05 | 0,186 | 0,246 | 0,227 | 0,241 | 0,628 |
| F | 0,055 | 0,05 | 0,049 | 0,048 | 0,05 | 0,052 | 0,052 | 0,192 | 0,243 | 0,231 | 0,255 | 0,591 |
| G | 0,051 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,05 | 0,054 | 0,189 | 0,214 | 0,232 | 0,257 | 0,22 | 0,597 |
| H | 0,05 | 0,047 | 0,05 | 0,048 | 0,05 | 0,05 | 0,099 | 0,199 | 0,187 | 0,186 | 0,179 | 0,657 |

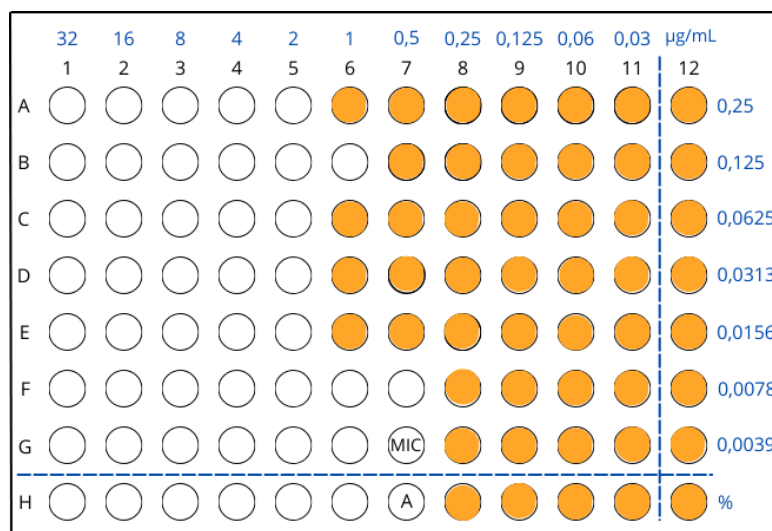
Anexo X - Leitura visual do ensaio 5 de *C. winterianus* 0,25% (V/V)



Anexo XI - Leitura das absorvâncias do ensaio 6 de *C. winterianus* 0,25% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,052 | 0,056 | 0,054 | 0,056 | 0,063 | 0,121 | 0,378 | 0,319 | 0,415 | 0,488 | 0,553 | 0,593 |
| B | 0,051 | 0,047 | 0,047 | 0,053 | 0,053 | 0,075 | 0,093 | 0,148 | 0,155 | 0,222 | 0,201 | 0,63 |
| C | 0,06 | 0,049 | 0,048 | 0,05 | 0,377 | 0,174 | 0,188 | 0,191 | 0,169 | 0,202 | 0,195 | 0,621 |
| D | 0,058 | 0,055 | 0,049 | 0,049 | 0,068 | 0,124 | 0,169 | 0,219 | 0,189 | 0,214 | 0,237 | 0,602 |
| E | 0,051 | 0,056 | 0,048 | 0,05 | 0,053 | 0,119 | 0,191 | 0,224 | 0,231 | 0,25 | 0,253 | 0,667 |
| F | 0,061 | 0,06 | 0,049 | 0,049 | 0,051 | 0,053 | 0,075 | 0,186 | 0,165 | 0,193 | 0,198 | 0,523 |
| G | 0,057 | 0,053 | 0,05 | 0,051 | 0,05 | 0,051 | 0,054 | 0,138 | 0,126 | 0,155 | 0,149 | 0,545 |
| H | 0,053 | 0,052 | 0,054 | 0,05 | 0,047 | 0,049 | 0,049 | 0,056 | 0,09 | 0,1 | 0,102 | 0,604 |

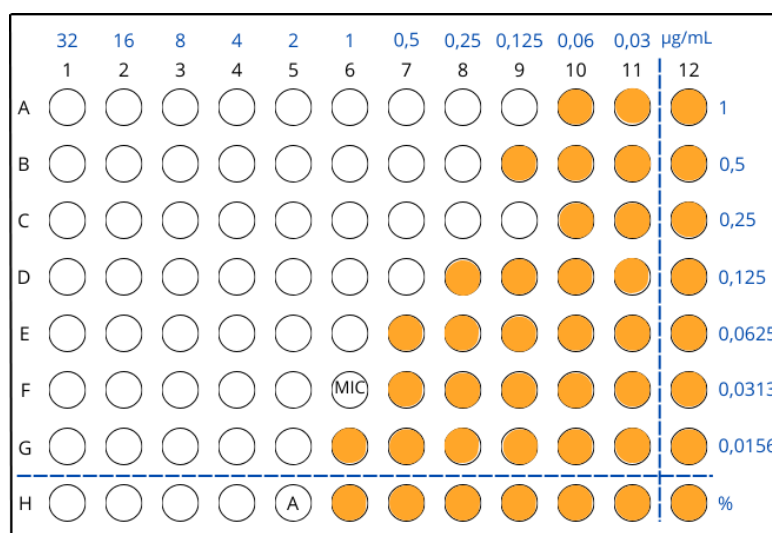
Anexo XII - Leitura visual do ensaio 6 de *C. winterianus* 0,25% (V/V)



Anexo XIII - Leitura das absorvâncias do ensaio 7 de *C. winterianus* 1% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,051 | 0,055 | 0,049 | 0,05 | 0,047 | 0,053 | 0,053 | 0,049 | 0,053 | 0,282 | 0,245 | 0,387 |
| B | 0,055 | 0,052 | 0,049 | 0,046 | 0,047 | 0,047 | 0,048 | 0,049 | 0,091 | 0,209 | 0,469 | 0,414 |
| C | 0,056 | 0,051 | 0,051 | 0,048 | 0,051 | 0,049 | 0,049 | 0,052 | 0,071 | 0,155 | 0,229 | 0,433 |
| D | 0,073 | 0,054 | 0,052 | 0,05 | 0,05 | 0,048 | 0,052 | 0,065 | 0,138 | 0,178 | 0,224 | 0,455 |
| E | 0,061 | 0,057 | 0,053 | 0,055 | 0,057 | 0,051 | 0,084 | 0,135 | 0,161 | 0,19 | 0,172 | 0,438 |
| F | 0,067 | 0,059 | 0,055 | 0,047 | 0,052 | 0,1 | 0,144 | 0,152 | 0,226 | 0,192 | 0,173 | 0,441 |
| G | 0,058 | 0,054 | 0,052 | 0,052 | 0,052 | 0,103 | 0,203 | 0,158 | 0,233 | 0,209 | 0,138 | 0,562 |
| H | 0,105 | 0,067 | 0,046 | 0,055 | 0,095 | 0,13 | 0,164 | 0,154 | 0,166 | 0,19 | 0,338 | 0,497 |

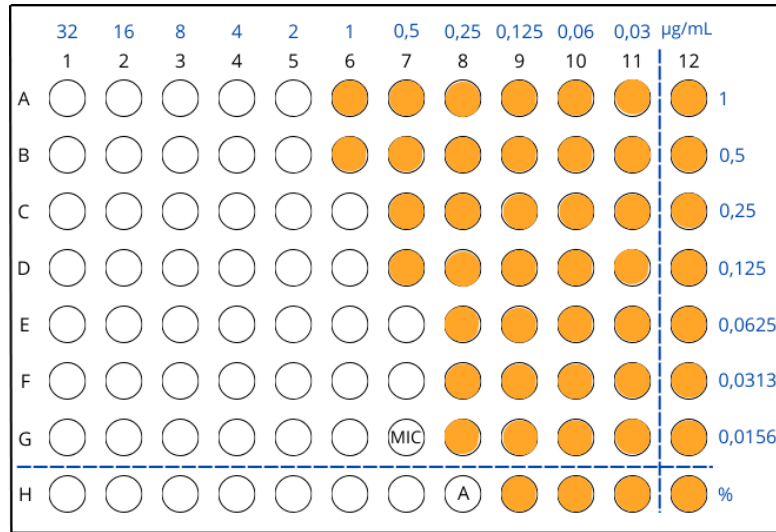
Anexo XIV - Leitura visual do ensaio 7 de *C. winterianus* 1% (V/V)



Anexo XV - Leitura das absorvâncias do ensaio 8 de *C. winterianus* 1% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,064 | 0,047 | 0,047 | 0,05 | 0,059 | 0,059 | 0,1 | 0,121 | 0,146 | 0,139 | 0,167 | 0,268 |
| B | 0,096 | 0,048 | 0,049 | 0,05 | 0,053 | 0,067 | 0,085 | 0,131 | 0,124 | 0,172 | 0,28 | 0,525 |
| C | 0,121 | 0,068 | 0,05 | 0,052 | 0,049 | 0,056 | 0,088 | 0,116 | 0,153 | 0,156 | 0,249 | 0,534 |
| D | 0,083 | 0,067 | 0,052 | 0,05 | 0,052 | 0,055 | 0,073 | 0,108 | 0,12 | 0,157 | 0,292 | 0,376 |
| E | 0,16 | 0,078 | 0,047 | 0,051 | 0,049 | 0,055 | 0,076 | 0,103 | 0,134 | 0,181 | 0,162 | 0,343 |
| F | 0,089 | 0,062 | 0,049 | 0,048 | 0,051 | 0,051 | 0,052 | 0,063 | 0,129 | 0,117 | 0,281 | 0,519 |
| G | 0,118 | 0,085 | 0,049 | 0,048 | 0,052 | 0,052 | 0,053 | 0,065 | 0,115 | 0,238 | 0,163 | 0,626 |
| H | 0,113 | 0,077 | 0,051 | 0,048 | 0,049 | 0,049 | 0,051 | 0,054 | 0,074 | 0,086 | 0,104 | 0,653 |

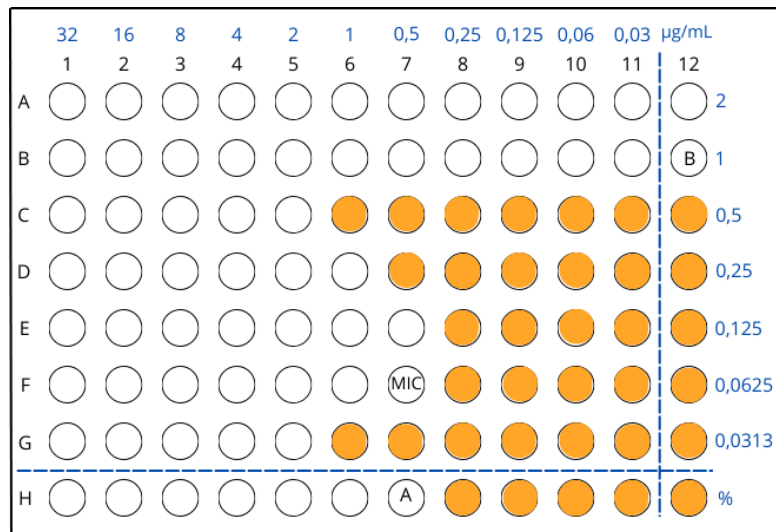
Anexo XVI - Leitura visual do ensaio 8 de *C. winterianus* 1% (V/V)



Anexo XVII - Leitura das absorvâncias do ensaio 9 de *C. winterianus* 2% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,048 | 0,051 | 0,049 | 0,049 | 0,047 | 0,047 | 0,047 | 0,049 | 0,05 | 0,047 | 0,064 | 0,089 |
| B | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,049 | 0,052 | 0,047 | 0,047 | 0,049 | 0,055 | 0,048 | 0,049 | 0,048 |
| C | 0,067 | 0,054 | 0,05 | 0,057 | 0,055 | 0,061 | 0,104 | 0,111 | 0,124 | 0,141 | 0,143 | 0,157 |
| D | 0,051 | 0,049 | 0,046 | 0,046 | 0,049 | 0,056 | 0,064 | 0,117 | 0,214 | 0,223 | 0,215 | 0,296 |
| E | 0,05 | 0,053 | 0,048 | 0,061 | 0,05 | 0,049 | 0,047 | 0,05 | 0,164 | 0,261 | 0,298 | 0,371 |
| F | 0,055 | 0,049 | 0,081 | 0,047 | 0,053 | 0,05 | 0,05 | 0,053 | 0,099 | 0,206 | 0,332 | 0,461 |
| G | 0,053 | 0,057 | 0,051 | 0,047 | 0,048 | 0,057 | 0,058 | 0,07 | 0,115 | 0,172 | 0,318 | 0,467 |
| H | 0,102 | 0,083 | 0,051 | 0,051 | 0,049 | 0,051 | 0,051 | 0,082 | 0,091 | 0,094 | 0,142 | 0,492 |

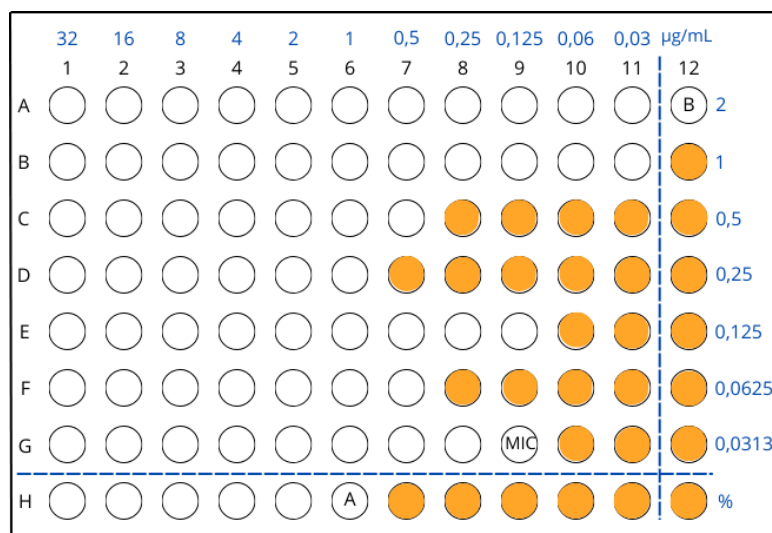
Anexo XVIII - Leitura visual do ensaio 9 de *C. winterianus* 2% (V/V)



Anexo XIX - Leitura das absorvâncias do ensaio 10 de *C. winterianus* 2% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,047 | 0,051 | 0,049 | 0,052 | 0,05 | 0,052 | 0,049 | 0,047 | 0,061 | 0,049 | 0,053 | 0,056 |
| B | 0,048 | 0,051 | 0,048 | 0,049 | 0,047 | 0,047 | 0,048 | 0,047 | 0,046 | 0,046 | 0,051 | 0,112 |
| C | 0,052 | 0,052 | 0,043 | 0,049 | 0,049 | 0,05 | 0,048 | 0,06 | 0,09 | 0,123 | 0,131 | 0,277 |
| D | 0,053 | 0,05 | 0,062 | 0,051 | 0,052 | 0,079 | 0,075 | 0,269 | 0,254 | 0,251 | 0,238 | 0,337 |
| E | 0,067 | 0,056 | 0,054 | 0,064 | 0,048 | 0,053 | 0,047 | 0,05 | 0,05 | 0,059 | 0,086 | 0,37 |
| F | 0,05 | 0,051 | 0,05 | 0,051 | 0,052 | 0,048 | 0,048 | 0,053 | 0,083 | 0,202 | 0,307 | 0,414 |
| G | 0,063 | 0,052 | 0,051 | 0,058 | 0,049 | 0,046 | 0,047 | 0,053 | 0,054 | 0,064 | 0,063 | 0,439 |
| H | 0,052 | 0,052 | 0,047 | 0,049 | 0,05 | 0,053 | 0,065 | 0,072 | 0,089 | 0,103 | 0,131 | 0,489 |

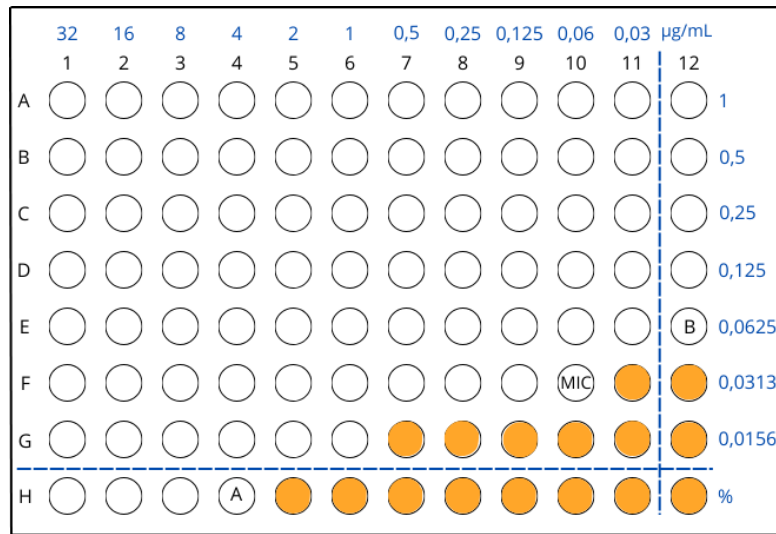
Anexo XX - Leitura visual do ensaio 10 de *C. winterianus* 2% (V/V)



Anexo XXI - Leitura das absorvâncias do ensaio 11 de *C. flexuosus* 1% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,058 | 0,053 | 0,05 | 0,049 | 0,048 | 0,052 | 0,048 | 0,055 | 0,051 | 0,054 | 0,05 | 0,05 |
| B | 0,056 | 0,05 | 0,047 | 0,05 | 0,048 | 0,05 | 0,048 | 0,048 | 0,047 | 0,05 | 0,05 | 0,046 |
| C | 0,049 | 0,055 | 0,051 | 0,049 | 0,054 | 0,051 | 0,05 | 0,049 | 0,048 | 0,052 | 0,048 | 0,048 |
| D | 0,051 | 0,056 | 0,054 | 0,05 | 0,049 | 0,058 | 0,045 | 0,047 | 0,052 | 0,05 | 0,049 | 0,048 |
| E | 0,066 | 0,052 | 0,054 | 0,05 | 0,051 | 0,049 | 0,046 | 0,046 | 0,049 | 0,056 | 0,051 | 0,053 |
| F | 0,047 | 0,048 | 0,05 | 0,046 | 0,048 | 0,05 | 0,048 | 0,05 | 0,05 | 0,056 | 0,057 | 0,078 |
| G | 0,068 | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,055 | 0,051 | 0,063 | 0,074 | 0,123 | 0,241 | 0,496 | 0,322 |
| H | 0,05 | 0,048 | 0,046 | 0,058 | 0,159 | 0,297 | 0,259 | 0,345 | 0,352 | 0,357 | 0,286 | 0,495 |

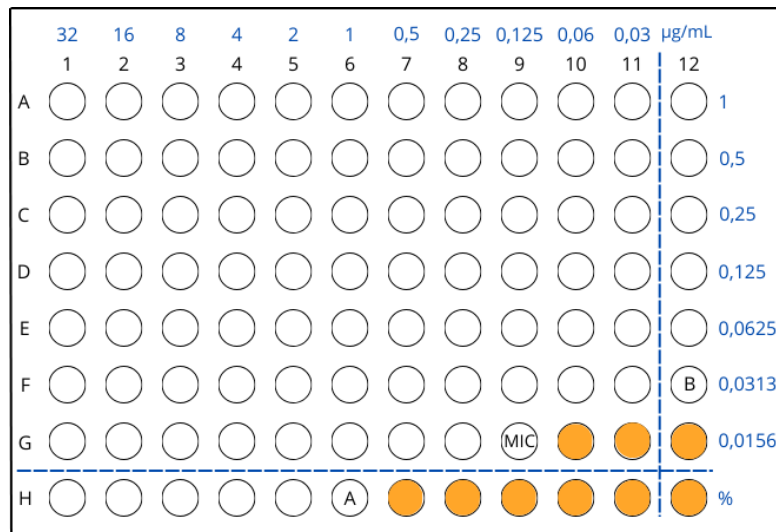
Anexo XXII - Leitura visual do ensaio 11 de *C. flexuosus* 1% (V/V)



Anexo XXIII - Leitura das absorvâncias do ensaio 12 de *C. flexuosus* 1% (V/V)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,048 | 0,047 | 0,047 | 0,049 | 0,047 | 0,056 | 0,049 | 0,049 | 0,048 | 0,05 | 0,047 | 0,047 |
| B | 0,056 | 0,051 | 0,051 | 0,055 | 0,05 | 0,051 | 0,053 | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 |
| C | 0,056 | 0,054 | 0,05 | 0,054 | 0,055 | 0,06 | 0,049 | 0,049 | 0,047 | 0,049 | 0,052 | 0,05 |
| D | 0,056 | 0,052 | 0,053 | 0,053 | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,047 | 0,049 | 0,048 | 0,053 | 0,049 |
| E | 0,053 | 0,053 | 0,052 | 0,049 | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,049 | 0,048 | 0,049 | 0,052 | 0,048 |
| F | 0,056 | 0,053 | 0,05 | 0,05 | 0,049 | 0,047 | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,05 | 0,048 | 0,048 |
| G | 0,05 | 0,052 | 0,05 | 0,052 | 0,047 | 0,05 | 0,049 | 0,047 | 0,051 | 0,073 | 0,127 | 0,271 |
| H | 0,058 | 0,053 | 0,047 | 0,048 | 0,052 | 0,047 | 0,065 | 0,123 | 0,171 | 0,165 | 0,339 | 0,386 |


Anexo XXIV - Leitura visual do ensaio 12 de *C. flexuosus* 1% (V/V)





Impacto na formação de biofilme

A legenda que se segue é aplicada nos anexos seguintes:

Poços com clotrimazol - 

Poços com óleo essencial - 

Poços com mix - 

Controlo positivo - 

Controlo negativo - 

Anexo XXV - Leitura das absorvâncias do ensaio 1

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,1 | 0,121 | 0,09 | 0,088 | 0,044 | 0,046 | 0,043 | 0,043 | 0,047 | 0,044 | 0,053 | 0,045 |
| B | 0,882 | 1,212 | 0,789 | 0,616 | 0,046 | 0,045 | 0,045 | 0,043 | 0,044 | 0,044 | 0,046 | 0,045 |
| C | 0,121 | 0,188 | 0,162 | 0,126 | 0,049 | 0,047 | 0,043 | 0,046 | 0,044 | 0,044 | 0,044 | 0,072 |
| D | 1,191 | 2,246 | 1,807 | 1,267 | 0,045 | 0,044 | 0,047 | 0,048 | 0,044 | 0,047 | 0,044 | 0,044 |
| E | 0,136 | 0,125 | 0,14 | 0,104 | 0,044 | 0,043 | 0,043 | 0,045 | 0,1 | 0,133 | 0,12 | 0,105 |
| F | 1,264 | 1,227 | 1,533 | 1,045 | 0,038 | 0,045 | 0,044 | 0,044 | 0,899 | 1,439 | 1,161 | 1,322 |
| G | 0,042 | 0,044 | 0,045 | 0,045 | 0,044 | 0,046 | 0,046 | 0,045 | 0,068 | 0,076 | 0,073 | 0,065 |
| H | 0,048 | 0,043 | 0,043 | 0,043 | 0,043 | 0,046 | 0,045 | 0,045 | 0,396 | 0,609 | 0,494 | 0,395 |

Anexo XXVI - Leitura das absorvâncias do ensaio 2

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,043 | 0,044 | 0,043 | 0,042 | 0,044 | 0,043 | 0,043 | 0,044 | 0,043 | 0,043 | 0,043 | 0,044 |
| B | 0,181 | 0,197 | 0,173 | 0,359 | 0,047 | 0,044 | 0,044 | 0,047 | 0,045 | 0,045 | 0,043 | 0,058 |
| C | 0,044 | 0,044 | 0,044 | 0,045 | 0,046 | 0,045 | 0,049 | 0,078 | 0,124 | 0,064 | 0,066 | 0,079 |
| D | 0,21 | 0,185 | 0,188 | 0,184 | 0,043 | 0,044 | 0,044 | 0,048 | 0,047 | 0,045 | 0,149 | 0,066 |
| E | 0,047 | 0,045 | 0,045 | 0,044 | 0,044 | 0,044 | 0,043 | 0,044 | 0,051 | 0,051 | 0,044 | 0,064 |
| F | 0,297 | 0,232 | 0,216 | 0,383 | 0,043 | 0,044 | 0,042 | 0,043 | 0,227 | 0,211 | 0,124 | 0,123 |
| G | 0,047 | 0,045 | 0,044 | 0,043 | 0,045 | 0,044 | 0,043 | 0,045 | 0,058 | 0,047 | 0,043 | 0,048 |
| H | 0,053 | 0,051 | 0,044 | 0,044 | 0,042 | 0,042 | 0,042 | 0,042 | 0,519 | 0,27 | 0,349 | 0,351 |

Anexo XXVII - Leitura das absorvâncias do ensaio 3

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,052 | 0,057 | 0,049 | 0,049 | 0,051 | 0,052 | 0,049 | 0,053 | 0,049 | 0,048 | 0,051 | 0,05 |
| B | 0,095 | 0,08 | 0,105 | 0,069 | 0,053 | 0,051 | 0,049 | 0,048 | 0,048 | 0,051 | 0,054 | 0,047 |
| C | 0,048 | 0,051 | 0,047 | 0,044 | 0,047 | 0,049 | 0,046 | 0,042 | 0,056 | 0,043 | 0,05 | 0,048 |
| D | 0,073 | 0,078 | 0,143 | 0,086 | 0,051 | 0,052 | 0,069 | 0,045 | 0,051 | 0,05 | 0,048 | 0,054 |
| E | 0,051 | 0,048 | 0,045 | 0,047 | 0,049 | 0,05 | 0,05 | 0,052 | 0,051 | 0,047 | 0,053 | 0,049 |
| F | 0,069 | 0,077 | 0,089 | 0,074 | 0,049 | 0,046 | 0,049 | 0,048 | 0,06 | 0,052 | 0,057 | 0,06 |
| G | 0,053 | 0,052 | 0,049 | 0,046 | 0,048 | 0,051 | 0,122 | 0,142 | 0,141 | 0,148 | 0,05 | 0,051 |
| H | 0,056 | 0,05 | 0,051 | 0,046 | 0,046 | 0,047 | 0,048 | 0,046 | 0,091 | 0,101 | 0,13 | 0,122 |

Anexo XXVIII - Leitura das absorvâncias do ensaio 4

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,042 | 0,046 | 0,046 | 0,042 | 0,057 | 0,05 | 0,048 | 0,05 | 0,048 | 0,041 | 0,046 | 0,046 |
| B | 0,059 | 0,054 | 0,06 | 0,06 | 0,043 | 0,041 | 0,041 | 0,041 | 0,04 | 0,046 | 0,042 | 0,048 |
| C | 0,044 | 0,044 | 0,042 | 0,041 | 0,057 | 0,066 | 0,064 | 0,066 | 0,041 | 0,043 | 0,04 | 0,047 |
| D | 0,077 | 0,075 | 0,071 | 0,059 | 0,041 | 0,042 | 0,041 | 0,043 | 0,067 | 0,051 | 0,052 | 0,054 |
| E | 0,042 | 0,042 | 0,039 | 0,043 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,049 | 0,042 | 0,043 | 0,044 | 0,045 |
| F | 0,066 | 0,057 | 0,058 | 0,059 | 0,042 | 0,041 | 0,042 | 0,042 | 0,049 | 0,058 | 0,062 | 0,056 |
| G | 0,041 | 0,042 | 0,041 | 0,044 | 0,072 | 0,076 | 0,059 | 0,06 | 0,041 | 0,042 | 0,042 | 0,043 |
| H | 0,042 | 0,042 | 0,042 | 0,044 | 0,043 | 0,048 | 0,044 | 0,041 | 0,06 | 0,054 | 0,056 | 0,055 |

Anexo XXIX - Leitura das absorvâncias do ensaio 5

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,129 | 0,052 | 0,049 | 0,046 | 0,058 | 0,054 | 0,055 | 0,063 | 0,084 | 0,071 | 0,066 | 0,049 |
| B | 0,052 | 0,055 | 0,057 | 0,06 | 0,047 | 0,044 | 0,045 | 0,067 | 0,063 | 0,09 | 0,068 | 0,042 |
| C | 0,043 | 0,044 | 0,043 | 0,045 | 0,055 | 0,06 | 0,058 | 0,054 | 0,042 | 0,061 | 0,05 | 0,042 |
| D | 0,06 | 0,065 | 0,056 | 0,052 | 0,045 | 0,045 | 0,045 | 0,061 | 0,044 | 0,048 | 0,054 | 0,053 |
| E | 0,05 | 0,046 | 0,045 | 0,047 | 0,051 | 0,051 | 0,047 | 0,046 | 0,046 | 0,065 | 0,056 | 0,046 |
| F | 0,053 | 0,06 | 0,055 | 0,053 | 0,044 | 0,043 | 0,043 | 0,045 | 0,048 | 0,047 | 0,049 | 0,05 |
| G | 0,044 | 0,045 | 0,044 | 0,046 | 0,055 | 0,053 | 0,053 | 0,049 | 0,047 | 0,057 | 0,053 | 0,047 |
| H | 0,044 | 0,043 | 0,046 | 0,046 | 0,043 | 0,047 | 0,047 | 0,076 | 0,051 | 0,05 | 0,051 | 0,051 |

Anexo XXX - Leitura das absorvâncias do ensaio 6

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,042 | 0,046 | 0,046 | 0,042 | 0,057 | 0,05 | 0,048 | 0,05 | 0,048 | 0,041 | 0,046 | 0,046 |
| B | 0,059 | 0,054 | 0,06 | 0,06 | 0,043 | 0,041 | 0,041 | 0,041 | 0,04 | 0,046 | 0,042 | 0,048 |
| C | 0,044 | 0,044 | 0,042 | 0,041 | 0,057 | 0,066 | 0,064 | 0,066 | 0,041 | 0,043 | 0,04 | 0,047 |
| D | 0,077 | 0,075 | 0,071 | 0,059 | 0,041 | 0,042 | 0,041 | 0,043 | 0,067 | 0,051 | 0,052 | 0,054 |
| E | 0,042 | 0,042 | 0,039 | 0,043 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,049 | 0,042 | 0,043 | 0,044 | 0,045 |
| F | 0,066 | 0,057 | 0,058 | 0,059 | 0,042 | 0,041 | 0,042 | 0,042 | 0,049 | 0,058 | 0,062 | 0,056 |
| G | 0,041 | 0,042 | 0,041 | 0,044 | 0,072 | 0,076 | 0,059 | 0,06 | 0,041 | 0,042 | 0,042 | 0,043 |
| H | 0,042 | 0,042 | 0,042 | 0,044 | 0,043 | 0,048 | 0,044 | 0,041 | 0,06 | 0,054 | 0,056 | 0,055 |

Anexo XXXI - Leitura das absorvâncias do ensaio 7

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,042 | 0,046 | 0,045 | 0,043 | 0,05 | 0,055 | 0,056 | 0,061 | 0,045 | 0,046 | 0,047 | 0,048 |
| B | 0,116 | 0,059 | 0,059 | 0,062 | 0,047 | 0,054 | 0,05 | 0,046 | 0,044 | 0,045 | 0,047 | 0,046 |
| C | 0,044 | 0,046 | 0,045 | 0,045 | 0,052 | 0,06 | 0,059 | 0,063 | 0,049 | 0,047 | 0,046 | 0,044 |
| D | 0,073 | 0,074 | 0,06 | 0,061 | 0,046 | 0,047 | 0,047 | 0,094 | 0,066 | 0,073 | 0,072 | 0,077 |
| E | 0,045 | 0,129 | 0,15 | 0,049 | 0,06 | 0,075 | 0,051 | 0,065 | 0,238 | 0,052 | 0,305 | 0,249 |
| F | 0,058 | 0,073 | 0,066 | 0,059 | 0,052 | 0,125 | 0,048 | 0,191 | 0,078 | 0,068 | 0,076 | 0,087 |
| G | 0,046 | 0,157 | 0,159 | 0,048 | 0,07 | 0,075 | 0,061 | 0,086 | 0,217 | 0,05 | 0,265 | 0,226 |
| H | 0,091 | 0,184 | 0,171 | 0,048 | 0,215 | 0,18 | 0,048 | 0,169 | 0,09 | 0,062 | 0,077 | 0,081 |

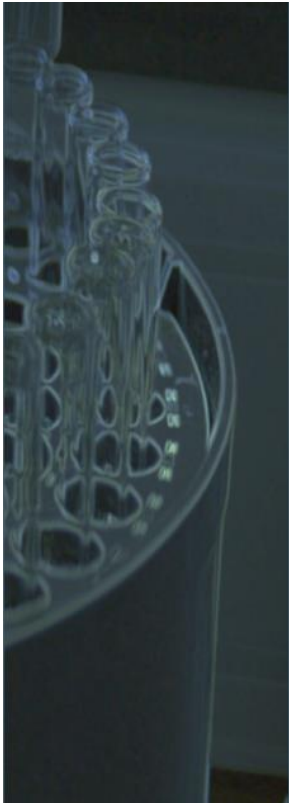
Anexo XXXII - Leitura das absorvâncias do ensaio 8

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,042 | 0,046 | 0,045 | 0,043 | 0,05 | 0,055 | 0,056 | 0,061 | 0,045 | 0,046 | 0,047 | 0,048 |
| B | 0,116 | 0,059 | 0,059 | 0,062 | 0,047 | 0,054 | 0,05 | 0,046 | 0,044 | 0,045 | 0,047 | 0,046 |
| C | 0,044 | 0,046 | 0,045 | 0,045 | 0,052 | 0,06 | 0,059 | 0,063 | 0,049 | 0,047 | 0,046 | 0,044 |
| D | 0,073 | 0,074 | 0,06 | 0,061 | 0,046 | 0,047 | 0,047 | 0,094 | 0,066 | 0,073 | 0,072 | 0,077 |
| E | 0,045 | 0,129 | 0,15 | 0,049 | 0,06 | 0,075 | 0,051 | 0,065 | 0,238 | 0,052 | 0,305 | 0,249 |
| F | 0,058 | 0,073 | 0,066 | 0,059 | 0,052 | 0,125 | 0,048 | 0,191 | 0,078 | 0,068 | 0,076 | 0,087 |
| G | 0,046 | 0,157 | 0,159 | 0,048 | 0,07 | 0,075 | 0,061 | 0,086 | 0,217 | 0,05 | 0,265 | 0,226 |
| H | 0,091 | 0,184 | 0,171 | 0,048 | 0,215 | 0,18 | 0,048 | 0,169 | 0,09 | 0,062 | 0,077 | 0,081 |

Anexo XXXIII - Leitura das absorvâncias do ensaio 9

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A | 0,129 | 0,052 | 0,049 | 0,046 | 0,058 | 0,054 | 0,055 | 0,063 | 0,084 | 0,071 | 0,066 | 0,049 |
| B | 0,052 | 0,055 | 0,057 | 0,06 | 0,047 | 0,044 | 0,045 | 0,067 | 0,063 | 0,09 | 0,068 | 0,042 |
| C | 0,043 | 0,044 | 0,043 | 0,045 | 0,055 | 0,06 | 0,058 | 0,054 | 0,042 | 0,061 | 0,05 | 0,042 |
| D | 0,06 | 0,065 | 0,056 | 0,052 | 0,045 | 0,045 | 0,045 | 0,061 | 0,044 | 0,048 | 0,054 | 0,053 |
| E | 0,05 | 0,046 | 0,045 | 0,047 | 0,051 | 0,051 | 0,047 | 0,046 | 0,046 | 0,065 | 0,056 | 0,046 |
| F | 0,053 | 0,06 | 0,055 | 0,053 | 0,044 | 0,043 | 0,043 | 0,045 | 0,048 | 0,047 | 0,049 | 0,05 |
| G | 0,044 | 0,045 | 0,044 | 0,046 | 0,055 | 0,053 | 0,053 | 0,049 | 0,047 | 0,057 | 0,053 | 0,047 |
| H | 0,044 | 0,043 | 0,046 | 0,046 | 0,043 | 0,047 | 0,047 | 0,076 | 0,051 | 0,05 | 0,051 | 0,051 |

Anexo XXXIV - Certificado de Formação de Jovens Investigadores



CERTIFICATE

We hereby certify that

Daniela Marques Almeida

Attended the Young Researcher Training organized by Health Sciences Research Centre (CICS-UBI), University of Beira Interior, Covilhã, Portugal, on June 27- 30 2023, with the duration of 10 hours, achieving a final grade of **18** (out of 20).

For the Training and Education Commission

Adriana Sousa *Ângela Sousa* *Ângela Sousa*
Diana Costa *Mário Rodrigues*



Anti-*Candida* activity of *Cymbopogon* spp. essential oils: a promising new treatment strategy for superficial infections

Sandra Simões Tomãs^{1,2}, Daniela Marques Almeida^{1,2}, Ana Sofia Oliveira^{1,2}, Joana Domingues^{3,4}, Rita Palmeira-de-Oliveira^{1,2,5}, José Martinez-de-Oliveira¹, Fernanda Delgado^{3,4,6}, Ana Palmeira-de-Oliveira^{1,2,5}, Joana Rolo^{1,2}

¹ CICS-UBI – Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal; ² Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal; ³ Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Portugal; ⁴ Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior, Castelo Branco, Portugal; ⁵ Labfit-HPRD: Health Products Research and Development Lda, Covilhã, Portugal; ⁶ CERNAS: Research Center for Natural Resources, Environment and Society, Agriculture Science Research Group, Castelo Branco, Portugal.
sandra.tomas@ubi.pt

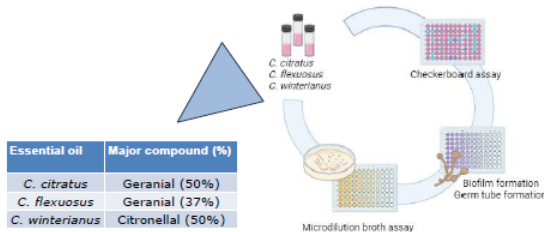
INTRODUCTION

- *Candida albicans* is recognized by the World Health Organization as a priority critical fungal pathogen [1].
- Treatment is almost limited to the use ofazole compounds, for which the resistance rates is alarmingly increasing [2].
- Natural compounds like the ones present in essential oils have been described as excellent antifungals [3].
- Essential oils, due to their antimicrobial activity, are a sustainable alternative for the development of new topical drugs.

OBJECTIVES

We aim to explore the potential of essential oils obtained from the peel of *Cymbopogon* spp., extensively produced in Portugal.

METHODOLOGY



RESULTS

The MIC ranged from 0.12% (V/V, *C. citratus* and *C. flexuosus*) to 0.25% (V/V, *C. winterianus*). The MLC ranged from 0.12% (V/V, *C. citratus*) to >1% (V/V, *C. winterianus*) (Table 1).

Table 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MLC) of the tested essential oils.

| Essential oil | MIC (% V/V) | MLC (% V/V) |
|-----------------------|-------------|-------------|
| <i>C. citratus</i> | 0.12 % | 0.12% |
| <i>C. flexuosus</i> | 0.12 % | 0.25% |
| <i>C. winterianus</i> | 0.25% | >1 % |

Total inhibition of germ tube growth was recorded in the presence of all *Cymbopogon* spp. essential oils. In addition, 50% of destruction of biofilm biomass was achieved for all essential oils after treatment with 10x MIC.

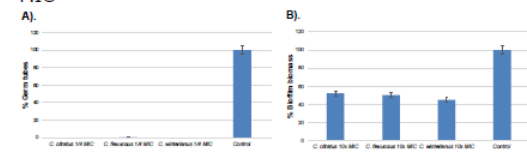


Figure 1. A) Inhibition of germ tube formation (%) in the presence of essential oils. B) Biofilm biomass (%) after treatment with essential oils.

Synergy with clotrimazole was observed in the inhibition of growth of planktonic cells for *C. citratus* essential oil.

Table 2. Fractional inhibitory concentration Index (FICI) for the inhibitory activity of the essential oils in combination with clotrimazole.

| Essential oil | FIC Index | Interpretation |
|-----------------------|-----------|----------------|
| <i>C. citratus</i> | 0.31 | Synergy |
| <i>C. flexuosus</i> | 0.62 | Additive |
| <i>C. winterianus</i> | 1.06 | Indifferent |

CONCLUSIONS

C. citratus's essential oils have significant anti-*Candida* activity, probably related to their main compound, geranial. There is great potential in the applicability as a co-adjuvant constituting a new treatment strategy for superficial infections as a topical ointment.

References: [1] <https://www.who.int>; [2] Gao, J., et al., Nature Communications, 2018; [3] Palmeira-de-Oliveira, A., et al. J Ethnopharmacol, 2012.
Acknowledgements: The work was developed within the scope of the CICS-UBI projects (UIDB/00709/2020) and (UIDP/00709/2020), financed by national funds through the Portuguese Foundation for Science and Technology (MCTES/FCT).