



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Análise, Caracterização e Estudo da Toxicidade de um Hidrogel Depilatório com Tioglicolato de Cálcio

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

Tânia Cristina Nogueira Amoroso

Relatório de estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
Ciclo de Estudos Integrado

Orientador: Prof. Doutora Maria Eugénia Gallardo Alba
Co-orientador: Prof. Doutor Samuel Silvestre
Doutora Sofia Tomé

Covilhã, Junho de 2012

*“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós.
Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”*

Antoine de Saint-Exupéry

Dedicatória

Dedico este trabalho...

À minha orientadora Prof. Dra. Eugénia Gallardo. Este trabalho não era possível sem a sua inigualável ajuda e apoio. Agradeço pela brilhante orientação e exemplo profissional, pela confiança sempre depositada em mim, por todo o apoio, amizade e agradável convivência, por nunca ter desistido e desde o início estar comigo e com esta equipa, apoiar esta ideia e ajudar na construção e realização deste projecto. Por toda a paciência (e muita), disponibilidade e por todas as horas de trabalho, pelos bons momentos cheios de boa disposição no laboratório (muitas vezes até altas horas), ensinamentos e pela forma simples e sincera de lidar comigo. Não tenho como agradecer toda a dedicação que teve para comigo e a si lhe dedico este trabalho porque faz parte dele desde o início e sem a sua ajuda não era possível a realização do mesmo.

Aos meus pais por possibilitarem a realização de todos meus sonhos, pelo amor e apoio por me darem sempre o melhor exemplo, por serem simplesmente as pessoas maravilhosas e humildes que são. Tenho o maior orgulho em vocês são tudo para mim e o meu exemplo de vida. Obrigado por todo o incentivo para melhorar a cada dia que passa, e para nunca desistir dos meus sonhos e objectivos, será um lema que ficará guardado para toda a vida. Dedico-vos todos estes anos de trabalho e o final deste percurso.

Ao Renato, pelo carinho, respeito, amizade, confiança, companheirismo, paciência, e por estar sempre comigo. Por ser o meu apoio, por ter sempre acreditado em mim e me incentivar sempre para o melhor, me ensinar a dar valor ao que realmente vale a pena. Obrigada por estares comigo ao longo destes anos, pelo incentivo, desabafos e longas horas de conversa. Por me conseguires fazer sempre sorrir, mesmo nos dias mais difíceis e ensinares a encarar os problemas de frente e sempre de sorriso aberto e sobretudo por me ajudares a construir o meu caminho e fazeres parte dele.

Aos meus irmãos, Rui Pedro e João Luís, obrigado por terem acreditado, por toda a compreensão e por nunca terem desistido de mim e me ensinarem que a vida não é fácil e que temos sempre de lutar pelas coisas. Por toda a força, espírito de persistência e optimismo que me inculcaram desde sempre. Vocês são o meu exemplo, são as melhores pessoas que conheço e todos os dias me orgulho de vocês.

As minhas cunhadas Sara e Maria João por todos os conselhos de vida, pela força e ajuda ao longo deste anos e me acompanharem neste percurso sempre com dedicação.

A minha afilhada a pequena Mariana por me fazer sorrir e me trazer tanta felicidade.

A toda a minha família (Tia Irene e Tio João, Vitor e Emanuel, Tia São, Tio João Covilhã, Madrinha Cristina e Tio Quim, Célia, Mafalda e Eduardo, Jaqueline, Dona Mariana, Nelito) por terem sempre uma palavra meiga e amiga e por toda a preocupação constante.

Às minhas meninas (Caty, Ana Catarina, Aninhas, Janico, Loira, Marta, Mariana Gameiro e Sil) por estarem sempre comigo nos momentos bons e maus, por toda a amizade e carinho e por todos os nossos momentos de gargalhadas e boa disposição.

Às minhas covilhocas (Cristina, Filipa, Margarida, Andreia) por estarem comigo desde o 1º dia nesta luta e por todos os momentos inesquecíveis que passamos juntas. Sem a vossa ajuda teria sido mais difícil. E também a toda a minha malta covilhoca (Matias, Vitor, Nuno, Telmo, Joel, Sara, Eva, Joana Jorge, Verónica, Marta, Mariana, Açores) pelos momentos mais felizes da faculdade.

Agradecimentos

À Professora Eugénia Gallardo pelo apoio e dedicação a este trabalho. Foi um orgulho tê-la como minha orientadora.

Ao Professor Samuel, o meu profundo reconhecimento pelos ensinamentos e formação superior que me ministrou. Agradeço toda a paciência, toda a ajuda e disponibilidade.

À Professora Rita por possibilitar a realização de algumas fases deste projecto na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, e que apesar da distância esteve sempre presente, por todos os conselhos e ajuda para o bom desenvolvimento deste trabalho. Agradeço por todos os conhecimentos e pelos bons momentos passados no laboratório e de boa disposição.

À Dr.^a Carla Vitorino por toda a ajuda, amabilidade e gentileza demonstrada. Pela colaboração neste trabalho e partilha de conhecimentos e competências. Muito obrigada por tudo.

À equipa da Farmácia Reis (Dr.^a Regina, Professor Adriano, Dona Olga, Hélio, Elsa, Selma, Catarina, Morais, Sofia, Sílvia). Agradeço tudo, toda a colaboração e espírito de entreatajuda criado e, principalmente a amizade. Amizade que tornou mais fácil a aprendizagem de todo o conhecimento. Agradeço a todos, tudo o que me deram. Em especial à Dr.^a Regina que simpaticamente me recebeu, o meu muito obrigado pela sua disponibilidade e carinho. E à Ana Catarina por me acompanhar, apoiar, e estar ao meu lado nos momentos mais importantes e pela amizade constante.

À Sofia por toda a disponibilidade, dedicação, paciência, conversas e amizade. Não tenho palavras para agradecer todos os conhecimentos transmitidos ao longo do meu estágio, acompanhado sempre o meu trabalho passo a passo, o meu sincero obrigado.

Ao Ivo e a Bia por todo o tempo despendido para me ajudarem na execução do trabalho, muito obrigado por tudo.

À Caty pelas grandes dicas e apoio constante.

À Cristina, minha companheira neste percurso e projecto, por todos os momentos que nos ajudaram a melhorar e a seguir sempre em frente, pelos sorrisos e gargalhadas, aventuras, horas de trabalho, apoio mútuo e sobretudo pela amizade criada desde o primeiro dia.

A todos o meu mais sincero Obrigada.

Resumo

O presente documento pretende descrever a experiência profissionalizante na vertente de farmácia comunitária e investigação e encontra-se dividido em dois capítulos.

O capítulo 1 descreve as actividades realizadas ao longo do meu estágio curricular na Farmácia Comunitária Reis em Castelo Branco. Este capítulo consta de uma breve descrição desta farmácia bem como do funcionamento da mesma, das actividades desenvolvidas, e dos conhecimentos adquiridos e postos em prática ao longo do estágio. São também abordados vários temas, tais como, a interacção farmacêutico-doente-medicamento e os cuidados de saúde prestados na farmácia, a dispensa de medicamentos sujeitos e não sujeitos a receita médica e organismos participadores, a atitude do farmacêutico no acto da dispensa, a indicação farmacêutica nos casos de automedicação, etc., componentes que são essenciais à boa prática da profissão farmacêutica cumprindo sempre os princípios deontológicos e éticos da mesma. A elaboração deste capítulo teve como base o documento de Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária elaborado pela Ordem dos Farmacêuticos.

O capítulo 2 descreve a componente de investigação realizada no Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (CICS-UBI) e no Centro de Estudos Farmacêuticos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (CEF). Neste capítulo realizou-se uma avaliação e caracterização de várias formulações preparada no desenvolvimento de um hidrogel depilatório. Para tal desenvolveu-se e validou-se uma metodologia para o doseamento de tioglicolato de cálcio (analito em estudo) por cromatografia líquida acoplada a um detector de *diode array* (UPLC/DAD). Os parâmetros estudados foram a selectividade, especificidade, curva de calibração e linearidade, limite inferior de quantificação (LLOQ), limite de detecção (LOD), precisão e exactidão. Após o desenvolvimento desta metodologia analítica, elaborou-se o perfil de libertação e permeação *in vitro* de 6 formulações cosméticas a base de tioglicolato de cálcio. Para conhecer os perfis de libertação e permeação foram utilizadas células de *Franz* equipadas com membranas sintéticas e pele de porco consoante o ensaio. Após aplicação de cada formulação foram retiradas alíquotas a diferentes tempos (entre 0 e 60 minutos) e analisadas por UPLC/DAD de forma a definir cada um dos perfis. Finalmente foi realizado um estudo de citotoxicidade (ensaio MTT) para avaliar a viabilidade celular após contacto do depilatório com a pele. Para tal, foram utilizados fibroblastos da derme humana (NHDF) expostos não só à formulação depilatória em estudo mas também a diferentes concentrações de tioglicolato de cálcio. Foram avaliados os efeitos em diferentes tempos de exposição e foi igualmente avaliada a recuperação das células após exposição aos compostos em estudo.

Palavras-chave

Farmácia Reis, Tioglicolato de Cálcio, UPLC/DAD, Células de *Franz*, Citotoxicidade

Abstract

This document aims to describe the experience in training and community pharmacy research and is divided into two chapters.

Chapter 1 describes the activities carried out during my internship at Farmácia Reis in Castelo Branco. This chapter consists of a brief description of this pharmacy as well as its functioning, and the acquired and practiced knowledge throughout the internship. Several topics, such as the pharmaceutical-drug-patient interactions and healthcare provided in the pharmacy, the dispensing of both prescription and non-prescription medicines and reimbursement agencies, the attitude of the pharmacist, information in the case of self-medication and essential components to good practice of pharmaceutical profession always fulfilling the ethical and deontological principles are also covered in this chapter. This chapter is based on the document of Good Pharmaceutical Practices in Community Pharmacy prepared by the Portuguese College of Pharmacists.

Chapter 2 describes the research component performed at Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (CICS-UBI) and in the center of pharmaceutical studies at the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra (CEF). In this chapter several formulations prepared during the development of a depilatory hydrogel were evaluated and characterized. A methodology for the determination of calcium thioglycolate (analyte under study) was developed and validated using high-performance liquid chromatography coupled to a diode array detector (UPLC/DAD). The studied parameters were selectivity, specificity, linearity, lower limit of quantitation (LLOQ), limit of detection (LOD), precision and accuracy. After the development of this analytical methodology, the release profile and in vitro permeation of 6 cosmetic formulations containing the analyte were evaluated. To know the release profiles, Franz cells equipped with synthetic membranes and pork skin (depending on the test) were used for permeation. After applying each formulation, aliquots were withdrawn at different times (between 0 and 60 minutes) and analysed by UPLC/DAD to define each of the profiles. Finally, cytotoxicity was studied (MTT assay) to evaluate cell viability after removal of contact with the skin. This way, were used human DermIS fibroblasts (NHDF) exposed not only to the depilatory formulation in study but also to different concentrations of calcium thioglycolate. The effects at different exposure times and cell recovery after exposure to test compounds have been assessed and evaluated.

Keywords

Pharmacy Reis, Calcium Thioglycolate, UPLC/DAD, *Franz* Cell, Cytotoxicity

Índice

Lista de Figuras.....	xiv
Lista de Tabelas.....	xvii
Lista de Acrónimos.....	xviii
Capítulo 1	1
I. Introdução	2
II. Organização e Gestão da Farmácia	3
2.1. Recursos Humanos: Funções e Responsabilidades	3
2.2. Instalações e Equipamentos: Descrição e Finalidade.....	3
2.2.1. Localização e Aspecto Exterior da Farmácia	3
2.2.2. Organização do Espaço Interior	4
2.2.2.1. Zona de Atendimento ao Público	4
2.2.2.2. Gabinete de Atendimento ao Utente	5
2.2.2.3. Zona Reservada Funcionamento Interno da Farmácia	5
2.3. Informática na Farmácia	6
III. Informação e Documentação Científica	6
IV. Aprovisionamento e Armazenamento	8
4.1. Aprovisionamento.....	8
4.2. Elaboração de Encomendas	9
4.3. Recepção de Encomendas	10
4.4. Marcação de Preços	11
4.5. Armazenamento e Organização	11
4.6. Controlo dos Prazos de Validade	12
4.7. Devoluções.....	12
V. Interação Farmacêutico-Doente-Medicamento e Cuidados de Saúde Prestados na Farmácia.....	13
5.1. Determinação de Parâmetros Fisiológicos e Bioquímicos.....	14
5.1.1. Medição da Pressão Arterial	14
5.1.2. Medição da Glicémia Capilar	15
5.1.3. Medição do Colesterol e Triglicéridos Capilar	17

5.2. Protocolo para a Gestão Integrada do Programa Nacional de Prevenção e Controlo da Diabetes (Protocolo da Diabetes)	17
5.3. Recolha de Medicamentos “VALORMED”.....	18
5.4. Farmacovigilância	19
5.5. Recolha de Radiografias Usadas.....	19
5.6. Rastreadores	19
5.7. Consultas de Nutrição.....	19
VI. Dispensa de Medicamentos.....	20
6.2. Organismos de Comparticipação	22
6.3. Regimes Especiais de Comparticipação	23
6.4. Processamento e Conferência do Receituário	23
6.5. Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)	24
6.6. Dispensa de Medicamentos Genéricos	25
6.7. Dispensa de Psicotrópicos e Estupefacientes	26
6.8. Atitude do Farmacêutico no Acto de Dispensa	27
VII. Indicação Farmacêutica/Automedicação	27
7.1. Casos práticos	29
7.1.1. Protecção Solar	29
7.1.2. Problemas Relacionados com o Sistema Digestivo	29
7.1.2.1. Flatulência e Diarreia.....	29
7.1.2.2. Obstipação.....	30
7.1.2.3. Azia	30
7.1.3. Constipações Estados gripais	31
7.1.4. Tosse.....	31
7.1.5. Picadas de Insectos.....	32
7.1.6. Dores Reumáticas.....	32
7.1.7. Pernas Pesadas e Cansadas	32
7.1.8. Herpes Labial.....	32
7.1.9. Contraceção Oral de Emergência	33
VIII. Aconselhamento e Dispensa de outros Produtos de Saúde	33
8.1. Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal	34

8.2. Produtos Dietéticos para Alimentação Especial	35
8.3. Produtos Dietéticos Infantis	36
8.4. Fitoterapia e Suplementos Nutricionais (nutracêuticos).....	38
8.5. Medicamentos de Uso Veterinário	39
8.6. Dispositivos Médicos	39
8.7. Produtos de Puericultura	40
8.8. Suplementos Alimentares	40
IX. Conclusão	41
X. Bibliografia Capítulo 1	42
Capítulo 2	44
1. Depilatórios	45
1.1. Depilatórios Químicos	45
2. Estrutura da Pele	47
2.1. Ciclo de Crescimento do Pêlo	49
3. Tioglicolato de Cálcio	50
3.1. Usos	50
3.2. Propriedades Físico-Químicas	50
3.3. Mecanismo de Acção	52
3.4. Toxicidade	52
4. Estudos de Libertação e Permeação <i>in vitro</i>	53
4.1. Fundamento Teórico	53
4.2. Libertação <i>in vitro</i> : Células de Difusão de <i>Franz</i>	53
4.3. Permeação <i>in vitro</i> : Células de Difusão de <i>Franz</i>	54
4.4. Testes de Integridade da Pele	55
5. Estudos de Citotoxicidade em Culturas de Células	56
5.1. Fibroblastos como Modelo de Estudo <i>in vitro</i>	58
5.2. Ensaio de Viabilidade Celular.....	59
II. Parte Experimental.....	60
1. Material e Métodos	60
1.1. Padrões e Reagentes	60
1.2. Instrumentação.....	60

1.3. Sistema Cromatográfico e de Detecção.....	61
1.4. Soluções	62
1.5. Células de Difusão de <i>Franz</i> e Ensaio de Libertação e Permeação <i>in vitro</i>	63
1.5.1. Design da Célula	63
1.5.2. Condições do Ensaio.....	63
1.5.2.1. Dose e Tempo de Contacto	63
1.5.2.2. Temperatura	63
1.5.2.3. Velocidade	63
1.5.2.4. Duração do Estudo	64
1.5.3. Escolha do Meio Receptor	64
1.5.4. Preparação e Aplicação da Formulação Cosmética	64
1.5.5. Análise	65
1.5.6. Estudo de Libertação <i>in vitro</i> : Células de Difusão de <i>Franz</i>	65
1.5.6.1. Formulações Analisadas	65
1.5.6.2. Preparação da Membrana Sintética	66
1.5.6.3. Montagem das Células de Difusão de <i>Franz</i>	66
1.5.6.4. Obtenção da Amostra	67
1.5.6.5. Análise das Amostras.....	67
1.5.7. Estudo de Permeação <i>in vitro</i> : Células de Difusão de <i>Franz</i>	68
1.5.7.1. Formulações Analisadas	68
1.5.7.2. Obtenção da pele de porco	68
1.5.7.3. Montagem das células de Difusão de <i>Franz</i>	68
1.5.7.4. Obtenção da Amostra	70
1.5.7.5. Análise das amostras.....	70
1.6. Cultura dos Fibroblastos e Estudo da Citotoxicidade do Tioglicolato de Cálcio e do Hidrogel Depilatório através do Ensaio MTT	71
1.6.1. Linha Celular e sua Cultura	71
1.6.2. Preparação das Soluções em Estudo	71
1.6.2.1. Solução de Tioglicolato de Cálcio	71
1.6.2.2. Solução do Hidrogel Depilatório	72
1.6.3. Desenho do Ensaio	72

1.6.4.	Técnicas Utilizadas	74
1.6.4.1.	Tripsinização, Contagem e Sementeira de Células:	74
1.6.5.	Ensaio MTT	75
2.	Resultados e Discussão.....	76
2.1.	Determinação de Tioglicolato de Cálcio por Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência acoplada a um Detector de Diode Array (UPLC/DAD)	76
2.1.1.	Optimização da Fase Móvel	76
2.1.2.	Validação do Método	78
2.1.2.1.	Selectividade	78
2.1.2.2.	Curva de Calibração e Linearidade	80
2.1.2.3.	Limites de Quantificação e Detecção	82
2.1.2.4.	Precisão e Exactidão	83
2.1.3.	Estabilidade do Tioglicolato de Cálcio	85
2.2.	Estudos de Libertação e Permeação <i>in vitro</i>	87
2.2.1.	Resultados Obtidos no Ensaio de Libertação.....	87
2.2.2.	Resultados Obtidos no Ensaio de Permeação	93
2.3.	Avaliação da Citotoxicidade do Tioglicolato de Cálcio e do Hidrogel Depilatório através do Ensaio MTT	94
2.3.1.	Resultados Obtidos	94
2.3.1.1.	Ensaio de Toxicidade do Tioglicolato de Cálcio.....	94
2.3.1.2.	Ensaio de Toxicidade do Hidrogel depilatório	95
III.	Conclusões	97
IV.	Bibliografia capítulo 2	98
Anexos	101

Lista de Figuras

Figura 1. Aspecto exterior da Farmácia Reis	4
Figura 2. Estrutura dos Filamentos de Queratina.	47
Figura 3. Ilustração representativa das camadas da pele e da estrutura da epiderme.	47
Figura 4. Imagem representativa de um pêlo dentro do folículo piloso.	49
Figura 5. Fases do ciclo de crescimento do pêlo.	49
Figura 6. Fórmula do Tioglicolato de Cálcio.	51
Figura 7. Transformação da cistina em cisteína.	52
Figura 8. Representação de uma Célula de Difusão de Franz.	54
Figura 9. Perda de água transepidérmica através da pele.	56
Figura 10. Redução do MTT em formazano pelas succinato-desidrogenases.	59
Figura 11. Membranas de Dialysis Tubing Celulose (33 mm).	66
Figura 12. Ilustração de uma célula de difusão de Franz e respectivo compartimento dador.	66
Figura 13. Representação da montagem das células de difusão de Franz; células de difusão de Franz acopladas a um banho.	67
Figura 14. Garra metálica adaptada entre o compartimento dador e receptor de forma a fechar o sistema	67
Figura 15. Sistema que controla e mantém a temperatura a 32,5°C.	67
Figura 16. Ilustração das porções de pele de porco usadas no ensaio de permeação.	68
Figura 17. Medição da TEWL usando o aparelho Delfin Vapometer.	69
Figura 18. Porções de pele de porco elegidas para usar no ensaio de permeação.	70
Figura 19. Ilustração da linha de fibroblastos utilizados no ensaio (ampliação 100x).	71
Figura 20. Disposição dos meios de cultura nas placas <i>multiwells</i> . (Z - zero; C- Controlo; C1- concentração de 0,0096 µg/mL para o HD, e de 0,6 µg/mL para o TC; C2- concentração de 0,096 µg/mL para o HD, e de 6 µg/mL para o TC; C3- concentração de 0,96 µg/mL para o HD,	

e de 60 µg/mL para o TC; C4- concentração de 9,6 µg/mL para o HD, e de 600 µg/mL para o TC; C5- concentração de 96 µg/mL para o HD, e de 6000 µg/mL para o TC; C6- concentração de 960 µg/mL para o HD, e de 60000 µg/mL para o TC;	74
Figura 21. Imagem representativa da câmara de <i>Neubauer</i> .	75
Figura 22. Cromatograma de TC a 1 mg/mL com a fase móvel ácido fosfórico (0,1%) em metanol e água (10:90, v/v).	77
Figura 23. Cromatograma de TC a concentração de 10 µg/mL.	77
Figura 24. Cromatograma de uma injeção de fase móvel (ácido fórmico 50 mM em água Milli-Q e acetonitrilo (97:3; v/v)).	77
Figura 25. Cromatograma de amostra de PBS.	78
Figura 26. Cromatograma de amostra de H ₂ O.	79
Figura 27. Cromatograma da Fase móvel.	79
Figura 28. Cromatograma do TC na concentração de 2,5 mg/mL.	79
Figura 29. Cromatograma do TC na concentração de 10 µg/mL.	80
Figura 30. Curva de calibração a valores de concentração mais altos.	81
Figura 31. Curva de calibração a valores de concentração mais altos.	82
Figura 32. Cromatograma de TC a 1 µg/mL.	83
Figura 33. Cromatograma de um padrão de TC em água a 1 mg/mL preparado no momento.	86
Figura 34. Cromatograma de um padrão de TC em água a 1 mg/mL após 15 dias a temperatura ambiente. Concentração final é de 0,75 mg/mL.	86
Figura 35. <i>Overlay</i> do pico ao t _R de 6,6 minutos.	86
Figura 36. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 2.	87
Figura 37. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 4.	88
Figura 38. Cromatograma da formulação 2 a t ₄ (30 minutos). Área do pico ao t _R de 6,6 minutos foi de 38,4.	88
Figura 39. Cromatograma da formulação 4 a t ₄ (30 minutos). Área do pico ao t _R de 6,6 foi de 42,0.	88

Figura 40. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 6.	89
Figura 41. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 7.	89
Figura 42. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 8.	90
Figura 43. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 7. Comparação da concentração de tioglicolato libertada da formulação <i>versus</i> tempo.	90
Figura 44. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 8. Comparação da concentração de tioglicolato libertada da formulação <i>versus</i> tempo.	90
Figura 45. Cromatograma da formulação 7 a t4 (30 minutos), área do pico a tR de 6,6 de 19,3.	91
Figura 46. Cromatograma da formulação 8 a t4 (30 minutos), área do pico a tR de 6,6 de 48,5.	91
Figura 47. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 9.	92
Figura 48. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 9. Comparação da concentração de tioglicolato libertada da formulação <i>versus</i> tempo.	92
Figura 49. Cromatograma formulação 9 a t5 (30 minutos). Área do pico ao tR de 6,6 foi de 5,54.	92
Figura 50. Cromatograma dos resultados obtidos no ensaio de permeação (t-1) em que não se observa a área do TC (tR de 2,5 minutos).	93
Figura 51. Cromatograma dos resultados obtidos no ensaio de permeação (t-5) em que não se observa a área do TC (tR de 2,5 minutos).	93
Figura 52. Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o TC; Os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos no ensaio controlo ($p < 0,05$).	94
Figura 53. Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o HD; Os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos pelo ensaio controlo ($p < 0,05$).	95

Lista de Tabelas

Tabela 1. Exemplo de livros de informação e documentação científica presentes na Farmácia Reis.	7
Tabela 2. Classificação da PA de acordo com as normas JNC 7.	15
Tabela 3. Classificação dos valores de glicémia.	16
Tabela 4. Medidas farmacológicas adoptadas consoante os sintomas apresentados.	31
Tabela 5. Classes de risco dos dispositivos médicos.	40
Tabela 6. Resumo dos métodos in Vitro envolvidos no estudo da irritação da pele efectuados pela European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM).	57
Tabela 7. Resumo dos métodos alternativos validados e mais avançados para estudo de corrosão da pele.	58
Tabela 8. Concentrações de Hidrogel depilatório no compartimento dador.	113
Tabela 9. Constituintes e respectivas quantidades de matérias-primas utilizadas em todas as formulações.	65
Tabela 10. Valores de TEWL obtidos das porções de pele de porco.	69
Tabela 11. Dados obtidos para a realização da curva de calibração de concentrações superiores.	81
Tabela 12. Dados obtidos para a realização da curva de calibração de concentrações baixas.	82
Tabela 13. Resultados obtidos no ensaio intradia da curva de concentrações superiores.	84
Tabela 14. Resultados obtidos no ensaio intradia da curva de concentrações inferiores.	84
Tabela 15. Resultados obtidos no ensaio interdia da curva de concentrações superiores.	85
Tabela 16. Resultados obtidos no ensaio interdia da curva de concentrações inferiores.	85

Lista de Acrónimos

ACSS	Centro de Conferência de Facturas;
ADM	Assistência na Doença aos Militares;
ADSE	Direcção Geral de Protecção Social aos Funcionários e Agentes da Administração Pública;
AMI	Assistência Médica Internacional;
ANF	Associação Nacional de Farmácias;
ARS	Administrações Regionais de Saúde;
BHT	<i>Butylated hydroxytoluene - di-terc-butil metil fenol;</i>
BIAS	Erro Relativo Médio;
BPF	Boas Práticas Farmacêuticas;
CIM	Centro de Informação de Medicamentos da Ordem dos Farmacêuticos;
CIMI	Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde;
CV	Coeficiente de Variação;
DAD	<i>Detector Diode Array</i> - Detector de Fotodiodos;
EC	Estrato Córneo;
ECVAM	<i>European Centre for the Validation of Alternative Methods;</i>
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> - ácido etilenodiamino tetraacético;
FDA	Food and Drug Administration;
HD	Hidrogel;
HDL	<i>High-density lipoprotein;</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> - Cromatografia Líquida de Alta Resolução;
HTA	Hipertensão Arterial;
IMC	Índice de Massa Corporal;
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde;
IRS	Imposto sobre o Rendimento de Pessoas Singulares;
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado;
JNC	<i>Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure;</i>

LDL	<i>Low-density lipoprotein</i> ;
LLOQ	Lower Limit of <i>Quantification</i> - limite inferior de quantificação;
LOD	<i>Lower Limit of Detection</i> - limite de detecção;
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica;
MTT	Brometo de 3- (4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio;
NHDF	<i>Normal human dermal fibroblast</i> - Fibroblastos normais da Derme Humana;
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development;
OTC's	Medicamentos de Venda Livre;
PA	Pressão Arterial;
PBS	Tampão Fosfato Salino;
PVP	Preço de Venda ao Público;
RCM	Resumo das Características do Medicamento;
REC	Recuperação;
SAD/GNR	Assistência na Doença a Guarda Nacional Republicana;
SAD/PSP	Assistência na Doença a Polícia de Segurança Pública;
SAMS	Serviços de Assistência Médico-Social;
SÂVIDA/EDP	Assistência na Doença aos Servidores Civis do Estado/ Cuidados de saúde aos trabalhadores da Electricidade de Portugal;
SCCS	<i>Scientific Committee on Consumer Safety</i> ;
SD	Desvio Padrão;
SNS	Sistema Nacional de Saúde;
TC	Tioglicolato de Cálcio;
TER	Resistência Eléctrica Transdermal;
TEWL	Perda de água Transepidérmica;
tR	Tempo de Retenção;
UDIFAR	União dos Farmacêuticos Portugueses;
UPLC	<i>Ultra performance liquid chromatography</i> - Cromatografia líquida de elevada eficiência;
Valormed	Sociedade responsável pela gestão dos resíduos de embalagens e medicamentos fora de uso;
VDC	Célula de difusão Vertical;

Justificação do tema e objectivos

No decorrer da elaboração de um trabalho na unidade curricular Gestão e Organização de Empresas do 4º ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior surgiu-nos a ideia de desenvolver uma empresa com um produto inovador. Nesse trabalho criámos uma empresa em que o produto inovador era um hidrogel depilatório facial masculino adaptado ao homem de hoje em dia que necessita de estar constantemente apresentável no seu espaço social.

No final do trabalho os quatro elementos do grupo decidiram desenvolver e por em pratica a ideia por forma que cada elemento trabalhasse em diferentes áreas: no desenvolvimento da formulação; na análise e estudo toxicológico; no estudo de *marketing* do impacto do produto no mercado e nos aspectos deontológicos relativos a formulações cosméticas.

Sendo a área analítica e de toxicologia uma área de bastante interesse e gosto pessoal, decidi assumir este compromisso e juntamente com a ajuda de uma equipa de excelentes profissionais, professora Dr.^a Eugénia Gallardo, professor Dr.^o Samuel Silvestre, professora Dr.^a Ana Rita Figueiras e Dr.^a Carla Vitorino, foram realizados vários estudos para alcançar os objectivos pretendidos ao longo deste projecto.

Desta forma os objectivos do presente trabalho são:

- Desenvolver e validar uma metodologia analítica para determinação do tioglicolato de cálcio;
- Comparar o perfil de liberação *in vitro* em células de difusão de *Franz* de formulações depilatórias com tioglicolato de cálcio;
- Determinar a eventual permeação do tioglicolato de cálcio através de pele de porco a partir de uma possível formulação final do hidrogel depilatório em estudo;
- Avaliar a citotoxicidade de uma possível formulação final do hidrogel depilatório e do tioglicolato de cálcio, através do ensaio de viabilidade celular MTT;

Capítulo 1

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

I. Introdução

Sendo a Farmácia um espaço de saúde de fácil acesso quer pela sua proximidade às populações, quer pelos meios que dispõe, é função do farmacêutico promover e salvaguardar a saúde de cada cidadão e da sociedade, por meio da educação e sensibilização dos diferentes públicos. O Farmacêutico tem um papel fundamental na sociedade actual, passou a ser mais do que mero técnico de saúde que dispensa medicamentos, é o primeiro interveniente na prevenção da doença e na promoção da saúde. Ser Farmacêutico implica ser um profissional de saúde em constante actualização, na medida em que todos os dias somos confrontados com pessoas diferentes, com problemas diferentes, aplicando os conhecimentos adquiridos ao longo do curso com a prática do dia-a-dia, bem como uma constante procura técnica e científica para conseguir prestar um serviço cada vez mais personalizado a cada utente.

No dia 5 de Março, após o período durante o qual me foi transmitida uma ampla diversidade de conhecimentos, assimilados e consolidados numa dimensão teórico-prática, chegara o momento de me confrontar com o terreno no qual os iria pôr à prova, através do estágio curricular do mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas. Assim, iniciei o meu estágio em farmácia de oficina, para a aplicação dos conhecimentos que adquiri ao longo do curso e onde somos confrontados com casos da vida real que nos causam dúvidas, e nos dão vontade de aprender sempre mais.

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas foi, assim, o primeiro contacto com a realidade profissional, com os problemas e desafios com os quais que certamente me irei debater no futuro e serviu como elo de ligação entre os conhecimentos adquiridos e a realidade da vida profissional. Este decorreu na Farmácia Reis, em Castelo Branco, sob a orientação da Dr.^a Sofia Tomé.

A equipa que fui encontrar e o enquadramento socioprofissional da farmácia possibilitou-me verificar a efectiva importância da nossa profissão no bem-estar das pessoas, e a relevância do farmacêutico na vida do quotidiano de uma grande percentagem da população. O objectivo do presente relatório é descrever as actividades desenvolvidas no decorrer do meu estágio, caracterizando, não só o funcionamento da farmácia, como também o papel do farmacêutico, enquanto agente de saúde pública e especialista do medicamento. O estágio visa fornecer conhecimentos acerca da organização e gestão da Farmácia, circuito do medicamento, preparação do medicamento, dispensa de medicamentos, resolução de casos práticos.

Ao longo destes 2 meses e meio na Farmácia Reis, tomei consciência de que o estágio não é o fim, mas sim o início de uma longa caminhada profissional, em que é preciso um espírito aberto, capacidade e necessidade de saber sempre mais.

II. Organização e Gestão da Farmácia

2.1. Recursos Humanos: Funções e Responsabilidades

O nível de conhecimento e a sua actualização, a simpatia e afabilidade na resolução das dúvidas, e o enfoque no utente são hoje em dia vectores fundamentais que podem marcar a diferença na Farmácia Comunitária, vectores esses presentes em todos os elementos desta extraordinária equipa que desempenham da melhor forma possível a sua tarefa de bem aconselhar e promover o uso racional do medicamento. Esta dinâmica profissional é conseguida pela seguinte equipa:

Dr.^a Regina Jesus dos Reis Cardoso - Directora Técnica e Proprietária

Dr.^a Ana Catarina Cardoso - Farmacêutica Substituta

Dr.^a Sofia Tomé - Farmacêutica

Dr.^o Daniel Cunha - Farmacêutico

D. Olga Correia - Técnica de Farmácia

Elsa Martins - Auxiliar de Farmácia

Hélio Almeida - Auxiliar de Farmácia

Selma Martins - Auxiliar de Farmácia

2.2. Instalações e Equipamentos: Descrição e Finalidade

2.2.1. Localização e Aspecto Exterior da Farmácia

A Farmácia Reis existe há cerca de 27 anos, sendo a sua primeira localização em Tinalhas, uma freguesia do concelho de Castelo Branco. Há cerca de 12 anos fixou-se na capital do concelho e actualmente situa-se na rua Doutor João Mourato Grave, lote 156-r/c-E, em Castelo Branco. Localizada numa zona residencial próxima do Centro de Saúde nº1 de Castelo Branco e do Hospital Amato Lusitano. Este facto aliado ao espaço físico ocupado e aos recursos humanos e materiais disponíveis promove uma constante afluência à farmácia por parte dos utentes. Exteriormente, a Farmácia Reis identifica-se por uma cruz verde luminosa e uma placa identificativa com o nome e identificação do director técnico, tal como consta no alvará e registo no INFARMED. A porta principal constitui a acessibilidade dos utentes à Farmácia onde está afixada o horário de atendimento. Do lado direito está a montra principal em que os produtos de exposição são normalmente produtos sazonais, produtos novos ou que justifiquem a sua presença por serem muito publicitados e do lado esquerdo estão outras três montras uma delas onde se encontra o postigo de atendimento e a campanha para a utilização nos dias de serviço permanente, junto desta montra encontra-se uma porta de

acesso a entrada de mercadoria. Estas quatro montras são personalizadas de acordo com a época do ano e com os produtos a aconselhar, que são da responsabilidade dos funcionários da farmácia e de alguns laboratórios, com o objectivo de educar e promover a saúde. Na figura 1 encontra-se uma foto do exterior da Farmácia Reis. [1]



Figura 1. Aspecto exterior da Farmácia Reis

2.2.2. Organização do Espaço Interior

No interior da farmácia, existem duas áreas distintas, uma primeira destinada ao atendimento ao público e gabinete do utente e outra reservada ao funcionamento interno da farmácia.

2.2.2.1. Zona de Atendimento ao Público

A área de atendimento ao público é uma área bastante iluminada e ampla, permitindo a facilidade de circulação dos utentes. É composta por 5 balcões de atendimento, cada um com um terminal informático com o respectivo dispositivo de leitura óptica e encontram-se ligados ao *modem* e impressora de papel contínuo e ainda a caixa registadora e multibanco. Os balcões possuem ainda várias gavetas, uma das quais para guardar as receitas aviadas até estas serem corrigidas, e nas restantes encontram-se diferentes produtos como adesivos, vaselinas, preservativos, calçadas, termómetros e tampões auriculares. Na parte superior do balcão encontram-se pequenos expositores, normalmente com produtos sazonais, assim como folhetos informativos destinados à população. Na Zona atrás dos balcões, não acessível ao público, existem algumas gavetas para produtos com muita rotatividade, como antigripais, pastilhas para a garganta, testes de gravidez, produtos para uso de higiene dentária, e lineares com produtos de fitoterapia, produtos específicos de podologia, produtos de higiene íntima, produtos de higiene oral, e produtos de uso veterinário. A maioria das especialidades farmacêuticas medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) cedidas no âmbito de automedicação ou por indicação farmacêutica encontram-se neste espaço, expostas nos lineares atrás do balcão de atendimento, à vista dos utentes, mas fora do seu alcance. Outras arrumam-se em gavetas inferiores a esses lineares e uma minoria encontra-se na área de *stock*. A disposição destas especialidades tem por base princípios de *merchandising*, onde a rotação segue uma lógica sazonal. Nos lineares à direita e à esquerda da entrada da farmácia

estão expostos produtos de dermocosmética e produtos e puericultura e existe também uma balança que permite medir o peso, altura e através destes dois parâmetros calcular o índice de massa corporal (IMC).

2.2.2.2. Gabinete de Atendimento ao Utente

Este gabinete tem como objectivo principal proporcionar um atendimento mais personalizado ao utente bem como realizar determinações de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, tais como, colesterol total, glicémia, triglicéridos e pressão arterial.

2.2.2.3. Zona Reservada Funcionamento Interno da Farmácia

Na zona reservada ao funcionamento interno da Farmácia Reis encontram-se não só armazenados os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), como também psicotrópicos, produtos armazenados no frigorífico e os produtos do protocolo da diabetes mellitus. É o local em que são desempenhadas várias funções, onde se encontra o laboratório e o terminal informatizado onde é dada a entrada e a transmissão de encomendas.

Os produtos são todos armazenados de forma perfeitamente organizada tendo em conta a regra das regras das Boas práticas farmacêuticas (BPF), o *“first in first out”*, permitindo assim um rigor muito elevado no controlo dos prazos de validade e uma correcta rotação de *stock*.^[1]

Os MSRM encontram-se armazenados nas gavetas deslizantes, num corredor principal, por forma galénica e por ordem alfabética de nome comercial, estando separados dos produtos abrangidos pelo protocolo da diabetes mellitus, e dos genéricos, estes por sua vez também organizados por ordem alfabética de nome genérico em várias prateleiras no armazém.

No frigorífico, equipado com um aparelho (termohigrómetro) que faz o registo das temperaturas e da humidade, são armazenados os produtos que requerem temperaturas especiais de armazenamento. Os psicotrópicos e estupefacientes, medicamentos sujeitos a legislação especial, encontram-se armazenados num cofre.

O laboratório apresenta uma bancada de trabalho lisa, fácil de limpar, um lavatório, um banho-maria, uma balança de precisão.

A zona destinada à recepção e transmissão de encomendas também se situa na zona reservada ao funcionamento interno da Farmácia numa zona mais a retaguarda da Farmácia. É composta por um balcão com um terminal informático ligado a um *modem* responsável pelo envio de encomendas diárias às cooperativas, e respectivo dispositivo de leitura óptica, impressora e uma impressora de etiquetas para códigos de barras. Perto do terminal informático encontra-se não só um dos telefones, como também os armários onde se arquivam diariamente as facturas das encomendas que as várias cooperativas entregam na farmácia. Nesta zona também se encontra o armazém que consiste em várias prateleiras onde são arrumados os genéricos e todos os medicamentos e medicamentos de venda livre (OTC's)

que existem em maior quantidade. Ainda nesta zona encontra-se o gabinete da direcção técnica. Este espaço destina-se essencialmente à gestão e contabilidade da Farmácia e é onde estão arquivados os documentos referentes à mesma. Junto do gabinete encontra-se a instalação sanitária que serve os funcionários da farmácia e ainda existe uma casa de banho exclusiva para os utentes. Por fim temos o vestiário/copa, é neste espaço que repousa o responsável pelas noites em que a Farmácia se encontra de serviço e é também aqui que são deixados os objectos pessoais dos funcionários.

2.3. Informática na Farmácia

A Farmácia Reis está equipada com o sistema informático SIFARMA Clássico. Este é um sistema de fácil e rápida utilização, prático e eficiente. O programa pertence à *Glint*, empresa da Associação Nacional de Farmácia (ANF) que fornece o *hardware* e é responsável pelas actualizações informáticas via modem. Este programa apresenta como vantagens o fácil acesso à informação melhorando o atendimento; e fácil gestão e organização de *stocks*, permitindo um rápido acesso aos produtos directamente aos armazenistas. ^[1] Na Farmácia Reis existem 8 computadores ligados em rede interna a um computador servidor, encontrando-se 5 no balcão de atendimento, dois no armazém, sendo um usado essencialmente para consulta de *stocks* e outro para recepção e elaboração de encomendas e por último um no escritório essencialmente para gestão. Assim, todas as actividades realizadas na farmácia estão facilitadas pela informatização, levando a um ganho de tempo e permitindo uma maior disponibilidade para atender, aconselhar e ouvir o utente.

III. Informação e Documentação Científica

Cada vez mais, a Farmácia é o local de eleição no esclarecimento de dúvidas sobre os diferentes medicamentos e dispositivos médicos.^[1] Ao longo do meu estágio fui contactando diariamente com os utentes e percepcionei que cada vez mais as pessoas desejam obter informações rápidas e concretas sobre indicações, interacções, contra-indicações, estabilidade, aplicações, entre outros. São desafios diários que nos são colocados e que temos de estar aptos a desempenhar profissional e eficazmente. De acordo com o estipulado pelo Decreto de Lei n.º 307/2007, de 31 de Agosto (artigo 37º), é obrigatória a existência de determinados livros numa Farmácia.^[2] A biblioteca da Farmácia Reis encontra-se no escritório da Direcção Técnica e possui todas as publicações de carácter obrigatório:

- Farmacopeia Portuguesa VIII e respectivos suplementos actualizados;
- Formulário Galénico Nacional;
- Código Deontológico dos Farmacêuticos;

Para além destas possui ainda outras facultativas, úteis ao desenvolvimento das actividades diárias da farmácia (tabela 1).

Tabela 1. Exemplo de livros de informação e documentação científica presentes na Farmácia Reis.

Documentação básica da Farmácia	<ul style="list-style-type: none">▪ Simpósio terapêutico;▪ Prontuário e Índice Nacional Terapêutico;▪ Reacções cutâneas adversas a medicamentos;▪ Circulares Técnico - Legislativas institucionais;▪ Boas Práticas de Farmácia;
----------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

A Farmácia está hoje, mais do que nunca munida de uma diversidade de fontes de informação que é necessário saber aproveitar e explorar. Surgem mais informações, nomeadamente as publicações distribuídas gratuitamente nas farmácias, e de uma maneira mais efectiva ainda, o vasto leque de formações gratuitas promovidas semanalmente por uma infinidade de entidades distintas que engloba desde os próprios laboratórios, a centros de investigação cosmética, passando pelas distribuidoras nacionais. Tudo isto, com o intuito de mantermos os nossos conhecimentos actualizados, uma vez que a área da saúde está em constante evolução. Ao longo do meu estágio pude assistir a algumas destas formações gratuitas.

Existem ainda os chamados “Centros de Informação” que são entidades oficiais e não oficiais em que nos podemos basear em casos de dúvidas:

- CIM, Centro de Informação de Medicamentos da Ordem dos Farmacêuticos;
- O site do INFARMED, www.infarmed.pt, é também uma importante ferramenta na procura de dados referentes ao medicamento, através do Infomed, encontramos o resumo das características do medicamento (RCM);
- CIMI, Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde;

Outra fonte de informação que usei diversas vezes, essencialmente pela rapidez e facilidade de obtenção de respostas, foi as distribuidoras, que dispõem de informação muito actualizada nomeadamente dos produtos retirados do mercado e daqueles que se encontram esgotados. Esta informação é essencial, quando nos encontramos perante uma prescrição, e a situação precisa de ser resolvida no momento. No caso de redimensionamento das embalagens, as distribuidoras também são uma fonte credível. Como podemos constatar a área da saúde está em constante evolução, pelo que se torna essencial, a constante actualização, para uma melhor prestação de cuidados de saúde.

IV. Aprovisionamento e Armazenamento

4.1. Aprovisionamento

O aprovisionamento é definido como o conjunto de todas as funções/actividades que constituem o sistema centralizado de suporte ao fornecimento e disponibilidade contínua, em qualidade e quantidade, de bens e serviços, no local exacto, no momento oportuno e com menor custo. Este processo permite que ao utente chegue um medicamento de qualidade, em curto espaço de tempo, pelo menor custo, de forma a satisfazer as suas necessidades. ^[3]

A gestão de *stocks* caracteriza-se por um conjunto de actividades que visam a racionalização de todos os recursos, de modo a garantir a sua disponibilidade e funcionalidade. ^[3] Assim, um correcto aprovisionamento deve garantir uma contínua reposição do *stock* (evitando a sua ruptura), a aquisição de novos produtos lançados no mercado e o controlo dos que são retirados (após informação prévia por parte dos laboratórios ou delegados de informação médica) e a minimização da imobilização de produtos ou o seu excesso (de forma a evitar o empate de capital).^[1]

Desta forma, a gestão de *stock* mínimo e *stock* máximo de uma Farmácia deve atender aos seguintes aspectos:

- Perfil dos utentes da Farmácia e as suas necessidades;
- Localização da farmácia;
- Época do ano (produtos com rotação sazonal como, por exemplo, vacinas anti-gripais, solares e adelgaçantes);
- Dias de reforço, serviço de disponibilidade e permanente;
- Rotatividade habitual do produto;
- Capacidade de armazenamento;
- Hábitos de prescrição médica;
- Prazos de validade e possibilidade de devoluções dos produtos;
- Condições de pagamento e bonificações;
- Publicidade nos meios de comunicação;

O programa informático revela-se dia após dia, indiscutivelmente, uma mais-valia no exercício da actividade de aprovisionamento e gestão, facilitando um *stock* em quantidade e qualidade apropriados às necessidades da farmácia. Cada produto possui uma ficha no computador onde consta o *stock* mínimo e o máximo, para além de outras informações, o que permite com eficácia, ter sempre presente a quantidade necessária de cada produto. Quando a quantidade de qualquer produto na Farmácia se encontra abaixo do *stock* mínimo, o

programa envia-o para uma proposta de encomenda, onde constam o número de unidades que completam o *stock* máximo, permitindo assim um equilíbrio que evita a ruptura do *stock*. Desde o primeiro dia de estágio que pude iniciar o meu contacto com a função de aprovisionamento e armazenamento dos inúmeros produtos presentes numa Farmácia. A recepção de uma encomenda e a posterior arrumação dos produtos recepcionados facilitaram a minha familiarização com o nome comercial do produto, uma vez que até então estava mais familiarizada com o nome do princípio activo. Para além do nome do produto, permitiu-me conhecer as diferentes formas farmacêuticas disponíveis. Assim, quando iniciei o atendimento ao público, a realização desta função mostrou-se bastante importante, uma vez que me facilitou a interpretação das prescrições médicas e a procura do produto nos diferentes locais de armazenamento.

4.2. Elaboração de Encomendas

A Farmácia Reis adquire os seus medicamentos e outros produtos de saúde a cooperativas e armazenistas, podendo no entanto pedir directamente aos laboratórios, consoante as vantagens oferecidas. Desta forma a escolha do fornecedor tem em conta as condições de pagamento e devolução, a quantidade desejada, os descontos e bónus e a rapidez das entregas.

Assim a farmácia trabalha com 4 fornecedores principais:

- Alliance Healthcare
- União dos Farmacêuticos Portugueses (UDIFAR)
- Cooprofar
- Plural

Diariamente são efectuadas duas encomendas via *modem*, através do programa informático SIFARMA Clássico, que propõe de forma automática uma nota de encomenda baseando-se nos stocks mínimos e máximos das fichas dos produtos, e na transferência de produtos não fornecidos em encomendas anteriores. Na proposta de encomenda são referidos alguns parâmetros tais como média mensal de vendas, número de vendas efectuadas no mês em curso e eventuais situações bónus. Analisados estes parâmetros e face às necessidades existentes, altera-se ou não a proposta encomenda e, por fim procede-se ao envio da encomenda. Para além destas encomendas, diariamente surgem encomendas urgentes, falhas no *stock*, ou pedidos específicos que são pedidos por telefone ou por *b2b* (sistema online) no computador do balcão de atendimento directamente aos armazéns. Existem ainda as encomendas directas efectuadas aos laboratórios que consistem em compras de produtos de maior rotação e que apresentam vantagens na aquisição de grandes quantidades nomeadamente, terem uma periodicidade mais alargada, melhores condições comerciais e

realizam-se mediante a visita do respectivo delegado á farmácia, que em conjunto com a Directora Técnica e o Dr.º Daniel Cunha, elabora a nota de encomenda. O duplicado da nota de encomenda fica na farmácia servindo como comprovativo da encomenda e para posterior conferência da guia de remessa que acompanha a encomenda no momento da recepção.

4.3. Recepção de Encomendas

A recepção e a conferência da encomenda são duas tarefas que exigem bastante rigor por parte de quem as executa, pois constituem um dos pilares para o bom funcionamento da Farmácia, satisfazendo as necessidades dos utentes. Assim, é fundamental a coerência entre o pedido feito e a encomenda recebida. As encomendas diárias são entregues na farmácia pelos funcionários dos armazéns/cooperativas, enquanto as encomendas directas são entregues por transportadoras nacionais, ou internacionais ou pelos armazéns/cooperativas. Toda a encomenda que chegue à Farmácia deve vir acompanhada pela respectiva factura (original e duplicado) ou guia de remessa onde constam, entre outros elementos, a identificação de quem expede, identificação da farmácia que recebe e a descrição individualizada dos produtos encomendados por ordem alfabética (código, nome comercial, dosagem, forma farmacêutica, quantidade pedida, quantidade enviada, preço unitário, IVA (imposto sobre o valor acrescentado) a que são sujeitos os produtos e PVP (preço de venda ao público), excepto os produtos cujo preço de venda é calculado na Farmácia mediante o factor de ponderação). No Anexo 1 está um exemplo da factura de uma encomenda.

A recepção e a conferência de encomendas são feitas na área respectiva onde existe um terminal informático e facilitadas pelo programa informático SINFARMA clássico. Este programa apresenta uma função específica de “Gestão de Entregas”, na qual se encontram discriminadas as encomendas efectuadas, que ainda não se encontram regularizadas, estando ordenadas por dia, hora e fornecedor. A recepção inicia-se através a leitura óptica de todos os produtos, começando pelos que são guardados no frigorífico e que devem ser colocados no frio o mais rápido possível. Deve ser sempre conferido, com a respectiva factura, se o produto recebido corresponde ao pedido, e quando necessário actualizar o respectivo preço ou prazo de validade, bem como se o número de referências recepcionadas corresponde ao número de referências facturadas e avalia-se o estado de conservação. Se o produto for novo na farmácia cria-se a sua *ficha de produto*, introduzindo o nome do produto (dosagem e numero de unidades da embalagem se tiver), preço de custo, PVP (ou margem senão vier fixado), prazo de validade, *stock* mínimo e máximo, e se necessário imprimir etiquetas para colocar posteriormente. No fim da leitura óptica o computador apresenta uma listagem, alfabeticamente ordenada, dos produtos existentes na nota de encomenda e as respectivas quantidades (encomendadas e recepcionadas) e conferimos, produto a produto, se está de acordo com a factura. Se ocorrem falhas sem motivo esclarecido na factura, telefonicamente, pedimos justificação ao fornecedor, através da sua secção de reclamações e os produtos em falta serão recepcionados depois ou enviada uma nota de crédito tal como podemos observar

no anexo 2. Se por outro lado, o motivo da falha vier especificado, terminamos a recepção da encomenda, transferindo os produtos em falta para outro fornecedor.

No caso de medicamentos psicotrópicos é tirada uma cópia da factura onde consta o respectivo produto e é colocada numa capa, com o respectivo número de entrada de psicotrópicos, para posterior controlo no final de cada mês.

4.4. Marcação de Preços

Na encomenda constam para além das especialidades devidamente marcadas com o respectivo preço de venda ao público, os MNSRM e outros produtos (produtos de cosmética e higiene corporal, produtos de puericultura, produtos dietéticos, acessórios de farmácia, calçado ortopédico) que necessitam de devida marcação com o PVP através das margens de comercialização e da taxa de IVA de acordo com o produto em causa. O PVP é calculado através da seguinte fórmula:

$$\text{PVP} = \text{preço de custo} \times \text{factor de ponderação (margem de comercialização + IVA)}$$

A marcação dos produtos, após a impressão dos respectivos códigos de barras, deve ser feita cuidadosamente para permitir a leitura de toda a informação relevante inscrita na embalagem (nome, prazo de validade, composição, indicações de uso).

4.5. Armazenamento e Organização

Segundo as BPF, no que respeita ao armazenamento, “as condições de iluminação, temperatura e humidade devem respeitar as exigências específicas dos medicamentos, de outros produtos farmacêuticos, químicos, matérias-primas e materiais de embalagem”.^[1]

O armazenamento na farmácia é, de facto, um passo crítico em todo o circuito do medicamento. Uma vez concluída a recepção dos produtos é o momento destes serem armazenados, tendo em conta a estabilidade das suas características físico-químicas, a natureza e a segurança dos mesmos, o prazo de validade e a funcionalidade do espaço disponível.

A Farmácia Reis está equipada com 2 termohigrómetros, um na área onde se armazena a maior variedade de especialidades farmacêuticas, que mede os valores de temperatura e humidade relativa, os mesmos devem situar-se abaixo dos 25 °C e de 65%, respectivamente, e que cujos valores são retirados duas vezes ao dia. O outro termohigrómetro encontra-se no frigorífico onde a temperatura deve situar-se abaixo dos 8 °C e os valores são retirados mensalmente da memória do dispositivo e guardados no computador.

Quanto ao armazenamento, os medicamentos psicotrópicos e estupefacientes são guardados de forma individualizada, MSRMs estão arrumados nos armários, por ordem alfabética e forma farmacêutica, fora do alcance visual do utente, MNSRM, alguns estão à vista do utente, no

entanto fora do seu alcance. Os produtos do protocolo da diabetes encontram-se num local próprio, separados dos restantes produtos. Os produtos de uso veterinário encontram-se numa prateleira separada, de forma a evitar qualquer confusão que possa surgir.

Relativamente ao prazo de validade, os produtos acabados de recepcionar (pressupondo-se terem maior prazo de validade) devem ser arrumados atrás daqueles que já se encontram na farmácia. Isto para que os produtos a serem dispensados primeiro, sejam os produtos com menor prazo de validade. Existem depois muitos produtos cuja sua arrumação roda conforme a época do ano (produtos sazonais), a frequência com que são solicitados, ou o próprio espaço disponível.

4.6. Controlo dos Prazos de Validade

Entende-se por prazo de validade o tempo que decorre entre o fabrico do medicamento e o decréscimo da quantidade de princípio activo em 10%, relativamente à quantidade mencionada na embalagem.^[4] O seu controlo é uma tarefa fundamental, pois um medicamento fora de prazo pode implicar uma diminuição na eficácia terapêutica por diminuição do princípio activo ou mesmo efeitos tóxicos por alteração do mesmo.^[4] Diariamente, aquando a recepção das encomendas, sempre que se demonstre necessário, o prazo de validade dos produtos é actualizado a nível informático na ficha do produto. Por exemplo, é frequente proceder-se à dita actualização se o produto que vai repor o nível de stock possui validade inferior ao(s) que se encontra(m) armazenado(s) ou se o stock chega a zero e o “novo” produto tem uma data de validade diferente. Com estes dados introduzidos rigorosamente no sistema informático, a verificação dos prazos é feita mensalmente.

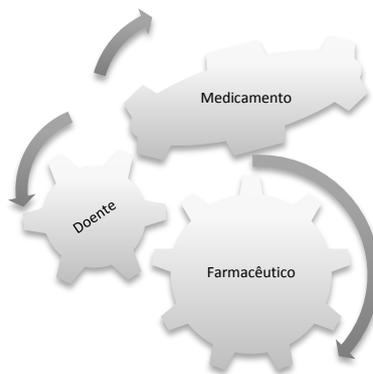
No início de cada mês é retirada uma lista dos produtos cuja validade irá expirar num período próximo e estes são colocados em sítio estratégico, e de fácil acesso, para que possam ser vendidos. É uma forma de controlar os prazos de validade com eficiência. Posteriormente se estes produtos não forem vendidos são recolhidos pelos armazenistas, directamente pelos delegados de informação médica ou por empresas enviadas especificamente para a recolha destes.

4.7. Devoluções

Existem inúmeros motivos que podem originar devoluções: **Proximidade do fim de prazo;** **Produtos não encomendados;** **Embalagens danificadas;** **Produtos trocados;** **Embalagem incompleta;** **Engano no pedido;** **Produtos retirados ou Produtos alterados.** As devoluções são feitas para o fornecedor do produto, armazém ou laboratório. Estas devoluções são acompanhadas por uma nota de devolução, gerada pelo sistema informático. Este documento contém a identificação da farmácia, a identificação do produto, a quantidade e o motivo da devolução e é impresso em triplicado. O original e o duplicado seguem para o fornecedor,

ficando o triplicado na Farmácia a aguardar resolução (reposição do produto adequado ou nota de crédito). Quando é emitida uma nota de crédito, o duplicado é assinado e enviado ao fornecedor. Se a devolução não for aceite, o valor do produto entra para as “quebras” da contabilidade anual da Farmácia. Muitas vezes são enviadas a farmácia circulares informativas de produtos que vão ser recolhidos e retirados temporariamente do mercado devendo estes ser devolvidos. No anexo 3 encontra-se um exemplo de uma circular informativa.

V. Interacção Farmacêutico-Doente-Medicamento e Cuidados de Saúde Prestados na Farmácia



O acto farmacêutico é da exclusiva responsabilidade do farmacêutico, e como tal deve executá-lo de um modo rigoroso, exemplar e responsável. Actualmente, o farmacêutico deve ter sempre presente que a farmácia é, na maioria das vezes, o primeiro local de contacto do doente com um profissional de saúde, sendo da responsabilidade do farmacêutico avaliar a situação e actuar de forma a resolver possíveis situações para as quais a sua formação é suficiente ou, encaminhar o utente para o médico. Neste sentido o farmacêutico deve procurar sempre manter o seu conhecimento actualizado e adoptar uma postura de enorme responsabilidade e de respeito para com o doente. ^[5]

A primeira preocupação da equipa de qualquer Farmácia é o bem-estar do utente, do público em geral e da comunidade. É assim essencial que haja uma interacção farmacêutico-doente-medicamento na prestação de cuidados Farmacêuticos, não só na dispensa de medicamentos com informação adequada em relação à medicação cedida (efeitos secundários e interacções), diminuindo os erros de medicação, e melhorando a adesão à terapêutica; como também no seguimento atento na determinação de parâmetros e na gestão da terapêutica de forma integrada e dirigida a doentes que apresentem terapêutica específica para determinada patologia (preferencialmente, com valores de parâmetros frequentemente acima dos objectivos terapêuticos). ^{[1] [5]}

Como tal, na Farmácia Reis existe um gabinete de atendimento ao utente, onde este se sente mais à vontade para colocar as suas dúvidas durante a medição de parâmetros fisiológicos e bioquímicos. Neste gabinete são efectuados ainda outros serviços como consultas de nutrição. Estas e outras iniciativas são recorrentes na Farmácia Reis, uma vez que existe o sentimento geral para uma melhoria na qualidade de vida no que diz respeito ao próximo. Para além disso, cada vez mais as farmácias nacionais integram iniciativas em prol da melhoria da qualidade de vida dos utentes, e para isso são levadas a cabo iniciativas como o Programa das Farmácias Portuguesas, iniciativas de protecção ambiental e redução de desperdícios, como a recolha de medicamentos fora de validade ou de uso pelo VALORMED (sociedade responsável pela gestão dos resíduos e embalagens e medicamentos fora de uso), parcerias com instituições com fins sociais, além de inúmeras campanhas de promoção de saúde e prevenção da doença destinadas à população.

5.1. Determinação de Parâmetros Fisiológicos e Bioquímicos

A determinação de parâmetros fisiológicos e bioquímicos é uma tarefa comum em farmácia comunitária, pois é a instituição de saúde mais próxima do utente, que desta forma consegue mais facilmente detectar indivíduos não diagnosticados ou medicados, e também controlar e registar de uma forma contínua os valores de doentes em tratamento. É durante esta determinação que é possível ao farmacêutico dar alguns conselhos, não só farmacológicos para uma melhoria na saúde dos utentes.^[1] Na farmácia Reis são realizados com maior frequência os seguintes testes:

5.1.1. Medição da Pressão Arterial

De todas as doenças cardiovasculares a hipertensão arterial (HTA) é a que manifesta maior prevalência na população geral e um dos principais factores de risco na ocorrência de Insuficiência Cardíaca Congestiva, Cardiopatia Isquémica, Insuficiência Renal e Acidentes Vasculares Cerebrais.^[6]

Os utentes da Farmácia que solicitam medição da pressão arterial (PA) são encaminhados para o gabinete de atendimento ao utente onde se faz a determinação num tensiómetro digital de braço, segundo algumas regras:

- Antes da medição o utente deve sentar-se e descansar 5 minutos;
- Durante a medição o utente deve estar confortavelmente sentado numa cadeira com os pés no chão e com o braço onde se vai medir ao nível do coração;
- Perguntar ao utente se teve a fumar, se ingeriu bebidas estimulantes (cafeína) na última meia hora;

- Perguntar ao doente se faz terapia anti hipertensora e se a tomou correctamente;^[7]

São várias as razões que levam os utentes a fazer esta medição: pessoas que sentem mal-estar, fraqueza, tonturas e utentes a fazer medicação anti-hipertensiva que pretendem monitorizar os seus valores. O valor registado é transmitido verbalmente e por escrito num cartão de utente e perante os valores determinados faz-se o devido aconselhamento com base nos valores de referência. Assim, na análise dos resultados obtidos recorria mentalmente a seguinte tabela 2:

Tabela 2. Classificação da PA de acordo com as normas JNC 7.^[6]

Categoria	Pressão Sistólica (mmHg)	Pressão Diastólica (mmHg)
Normal	<120	< 80
Pré-Hipertensão	130-139	80-89
Hipertensão Estádio 1	140-159	90-99
Hipertensão Estádio 2	≥ 160	≥ 100

É muito importante sensibilizar os doentes para a necessidade de controlo da pressão arterial e para os riscos que ela acarreta. A medição regular da pressão arterial é também fundamental para verificar a eficácia da terapêutica farmacológica instituída, de modo a que o farmacêutico possa encaminhar o doente para o médico caso tal não se verifique.

5.1.2. Medição da Glicémia Capilar

A Diabetes Mellitus é uma doença crónica caracterizada pelo aparecimento de níveis elevados de glicemia persistentes como resultado da carência ou da insuficiente acção da insulina. Há dois tipos de diabetes, a diabetes tipo 1, em que não há produção de insulina pelas células β dos ilheus de *Langerhans* pancreáticos e a diabetes tipo 2, que é caracterizada por vários graus de insulino-resistência e deficiente insulino secreção.^[7]

Pode ser importante verificar se a alteração dos valores glicémicos está relacionada com alguma terapêutica medicamentosa uma vez que por exemplo os antidepressivos tricíclicos, os corticosteróides e os diuréticos podem aumentar os valores, enquanto os anabolizantes ou os IMAOs (antidepressivos inibidores da monoamina oxidase) os diminuem. Um tratamento correcto e seguro, com um controlo apertado dos níveis de glicemia leva a melhoria da qualidade de vida dos doentes e retarda o aparecimento das complicações crónicas da doença (complicações microvasculares, macrovasculares, pé diabético,etc.) e agudas (cetoacidose metabólica, hipoglicémia).^[7] A farmácia é o local de contacto mais próximo do utente, e neste sentido, cabe ao farmacêutico, incutir e aconselhar o utente para a mudança dos seus hábitos, incentivar o controlo da diabetes através de medições regulares dos seus níveis de glicémia e da consulta regular do seu médico. Pude constatar ao longo do meu estágio que a população ainda apresenta muitas dúvidas relativamente a este tema, existem pessoas que se

dirigem à farmácia com dúvidas relativas aos aparelhos de controlo da glicémia, colocação de tiras e injeções de insulina. Assim redobra-se o cuidado a estes doentes, e convidamo-los a serem seguidos na farmácia. A determinação da glicémia pode ser feita em jejum (ausência de ingestão calórica durante, pelo menos, 8 horas), no intervalo pós-prandial (1 a 2 horas após o início de uma refeição) e casualmente (qualquer hora do dia independentemente da hora da última refeição). No entanto para uma medição mais rigorosa é preferível executá-la em jejum. Existem normas para se definir se um doente pode ou não ser diabético, se este tiver uma glicemia ocasional de 200 mg/dL ou superior com sintomas; ou se tiver uma glicemia em jejum (aproximadamente 8 horas) de 126 mg/dL ou superior em duas ocasiões separadas de curto espaço de tempo. ^{[7] [9]}

Para a medição da glicémia começamos por preparar o material necessário, luvas, álcool etílico e algodão, aparelho de medição, tira-teste e lanceta. Calçamos as luvas e antes da picada aquecemos ligeiramente as mãos do utente entre as nossas para estimular a circulação e facilitar a colheita de sangue; desinfectamos o dedo, esperamos uns segundos para o álcool evaporar totalmente e não interferir com os resultados; inserimos a tira-teste no aparelho e realizamos a punção capilar na zona lateral da polpa do dedo (menos dolorosa), recolhemos uma gota de sangue na tira-teste. Aguardamos que o aparelho processe o resultado (cerca de 5 segundos) e registamos o valor no cartão de registo do utente.^[8] Depois de determinado o valor de glicémia capilar, é importante a sua avaliação tendo como base os valores de referência presente na tabela 3:

Tabela 3. Classificação dos valores de glicémia.^[7]

Categoria	Glicémia mg/dL (Jejum)	Glicémia mg/dL (pós-prandial)
Hipoglicémia	< 70	-
Normal	70 - 109	< 140
Pré - Diabetes	110 - 125	140
Hiperglicémia Diabetes	> 126	> 140

No caso de se obter um valor superior ao normal, deve-se proceder a uma segunda medição. Se o valor ainda assim continuar elevado, deve-se fazer uma análise dos resultados e caso seja necessário encaminha-se o doente para um médico especialista. Pode-se igualmente aconselhar à pessoa. Assim num utente que desconhece ou não possui Diabetes um resultado em jejum superior a 110mg/dL, deve-se fazer aconselhamento sobre medidas não farmacológicas, dieta rica em fibras e baixa em hidratos de carbono e lípidos, assim como exercício moderado. Caso o valor exceda os 190 mg/dL aconselha-se o utente a recorrer a um médico. Em doentes com Diabetes já diagnosticada e com glicémias capilares elevadas deve haver uma sensibilização para a importância do cumprimento das medidas terapêuticas (medicação a horas, exercício, dieta), bem como informar sobre as possíveis complicações a

médio/longo prazo e como se podem prevenir, tendo sempre em conta um perfil glicémico traçado pelo seu médico tanto em jejum como depois das refeições. ^[7]

5.1.3. Medição do Colesterol e Triglicéridos Capilar

Apesar de fundamentais para o bom funcionamento do organismo, níveis elevados de colesterol e triglicéridos constituem factores de risco para doenças cardiovasculares que são a principal causa de morte e de incapacidade permanente. São vários os factores que podem interferir com os níveis de colesterol e/ou triglicéridos. Estas gorduras aumentam devido a uma dieta incorrecta, tabagismo, sedentarismo ou factores hereditários. ^[7]

Os procedimentos para a determinação destes parâmetros são em tudo semelhantes aos da determinação da glicémia, sendo o aparelho, as tiras e o tempo de processamento do resultado diferentes. O aparelho é comum às determinações de triglicéridos e colesterol, as tira-teste são diferentes entre si e o tempo de processamento inferior para os triglicéridos. A medição do colesterol pode ser efectuada a qualquer hora do dia, uma vez que a ingestão de alimentos não tem interferência significativa nos níveis, no entanto, a medição em jejum é mais rigorosa. Muitas vezes os utentes questionavam-me se os valores seriam coincidentes com os de uma análise em laboratório, o colesterol medido na farmácia é o colesterol total, daí que esta medição na farmácia não substitua a outra, porque a relação HDL/LDL tem mais significado clínico. Além disso, uma punção capilar no dedo tem mais interferentes que uma recolha endovenosa. ^[8]

Os valores de colesterol e de triglicéridos que se encontrem respectivamente, abaixo de 190 mg/dL e 150 mg/dL são considerados normais, embora qualquer valor alterado deva ser confirmado. Os níveis de triglicéridos no plasma variam ao longo do dia, sendo afectados pela ingestão de alimentos, daí que se recomende a determinação deste parâmetro após 12 horas de jejum. É considerado um valor ideal todo aquele que for inferior a 150 mg/dL, devendo este também ser confirmado. ^[7] Para o acompanhamento e aconselhamento junto do utente seguem-se os mesmos cuidados que referi anteriormente para a glicemia.

5.2. Protocolo para a Gestão Integrada do Programa Nacional de Prevenção e Controlo da Diabetes (Protocolo da Diabetes)

Com o objectivo de adaptação de uma política integrada de apoio ao diabético, foi criado em Outubro de 1998 um protocolo de Colaboração entre o Ministério da Saúde, representantes dos diabéticos, prestadores de cuidados de diabetologia, farmacêuticos, farmácias, indústria farmacêutica e distribuição grossista. ^[10]

A comparticipação destes produtos pelo estado pode ser total ou parcial consoante o produto. Deste modo, as tiras de medição da glicémia são comparticipadas a 85% e os restantes

produtos (agulhas, lancetas e seringas) são comparticipados a 100%. Para usufruir das condições estipuladas pelo protocolo, o utente deve dirigir-se à farmácia com uma prescrição médica. A receita médica deve indicar o centro de saúde a que o utente pertence e devem apenas constar nas receitas produtos do protocolo, uma vez que estes produtos apresentam diferentes organismos de facturação. ^[11]

Todos os produtos do protocolo são facturados em organismo próprio consoante o organismo principal, isto é, os utentes do Sistema Nacional de Saúde (SNS) pertencem ao DS, os da direcção geral de protecção social aos funcionários e agentes de administração pública (ADSE) ao DJ. Cabe a farmácia organizar e enviar mensalmente o receituário referente ao protocolo da diabetes (organismos DS, DJ), acompanhado dos documentos identificativos. Envia-se para a ANF as receitas que pertencem a ADSE e as receitas pertencentes ao SNS para a Administração Central do Sistema de Saúde Centro de Conferência de Facturas (ACSS), na Maia. Este é mais um programa de intervenção comunitária em que, aqui, também o farmacêutico pode desempenhar um papel bastante activo na prestação de toda a informação e esclarecimentos à população diabética quando da cedência destes produtos.

5.3. Recolha de Medicamentos “VALORMED”

A VALORMED é a sociedade gestora do Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e de Medicamentos fora de uso, após consumo. Assim a VALORMED constitui a solução para a necessidade de ter um sistema seguro e eficaz que possa remover e tratar os resíduos de embalagens de medicamentos e corresponde a um compromisso de toda a indústria farmacêutica, os distribuidores, as Farmácias, o Governo e, principalmente, toda a população. ^[12] O objectivo desta campanha será assim reduzir o risco de automedicação indevida, através da separação e devolução dos medicamentos que se destinem a uma terapêutica limitada no tempo ou a uma patologia determinada, pois não se aplicam necessariamente a outras situações; acabar também com a prática, ainda corrente, de lançar restos de medicação e embalagens vazias (que muitas vezes contêm restos de medicação) no lixo doméstico, o que constitui um acto de poluição do ambiente; e diminuir o risco de acidentes relacionados com medicamentos. As farmácias são o “rosto” da VALORMED junto ao público. Elas assumem um papel de primeira linha na recolha das embalagens e dos medicamentos fora de uso, após consumo, bem como no aconselhamento e sensibilização de todos os utentes para esta nova realidade. Tive a oportunidade na Farmácia Reis de receber alguns medicamentos fora de prazo, que encaminhei para o contentor da VALORMED. Quando o contentor se encontra cheio é devidamente selado e pesado, e a ficha do contentor é preenchida em triplicado, onde constam o número de registo, identificação da farmácia, peso do contentor, rubrica do operador e da pessoa responsável pelo seu transporte. Um desses triplicados é arquivado na farmácia e os outros seguem com o contentor. ^[12]

5.4. Farmacovigilância

Outra das competências e responsabilidades do farmacêutico é a Farmacovigilância. Todos os profissionais de saúde, incluindo os farmacêuticos de oficina, integram a estrutura do Sistema Nacional de Farmacovigilância, tendo a obrigação de recolher, registar e informar acerca de qualquer reacção adversa ao medicamento, interacção ou efeito indesejável, mencionado ou não no folheto informativo.^[13] Sempre que o farmacêutico detecte a ocorrência de uma destas situações deve preencher devidamente uma “Notificação de Reacções Adversas” e enviá-la ao Departamento de Farmacovigilância do INFARMED.^[13] Devemos notificar:

- Todas as suspeitas de reacções adversas graves (mesmo já descritas)
- Todas as suspeitas de reacções adversas não descritas (desconhecidas até à data)
- Todas as suspeitas de aumento da frequência de RAM (graves ou não graves)

É algo para o qual todos os profissionais de saúde devem estar sensibilizados para garantir qualidade e segurança ao utente. Durante o meu estágio não foi notificada nenhuma reacção adversa.

5.5. Recolha de Radiografias Usadas

Este projecto, promovido pela Assistência Médica Internacional (AMI), pela ANF e pelas farmácias consiste na recolha, a nível nacional, através das farmácias, das radiografias que já não tenham utilidade, recuperando os sais de prata nelas contidos, com o objectivo de os transformar em lingotes de prata. A receita angariada com esta operação reverte a favor das missões humanitárias internacionais da AMI e das acções sociais que desenvolve em Portugal, nomeadamente nos centros Porta Amiga.^[14]

5.6. Rastreiros

A Farmácia Reis em associação com os Centros Auditivos - *Widex*, desenvolve regularmente rastreios auditivos de modo a promover uma melhoria na qualidade de vida dos utentes.

5.7. Consultas de Nutrição

A obesidade é considerada hoje uma doença crónica, que constitui um importante factor de risco para o aparecimento, desenvolvimento e agravamento de outras doenças e que causa morte precoce dos doentes. A principal razão para a Obesidade é uma alimentação errada. Come-se o que não se deve e não se come o que se deveria. Cerca de 70% a 80% da população

tem uma dieta errada, que se encontra frequentemente associada a falta de exercício físico, sedentarismo.^[7] Sendo este um problema actualmente muito frequente, a Farmácia Reis realiza semanalmente consultas de nutrição. Este serviço reforça a mensagem do farmacêutico na sensibilização dos utentes para as complicações de saúde que podem advir de excesso de peso ou obesidade, ou de doenças crónicas como por exemplo diabetes. Para além disso, auxiliam a elaboração de um plano alimentar personalizado a cada utente, e se necessário aconselha-se a aquisição de produtos de dietética.

VI. Dispensa de Medicamentos

O farmacêutico no acto da dispensa de medicamentos, tem como função a distribuição de medicamentos, através da prescrição médica individualizada, devidamente embalados e identificados, bem como a dispensa de informação e aconselhamento para cumprimento correcto de um plano terapêutico. ^[1]

Muitas vezes uma má dispensa pode levar ao abandono da terapêutica, erro de administração e consequências graves para o doente, a uma diminuição na qualidade de vida do utente, e também em prejuízo por parte do Estado. Assim, cabe ao farmacêutico esclarecê-lo nas dúvidas relativas à função do medicamento na sua doença e quanto à forma como deve ser utilizado. Neste sentido, há que saber comunicar, e transmitir a informação ao utente, tendo em conta que as pessoas não são iguais, uma vez que deve ser adaptada ao grau socioeconómico, faixa etária e ao próprio estado de saúde da pessoa (pude constatar que existem muitas pessoas com falta de capacidade auditiva). Outro problema muito usual é o facto de não ser o próprio doente que se dirige à farmácia para adquirir os medicamentos, o que dificulta o aconselhamento e intervenção farmacêutica. ^{[1] [5]}

De acordo com o Decreto de lei nº 176/2006, de 30 de Agosto os medicamentos de uso humano são classificados, segundo o tipo de dispensa ao público, em Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) e Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM). ^[15]

6.1. Dispensa de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM)

De acordo com o Decreto de lei nº 176/2006 de 30 de Agosto, estão sujeitos a receita médica os medicamentos que preenchem uma das seguintes condições:

- Possam constituir um risco para a saúde do doente, directa ou indirectamente, mesmo quando usados para o fim que se destina, caso sejam utilizados sem vigilância médica;
- Possam constituir um risco, directo ou indirecto, 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 actividade ou reacções adversas seja indispensável aprofundar;
- Destinem-se a ser administrados por via parentérica; ^[15]

Ainda segundo o mesmo artigo, os MSRM podem ser classificados como:

- ✓ Medicamentos de receita médica renovável;
- ✓ Medicamentos de receita médica não renovável;
- ✓ Medicamentos de receita médica especial;

Estes medicamentos só são dispensados mediante a apresentação de uma receita médica válida, e a cedência de um MSRM tem por base o correcto aviamento da receita médica tal como descrito no Anexo 4. O farmacêutico deve sempre adoptar uma atitude crítica face a uma prescrição médica, para fazer uma correcta interpretação da mesma e, dado que é o último profissional de saúde a estar em contacto com o utente, pode em certos casos minimizar erros que possam surgir. O acto de dispensar é de especial importância, uma vez que pode determinar o sucesso ou insucesso da terapêutica. ^[1]

As receitas em vigor para a maioria dos organismos seguem o modelo aprovado na portaria n.º 1501/2002 de 12 de Dezembro que diz: “Adopta-se um modelo de receita médica que permite a sua utilização em suporte papel ou informático, com preenchimento manual ou informático, possibilitando também a modalidade de receita renovável, prevendo-se, desde já, a possibilidade de adaptação a formato integralmente electrónico.” ^[16] As prescrições médicas, no âmbito do Serviço Nacional de Saúde (SNS), surgem em modelos de receitas médicas, aprovadas pelo Ministério da Saúde e que são fornecidas aos médicos prescritores pelas Administrações Regionais de Saúde (ARS). Este modelo também foi aceite por outros organismos. O mesmo modelo de receita pode ser não renovável ou renovável, sendo esta última constituída por três vias e usada na prescrição de medicamentos que se destinem a determinadas doenças ou tratamentos prolongados e possam, no respeito pela segurança da sua utilização, ser adquiridos mais de uma vez, sem necessidade de nova prescrição médica. ^[17] Em cada receita médica podem ser prescritos até quatro medicamentos distintos, num máximo de duas embalagens por medicamento e num total de quatro embalagens por receita. Com excepção para os medicamentos vendidos em embalagens unitárias, que podem ser prescritos em número de quatro por receita. ^{[16] [17]}

Produtos referentes ao protocolo da Diabetes Mellitus têm que ser isoladamente prescritos numa receita (agulhas, lancetas, tiras reactivas para os testes e canetas de insulina, pois têm entidade de facturação própria. Neste tipo de receita podem ser prescritas até duas embalagens de cada medicamento, num máximo de quatro medicamentos prescritos. ^[11]^[18]

Durante a segunda semana de estágio, analisei pormenorizadamente receitas já aviadas, de forma a tomar contacto com todos os itens que constituem a receita, para me familiarizar com os nomes comerciais dos medicamentos e tentar perceber o porquê da prescrição daquele medicamento para o utente em questão. Esta tarefa revelou-se bastante importante tendo, posteriormente, facilitado o meu atendimento ao público. No decorrer do meu estágio, pude contactar com receitas que continham medicamentos prescritos que se encontram retirados do mercado, formulações e posologias não existentes, e que exigem de nós uma atenção redobrada. O farmacêutico, quando recebe uma receita, deve confirmar a legalidade desta, para isso existem regras e parâmetros a verificar, descritos no Anexo 5. Após serem prestadas todas as informações necessárias processa-se a venda informaticamente, com leitura dos códigos de barras de cada embalagem e selecção do organismo de comparticipação. De seguida no verso da receita é impresso o documento de facturação onde constam o medicamento dispensado e o respectivo código CNP, o número de embalagens, o valor do produto, o valor pago pelo utente e pelo organismo, o código da entidade comparticipadora, o lote a que pertence a receita e o número da receita dentro do referido lote, a identificação da Farmácia e do Director-Técnico, a data da cedência e o código do operador responsável pela venda. Por fim o documento é datado e assinado pelo funcionário que procedeu ao atendimento e assinado pelo utente garantindo que lhe foram dispensados os medicamentos prescritos e prestadas todas as informações necessárias. Simultaneamente há emissão de uma factura/recibo para o utente, que tem de ser carimbada e rubricada para efeitos de IRS. (Anexo 6)

6.2. Organismos de Comparticipação

Enquanto entidade prestadora de cuidados de saúde pública, a farmácia Comunitária encontra-se relacionada com várias instituições e serviços, estabelecendo com estas uma série de deveres e obrigações legais, de modo a permitir um adequado serviço à comunidade.^[1]

Cada um dos organismos de comparticipação possui diferentes especificidades que têm que ser tidas em conta quando se avalia a receita. A grande maioria das receitas que chegam à Farmácia Reis é de beneficiários do SNS. Para além do SNS existem muitos outros organismos de comparticipação (entidades financiadoras), sendo que, os medicamentos e as respectivas percentagens de comparticipação variam consoante os acordos estabelecidos entre cada organismo e a ANF. Dentro de um organismo podem existir diferentes regimes de comparticipação. É o que acontece com o SNS em que existe, por exemplo, o regime geral e o

regime especial. Actualmente a maioria dos medicamentos são prescritos através do sistema informático, podendo-se neste caso identificar o regime especial pela impressão de um R nas receitas. Nas receitas tradicionais o tipo de regime (geral ou especial) é identificado pela vinheta do local da prescrição (cor-de-rosa ou verde, respectivamente) colocada na receita, contudo, deve-se sempre confirmar com o cartão de beneficiário, já que por vezes as vinhetas encontram-se trocadas ou mesmo ausentes. As vinhetas apenas são utilizadas por instituições públicas, no caso das privadas é usado um carimbo identificativo.

Alguns dos organismos de comparticipação com acordo com ANF, e dos quais surgem maior número de receitas na Farmácia Reis, são: ADSE, ADM, SAMS, SAD/PSP e SÂVIDA/EDP. Em alguns destes subsistemas (SÂVIDA, Multicare), o receituário médico é feito em complementaridade com o SNS. Nestes casos, a receita tem o modelo normalizado para o SNS, sendo necessário efectuar uma fotocópia da receita (frente e verso), ficando no verso da fotocópia o número de beneficiário relativo ao organismo em complementaridade ou cópia do cartão. Todas as receitas, com excepção do SNS (que são enviadas para o ACSS na Maia), são enviadas à ANF, que reembolsa as Farmácias e as reenvia para os respectivos subsistemas.

6.3. Regimes Especiais de Comparticipação

Existe uma série de diplomas que regem as comparticipações especiais no que diz respeito a medicamentos específicos usados no tratamento de determinadas patologias crónicas especiais. A legislação contempla Portarias e Despachos que alteram o regime de comparticipação normal dos medicamentos para determinadas patologias crónicas, podendo o doente adquirir o(s) medicamento(s) a preços inferiore(s) ou mesmo a custo zero. Para estes casos, o médico prescriptor tem obrigatoriamente de mencionar na receita, o número do Despacho ou da Portaria adequado para que o utente tenha uma percentagem de comparticipação superior à referente ao sistema de saúde do qual é beneficiário. ^[18] Na ausência da indicação dessa portaria ou despacho a comparticipação adicional não pode ser efectuada, mesmo que o farmacêutico tenha conhecimento que o doente tem direito. Ao longo do meu estágio tive oportunidade de facturar algumas receitas, nos organismos respectivos, de algumas patologias de legislação específica a que estão sujeitas. Como por exemplo a patologia do Lúpus que segundo o Despacho 11 387-A/2003 (2ª Série), de 23/5 os medicamentos têm uma comparticipação de 100% não pagando o utente por eles. Exemplos de algumas destas comparticipações encontram-se no anexo 7.

6.4. Processamento e Conferência do Receituário

As receitas depois de carimbadas, rubricadas e datadas devem ser conferidas. Na Farmácia Reis as receitas são conferidas por duas vezes, isto é, todos os parâmetros são revistos para

garantir que não houve erros de aviamento e uma vez detectados são providencialmente reparados, contactando o utente ou o médico prescritor. A partir da 4ª semana do meu estágio esta foi uma das tarefas que executei, e pude conferir algumas destas receitas onde verificava se as receitas respeitavam todos os requisitos, comparando os medicamentos dispensados face aos prescritos, confirmando o organismo de facturação, a validade da receita, os preços, assinatura do médico, comparticipações, carimbo da farmácia, data de aviamento e assinatura do funcionário que efectuou o atendimento.

Após verificação as receitas são separadas de acordo com os organismos e agrupadas em lotes de trinta receitas. Regularmente são emitidos os verbetes de identificação dos lotes. No final de cada mês são fechados os últimos lotes de cada organismo, os quais podem conter menos de 30 receitas, e é emitida em quadruplicado a Relação Resumo de Lotes, que é carimbada e rubricada pelo farmacêutico responsável. Após a emissão da Relação Resumo de lotes, é emitida a Factura mensal Medicamentos em quadruplicado para cada organismo e a farmacêutica responsável carimba e assina. O receituário referente ao SNS é enviado para o ACSS na Maia, e os restantes organismos para a ANF, que se encarrega de as reencaminhar para as respectivas entidades participantes. Durante o meu estágio acompanhei a realização desta tarefa.

6.5. Dispensa de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)

Designam-se por MNSRM, as especialidades farmacêuticas de venda livre, sem receita médica, destinadas ao alívio, tratamento ou prevenção de sintomas ou síndromes menores, que não exigem à partida, cuidados médicos e que possuem na sua constituição substâncias previamente reconhecidas como úteis e seguras. Os MNSRM, passíveis de automedicação, são especialidades farmacêuticas que possuem na sua constituição substâncias reconhecidas como seguras, eficazes e de qualidade. Contudo, é necessário ter consciência de que estes medicamentos actuam no organismo humano e como tal não são desprovidos de contra-indicações e efeitos secundários, principalmente se usados de modo errado ou abusivo. Deve também ter-se em atenção a diferente susceptibilidade dos indivíduos a determinada substância, devendo ter-se em conta que há determinados grupos de doentes que requerem cuidados especiais e a quem a cedência de MNSRM deve ser feita de forma criteriosa e limitada ou mesmo desaconselhada (grávidas, mulheres a amamentar, crianças com idade inferior a três anos e doentes crónicos). ^[19]

Por tudo o que foi dito anteriormente, a legislação portuguesa contempla uma lista de indicações passíveis de automedicação, para que apenas os medicamentos com indicações terapêuticas aí mencionadas sejam cedidos sem necessidade de apresentação de receita médica. ^[20] Actualmente, a automedicação assume uma preocupação maior na nossa

sociedade, principalmente por dois motivos, um deles é o acesso facilitado a MNSRM, uma vez que, presentemente, estes podem ser vendidos fora das farmácias, o outro é a publicidade promotora destes medicamentos nos meios de comunicação social. Pude constatar através do atendimento, que a publicidade tem um papel muito importante, uma vez que várias pessoas pedem medicamentos e produtos publicitados na televisão.^[21] O farmacêutico tem nos cuidados básicos de saúde, o importante papel de racionalizar a automedicação, informando, orientando e dando aconselhamento profissional ao utente que surge na farmácia. Assim, o farmacêutico deve, de acordo com as suas capacidades e conhecimentos, distinguir uma situação clínica que requer consulta e avaliação médica de uma que pode ser aliviada com recurso a terapêutica de não prescrição.^[1] No anexo 8 encontra-se um esquema de seguimento e da intervenção do farmacêutico, incluindo até onde este deve interagir. Caso esta intervenção não se justifique, é da responsabilidade do farmacêutico seleccionar o medicamento mais adequado e ao mesmo tempo fomentar o seu uso adequado e racional, não aleatório nem excessivo e, por isso, a sua dispensa deve ser feita com bastante prudência. De forma a poder decidir com rigor e maior exactidão, o farmacêutico deve avaliar e analisar todo a história clínica do utente, para além da situação clínica que o leva a procurar a automedicação.^[22]

No decorrer do meu estágio, procurei colocar questões simples e directas relacionadas com a altura em que se iniciaram os sintomas, o tempo de prevalência dos sintomas, a sua intensidade e o aparecimento ou não de novos sintomas de forma a fazer-se uma correcta avaliação da situação e da necessidade ou não do uso de determinado MNSRM.

6.6. Dispensa de Medicamentos Genéricos

Segundo o Estatuto do Medicamento, aprovado a 30 de Agosto de 2006, Medicamento genérico é “todo o medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias activas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade”.^[15] A cedência de medicamentos genéricos só acontece aquando da autorização do médico prescritor e posterior consentimento do utente. É função do farmacêutico elucidar os utentes quanto às vantagens relativas à utilização de medicamentos genéricos e quanto às semelhanças com os medicamentos de marca, têm a mesma eficácia terapêutica. Os medicamentos genéricos são significativamente mais baratos uma vez que não acarretam no seu preço final os elevados custos associados à sua investigação e desenvolvimento, existem por isso inúmeras indústrias farmacêuticas que investem maioritariamente nos genéricos. Para além disso, o INFARMED avalia e comprova a qualidade, monitoriza a segurança e inspecciona todos os medicamentos que se encontram no mercado.

6.7. Dispensa de Psicotr3picos e Estupefacientes

Os Psicotr3picos e Estupefacientes s3o medicamentos sujeitos a legisla33o especial, que devido 3s suas propriedades farmacol3gicos especiais, pelos efeitos a n3vel ps3quico (procurados para tr3fico e utiliza33o pelos toxic3manos), margem terap3utica estreita e pela depend3ncia f3sica e psicol3gica que geram, exigem um controlo muito rigoroso, estando sujeitos a legisla33o apertada e requerem do farmac3utico um cuidado espec3fico. [23]

O Decreto de Lei n3 15/93 de 22 de Janeiro e posteriormente o Decreto regulamentar n3 61/94 de 12 de Outubro agrupam os psicof3rmacos em quatro tabelas segundo as suas caracter3sticas, estabelecendo tamb3m regras para o seu controlo, fiscaliza33o e penaliza33o, cuja responsabilidade pertence ao INFARMED. As farm3cias, como entidades que tamb3m est3o inclu3das no circuito deste tipo de medicamentos no que respeita a aquisi33o, armazenamento e 3 ced3ncia, ficam obrigadas a cumprir todas a legisla33o que os cobre. [23]

Na Farm3cia Reis os estupefacientes e psicotr3picos est3o armazenados fora do alcance f3sico e visual do utente. Encontram-se num cofre, numa parte do armaz3m. Durante o meu est3gio, tive a oportunidade de contactar com a dispensa de medicamentos psicotr3picos e aprendi que a ced3ncia deste tipo de medicamentos perante receita m3dica requer bastante at3n3o e prud3ncia. A dispensa destes medicamentos apenas 3 poss3vel mediante a presen3a de receita m3dica especial que actualmente j3 pode ser uma receita electr3nica vindo a substituir as receitas de cor amarela e em triplicado, na qual poder3 constar um medicamento, numa 3nica dosagem, com limite de quatro embalagens por receita. No momento da dispensa da receita o farmac3utico deve verificar sempre a identidade do adquirente. No caso de n3o ser o pr3prio doente, o sistema inform3tico pede algumas informa333es adicionais como a sua idade, n3mero de bilhete de identidade e data de validade do mesmo. [1] Caso seja uma receita especial informatizada (uma 3nica receita) ap3s ced3ncia do(s) medicamento(s) prescrito(s), o original 3 enviado para o centro de confer3ncia de receitu3rio da Maia, e tira-se uma fotoc3pia para ficar arquivada na farm3cia por um per3odo minino de tr3s anos. No caso de ser uma receita especial amarela em triplicado um dos duplicados fica arquivado na farm3cia por um per3odo m3nimo de tr3s anos e o outro 3 enviado para o INFARMED at3 ao dia 8 de cada m3s. A farm3cia envia, tamb3m, ao INFARMED, no prazo de 15 dias ap3s o termo de cada trimestre, a listagem elaborada informaticamente e um duplicado das entradas e sa3das dos f3rmacos psicotr3picos e estupefacientes devidamente confirmadas, carimbadas e assinadas pelo Director T3cnico. O balan3o anual de entrada e sa3da destes produtos 3 enviado para o INFARMED, at3 dia 31 de Janeiro do ano seguinte, ficando a farm3cia com os duplicados de todos os documentos enviados 3 entidade reguladora, por um per3odo n3o inferior a 3 anos.

6.8. Atitude do Farmacêutico no Acto de Dispensa

O farmacêutico deve mostrar uma total disponibilidade para prestar os esclarecimentos necessários, devendo esta informação ser transmitida de forma clara e simples, de modo a garantir uma total compreensão por parte do utente. O farmacêutico deve procurar saber qual o grau de informação que o doente possui relativamente ao medicamento, para saber que informação fornecer de modo a possibilitar o uso adequado do medicamento. Se estivermos perante um medicamento que necessita de explicações relativamente a utilização, o farmacêutico deve explicar o seu uso. A posologia deve ser transcrita para a embalagem sempre que necessário, reforçando oralmente as indicações escritas, de forma a assegurar o cumprimento da terapêutica instituída. O acto de dispensa reveste-se de grande importância, e o farmacêutico não o deve descurar em qualquer momento. Todo o processo deve ser pautado por regras deontológicas, que garantam o bom exercício da profissão, nunca esquecendo que a profissão se orienta por normas jurídicas e por normas deontológicas. Como tal, o completo exercício da profissão só se realiza com uma ética profissional aplicada à profissão, devendo ser pautado pela responsabilidade, independência e sigilo profissional. Para garantir a segurança do utente e o próprio pagamento por parte da entidade participadora, no momento de dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica é fundamental verificar a validade da receita médica apresentada. Para isso, o farmacêutico deve avaliar diversos parâmetros, num curto espaço de tempo. Quando a receita não cumpre algum parâmetro, o Farmacêutico deve, sempre que possível, tentar resolver a situação. ^[1] ^[5]
[22]

VII. Indicação Farmacêutica/Automedicação

Diariamente são várias as sintomatologias e patologias que surgem na farmácia, passíveis de indicação farmacêutica, entre elas as mais frequentes estão relacionadas com, diarreia, obstipação, dores de garganta, tosse, alergias entre outras. Relativamente a patologias, pode constatar que a hipertensão, diabetes tipo 2 e a hipercolesterolémia fazem parte da realidade actual.

Ao longo do meu estágio deparei-me com várias situações que puseram em prática o meu conhecimento relativamente ao aconselhamento ao utente e tive a oportunidade de aconselhar os utentes, tentando obter a solução mais adequada para o seu caso. Cada vez mais a farmácia é o primeiro local a que o utente se dirige com determinadas patologias caracterizadas por sintomas ligeiros ou em situações agudas. Assim, quando o farmacêutico é confrontado com um pedido de aconselhamento por parte de um utente deve, de acordo com as suas capacidades e conhecimentos, distinguir uma situação clínica que requer consulta e avaliação médica de uma que pode ser aliviada com recurso a indicação farmacêutica. No

entanto, não nos devemos esquecer que o farmacêutico não tem competência para avaliar tudo, e há que saber encaminhar para o médico. Na área da indicação farmacêutica, o farmacêutico tem duas alternativas de tratamento, que podem e devem ser usadas conjuntamente, as medidas não farmacológicas e as medidas farmacológicas com recurso aos MNSRM (medicamentos não sujeitos a receita médica).

Os MNSRM são *“especialidades farmacêuticas destinadas ao alívio, tratamento ou prevenção de sintomas e síndromes menores, que não requerem cuidados médicos e que têm na sua composição substâncias previamente reconhecidas como úteis e seguras”*.^[15]

Por definição, nenhuma substância activa pode chegar pela primeira vez ao mercado sob o estatuto de MNSRM, só podendo passar a sê-lo se estiver há pelo menos 5 anos no mercado. Contudo o farmacêutico deve sempre ter em mente que os MNSRM apesar de teoricamente serem seguros e eficazes, têm sempre um determinado risco inerente, especialmente se o seu consumo for exagerado. Ao mesmo tempo o farmacêutico tem que ter em atenção determinados grupos que são mais susceptíveis: Grávidas, Crianças, Idosos, Doentes Crónicos, Doentes Poli-medicados.^[15] Para além disso, o farmacêutico de forma a decidir com rigor e maior exactidão, deve avaliar e analisar todo o percurso clínico e médico do utente, para além da situação clínica em questão. Devem ser colocadas algumas questões simples e directas relacionadas com a altura em que se iniciaram os sintomas, o tempo de prevalência dos sintomas, a sua intensidade e o aparecimento ou não de novos sintomas de forma a fazer-se uma correcta avaliação da situação. O farmacêutico deve elucidar o utente de todas as dúvidas que lhe possam surgir, deve indicar o melhor tratamento para a sintomatologia descrita, e se isso passar por um MNSRM então tem que explicar de um modo claro a forma mais segura e eficaz para o administrar, nomeadamente: posologia, modo de administração, precauções de utilização, contra-indicações, efeitos indesejáveis, reacções adversas, duração de tratamento. Este deve alertar o doente para o facto de a terapêutica poder não resultar e definir metas, perante as quais o utente se deve dirigir ao médico, nomeadamente quando não existirem melhoras ao fim de 5 dias, agravamento dos sintomas apesar do tratamento e melhoria apenas temporária dos sintomas, com reaparecimentos dos mesmos com alguma frequência. Por tudo o que foi dito anteriormente, o INFARMED, mais propriamente o seu Departamento de qualidade e segundo o despacho n.º 17690/2007, de 23 de Julho este seleccionou e tabelou um resumo das situações passíveis de automedicação, para que apenas os medicamentos com indicações terapêuticas aí mencionadas sejam cedidos sem necessidade de apresentação de receita médica. No Anexo 9 encontra-se a lista de situações passíveis de automedicação.^[20]

7.1. Casos Práticos

7.1.1. Protecção Solar

Com a chegada do período balnear, os protectores solares foram também fortemente procurados. O protector solar ideal varia de pessoa para pessoa consoante o tipo de pele e o seu fotótipo. Assim, as pessoas com a pele normal ou mista deverão optar por uma emulsão, ao passo que as pessoas de peles secas deverão usar o creme. Outro aspecto a ter em conta é o fotótipo, existem 6 fotótipos de pele e devem ter se em conta na hora de aconselhar um protector solar, sendo que as pessoas já com alguma tonalidade podem optar por um FPS de índice 30, enquanto as pessoas de pele mais clara e crianças deverão usar o FPS 50 de modo a evitar os escaldões e problemas de pele. Alguns destes protectores são constituídos por filtros físicos (ou minerais) opacos, como o Óxido de Zinco e Dióxido de Titânio, que se aderem à pele, reflectindo os raios UV, ou/e por filtros químicos, como o Oxibenzeno, que absorve a luz UV.

7.1.2. Problemas Relacionados com o Sistema Digestivo

Os mais comuns são a diarreia, obstipação e azia. Devemos ter sempre presente que muitos destes distúrbios podem ser devidos a alguma medicação, e uma das primeiras questões a colocar ao utente é se este toma algum tipo de medicamento. Se o utente está sujeito a determinada medicação, devemos analisar se o problema que o leva a pedir auxílio é um efeito secundário desta e, se for esse o caso, devemos informar o utente e aconselhar medidas não farmacológicas de forma a aliviar as queixas.

7.1.2.1. Flatulência e Diarreia

Com frequência, vários utentes se queixaram de ter tido inicialmente flatulência e, posteriormente, diarreia, procurando ajuda para este último problema. No caso de se suspeitar que a etiologia da diarreia é viral ou bacteriana, o utente deve ser encaminhado para o médico. Quando o doente em questão era um adulto, e não tinha outras complicações associadas, aconselhava primeiramente a administração de um normalizador da flora intestinal e antidiarreico microrgânico, o UL-250® (lactoflora), sendo a posologia 1 comprimido/carteira 3 vezes ao dia. Numa situação mais aguda, com dejectões mais frequentes administração de um modificador da motilidade intestinal como a Loperamida (Imodium®), sendo a posologia 2 comprimidos inicialmente e 1 após cada dejectão até uma dose máxima de 8 comprimidos por dia. Nos casos em que a flatulência persistia sugeri também um antifatulento como o Imogas® (simeticone). Juntamente com a cedência do medicamento referi a importância da ingestão de líquidos como a água ou infusões, de sumos

de frutas naturais ou “Coca-Cola”, pela quantidade de iões presentes nestes e que são importantes ao restabelecimento do equilíbrio hidro-electrolítico do organismo e da importância de uma alimentação pouco condimentada e o mais simples possível. Alertei o doente para o facto de que o tratamento não deve durar mais de dois dias e que em caso de agravamento dos sintomas o doente deve consultar o médico. Numa outra situação, em que o doente era uma criança de 3 anos com diarreia e vómitos, desde de manhã comecei por perguntar à mãe se o menino tinha febre (no caso de esta ser elevada requer a observação imediata de um médico), ao que a resposta foi negativa. Como se trata de uma criança o mais importante é hidratá-la, assim referi à utente a importância e a necessidade da reposição dos fluidos e dos electrólitos eliminados pela diarreia, recorrendo a soluções orais electrolíticas, como o Redrate® e o Dyoralite® (sabor a groselha ou limão), durante as primeiras 24 horas. Relativamente às medidas não farmacológicas, aconselhei a não administrar leite e outros produtos lácteos até 24 horas após a cura da diarreia e ingerir bastantes líquidos e controlo da febre. Alertei a mãe para consultar imediatamente o pediatra, caso se verificasse alguma das seguintes situações: aumento da diarreia e dos vómitos, fezes com sangue, temperatura rectal superior a 39,5°C e se a criança apresentasse sinais de desidratação, como apatia, sede excessiva e falta de urina.

7.1.2.2. Obstipação

Também se verificava com frequência a procura de laxantes por parte dos utentes na tentativa de resolver problemas de obstipação. Nestas situações o meu primeiro conselho referia-se à importância das medidas não farmacológicas: fazer uma alimentação rica em fibras e evitar o consumo de alimentos que tendencialmente endurecem as fezes, aumentar a ingestão de líquidos e praticar exercício físico de forma a regular o trânsito intestinal. Quando os utentes referiam que estas medidas não tinham surtido efeito e achava que a situação em causa era passível de cedência de medicamento escolhia normalmente os Frutos e Fibras® a base de substâncias naturais que favorecem o trânsito intestinal ou em casos mais acentuados um laxante osmótico, como a Lactulose (Laevolac®), tendo sempre em conta a idade e se o utente sofria de algum problema de saúde tal como diabetes uma vez que estes produtos tem muitas vezes na sua composição sacarose, e alertava sempre para o facto de que uma terapêutica deste género não deve ser efectuada de forma prolongada e que é normal não ocorrer defecação durante alguns dias após o uso de um laxante.

7.1.2.3. Azia

Alguns utentes deslocam-se ainda à farmácia com queixas de azia. Na sua maioria, a azia resulta de hipersecreção gástrica, sendo que a terapêutica mais comum consiste na sua neutralização, através do uso de antiácidos. Dos quais são mais comumente cedidos na Farmácia Reis o carbonato dihidratado de alumínio e sódio (Kompensan®), entre outros.

7.1.3. Constipações Estados gripais

O farmacêutico deve questionar quais os sintomas que o utente apresenta, para depois entre a variedade de MNSRM que se encontram na farmácia, escolher a opção que mais se adequa à situação. Entre os sintomas mais comuns, podemos destacar: Febre, Dor de Cabeça, Rinorreia, Dores Musculares, Congestão Nasal e Ocular, Dor de Garganta (com ou sem pontos brancos, dor ao engolir). Nestas situações, a indicação farmacêutica deve contemplar medidas farmacológicas e medidas não farmacológicas. Para uma situação normal de constipação deve aconselhar-se sempre uma maior ingestão de líquidos para manter a pessoa hidratada. As medidas farmacológicas vão depender bastante dos sintomas apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Medidas farmacológicas adoptadas consoante os sintomas apresentados.

Sintoma	Indicação Farmacêutica
Febre e Dor de Cabeça	Paracetamol
Febre com Rinorreia	Paracetamol + Anti-histaminico <i>Apesar de não ser o mais aconselhável, a escolha passa por uma associação, sendo a mais comum o Cêgripe, já que tem uma dosagem de paracetamol superior aos restantes. A cedência destes medicamentos deve ter em atenção as possíveis contra-indicações dos anti-histamínicos.</i>
Congestão Nasal	A primeira opção passa por água do mar, caso não seja suficiente, cede-se um descongestionante nasal. Ao ceder um descongestionante nasal o farmacêutico deve alertar para o facto de não se dever usar este tipo de medicamentos mais de 3-5 dias, de forma a evitar o efeito <i>rebound</i> .
Dor de Garganta	Se existir uma inflamação na garganta sem pontos brancos (os pontos brancos indicam uma infecção e nesse caso tem que se remeter para o médico), a terapia farmacológica pode passar por pastilhas com anti-inflamatório (flubiprofeno), desinfectante (benzidamida), ou apenas com efeito anestésico local (benzocaína). Hoje em dia já existem pastilhas sem açúcar que acabam por ser muito úteis para os diabéticos. Outras formas farmacêuticas bastante utilizadas neste tipo de sintomas são os sprays desinfectantes que têm a vantagem de poderem ser direccionados directamente para a mucosa. Em caso de muitas dores pode-se auxiliar com um anti-inflamatório oral (normalmente ibuprofeno), mas tendo em atenção as possíveis contra-indicações dos AINES (pessoas com úlceras gástricas, pessoas a fazer terapia anti-hipertensora e asmáticos).

7.1.4. Tosse

A tosse é um dos sintomas que leva muita gente à farmácia. Antes de se dispensar qualquer medicamento para o efeito, a primeira preocupação passa por saber de que tipo de tosse se trata, produtiva ou seca; qual poderá ser a sua causa (tosse alérgica, derivada de medicamentos como os inibidores da enzima de conversão da angiotensina, devido a uma constipação, devido ao tabagismo, etc.), e se o utente é asmático ou diabético. Antes de ceder qualquer medicamento para o efeito procurei saber, através das seguintes perguntas, de que tipo de tosse se tratava: “Há quanto tempo tem tosse?”; “É uma tosse seca ou com expectoração?”; “Toma alguma medicação?”; “É asmático?”. Assim, procurava avaliar a situação, e a verdade é que após perguntar se a tosse era seca ou produtiva a grande maioria

respondia que era seca, mas depois de algumas questões incisivas, chegava à conclusão que era produtiva. A terapêutica não farmacológica revela-se muito importante nestes casos e envolve a hidratação por ingestão e/ou inalação de água. Nos casos em que a tosse era produtiva aconselhei um expectorante mucolítico, como por exemplo, a preparação de Bromexina sem açúcar, própria para diabéticos (Bisolvon Linctus® criança e Bisolvon Linctus® adulto) e na tosse seca o Dextrometorfano (Bisoltussin® tosse seca), não estupefaciente e com menos efeitos secundários que a codeína.

7.1.5. Picadas de Insectos

Muitos foram os utentes que se dirigiram à farmácia para adquirir algo que lhes aliviasse o prurido provocado pelas picadas de insectos, sendo as loções calmantes e refrescantes úteis nestes casos (Fenistil®, Caladryl®).

7.1.6. Dores Reumáticas

As dores reumáticas são uma constante por parte dos utentes idosos. Nestes casos, era aconselhado o uso de pomadas contendo substâncias anti-inflamatórias (Voltaren emulgel®, Reumon Gel®) ou emplastos (ThermaCare® emplastro térmico). Alguns utentes preferiam a forma farmacêutica spray (Elmetacin®).

7.1.7. Pernas Pesadas e Cansadas

Com a chegada do calor, muitos utentes dirigiram-se à farmácia queixando-se que sentiam as pernas pesadas e cansadas. Nestes casos, aconselhei a elevação das pernas, no final do dia, não estar muitas horas de pé e a aplicação local de um gel refrescante, contendo substâncias que melhoram a circulação venosa, como o Antistax®, o Venoparil®, ou o Venosmil®.

7.1.8. Herpes Labial

Frequentemente surgem casos de Herpes labial, procurando algumas pessoas o penso protector invisível (Compeed®, Zoviprotect®). A terapêutica que aconselhei durante o meu estágio foi a de Aciclovir tópico a 5 % (Zovirax®) devendo ser aplicado, 5 vezes ao dia durante 5 dias, logo que apareçam os primeiros sintomas (ardor, prurido, dor) e Urgo Herpes Labial que consiste numa película discreta que trata e isola, baseada na tecnologia filmogel que após aplicação no lábio, em contacto com o ar, forma-se uma película flexível e protectora.

7.1.9. Contraceção Oral de Emergência

A contraceção oral de emergência consiste num comprimido de 1.5mg de Levonorgestrel (progestagénio), devendo ser tomado o mais rápido possível até às 72 horas após a relação desprotegida e, se houver vômitos ou diarreia até 3 horas após a toma, esta terá de ser repetida, uma vez que o seu efeito pode estar comprometido. Antes de dispensar a pílula do dia seguinte, o farmacêutico deve colocar um conjunto de questões, tais como, quanto tempo decorreu desde a última relação sexual, se há alguma possibilidade de já estar grávida, altura do ciclo menstrual, se foi usado algum método contraceptivo, se já alguma vez recorreu à contraceção de emergência, se sofre de alguma perturbação cardiovascular, se tem dislipidémias, problemas hepáticos, entre outras questões. Constatei que a maior parte das pessoas mostram-se desconfortáveis com a inquirição de certos pormenores. No entanto, a sua administração deve ser feita com cautela, sendo muito importante o aconselhamento do farmacêutico. De realçar, que a cedência deve ser feita sempre à utente em causa. Após todas as respostas dadas, avalia-se a situação e só será dispensada se realmente houver risco de gravidez e não houver quaisquer complicações para a utente. Deve-se alertar a utente para o facto da elevada dosagem desta pílula e referir que a pílula do dia seguinte não é um método contraceptivo de uso regular e que apenas deve ser utilizado quando os outros métodos falham, devendo evitar, a todo o custo, o recurso a este método. É importante informar a utente, relativamente às contra-indicações (doença cardiovascular, hipertensão, diabetes, gravidez, cancro da mama, tabagismo) e possíveis efeitos secundários (náuseas, vômitos, cefaleias, dores abdominais, atraso na menstruação, hemorragias uterinas).

VIII. Aconselhamento e Dispensa de outros

Produtos de Saúde

A farmácia de oficina tem ao dispor do utente outros produtos de saúde, para além da dispensa de medicamentos de uso humano. A variedade destes produtos está relacionada com o tipo de utentes e com o contexto socioeconómico em que a farmácia se insere. Uma vez que o farmacêutico tem formação na área de cosmética, fitoterapia, dispositivos médicos, entre outras, faz todo o sentido que estes produtos sejam adquiridos na farmácia e não nas grandes superfícies. O farmacêutico coloca assim, os seus conhecimentos em prática, contribuindo para a melhoria e manutenção da qualidade de vida dos utentes. Na Farmácia Reis estes produtos são dispensados com frequência.

8.1. Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal

Segundo o Decreto de lei n.º 189/2008, de 24 de Setembro, “*produtos cosméticos e de higiene corporal são*” qualquer substância ou preparação destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente a epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspecto e ou proteger ou os manter em bom estado e ou de corrigir os odores corporais”.

[24] Nos dias de hoje a aparência física é cada vez mais uma preocupação crescente e o campo da cosmética e dermocosmética é uma área em ascensão na Farmácia comunitária. No entanto, estes produtos não são só para fins exclusivamente estéticos, uma vez que cada vez mais os médicos prescrevem este tipo de produtos para tratamentos dermatológicos, o que também justifica o aumento da sua procura. O mercado da dermocosmética está a crescer e consequentemente existe um vasto conjunto de opções de várias marcas distintas. Na Farmácia Reis existem diversas marcas de cosmética, sendo que os pedidos mais frequentes são: envelhecimento cutâneo, acne e produtos para pele seca. O utente encontra as seguintes linhas: La Roche Posay®, Avène®, Galénic®, RoC®, Vichy®, Uriage®, Eucerin®, Decubal®, A’Derma®, Mustela®, Aveeno®, Klorane®, Lutsine®, Ducray®, Isdin®, B-lift®, Elancyl®.

As marcas disponíveis na Farmácia encontram-se arrumadas em lineares na zona de atendimento, a sua organização decorre da aplicação de princípios de marketing e *marchandising*, estando cada marca devidamente identificadas e individualizadas. Apresentam, no essencial, linhas similares, que compreendem cuidados de rosto e de corpo, e neste em particular, cruzando o tipo de pele com a sua condição, abrange todos os cuidados, desde uma pele muito jovem a uma pele bastante envelhecida. A maioria das linhas disponibiliza também produtos para problemas mais específicos (ex.: dermatite atópica, rosácea ou manchas), e algumas ainda contemplam o cuidado das mãos e pés.

Tive oportunidade de aconselhar utentes que nos procuraram para resolver problemas de origem estética. No que diz respeito aos cuidados do rosto, nomeadamente, limpeza e hidratação, acne, e envelhecimento, as linhas mais requisitadas são a Avène® e La Roche Posay®. Para cuidados de corpo, normalmente problemas relacionados com peles atópicas, desidratadas, com eczemas são aconselhadas linhas como Uriage®, Avène®, A’Derma®. Outros problemas comuns são a queda de cabelo, caspa, seborreia ou a procura de um champô de uso frequente adequado ao tipo de cabelo do utente. Relativamente à higiene oral, observa-se uma procura de pastas dentífricas medicinais (Elgydium®, Bexident®) e colutórios. Para melhor compreender as linhas de cosmética, participei em várias formações e cursos.

8.2. Produtos Dietéticos para Alimentação Especial

Segundo o Decreto de lei nº 227/91 de 19 de Junho, consideram-se produtos dietéticos os produtos de natureza alimentar que se destinam a complementar, ou mesmo a substituir parcialmente os alimentos habituais, ou a satisfazer necessidades nutritivas especiais de pessoas em que os processos naturais de assimilação ou metabolismo estejam perturbados. ^[25]

Os produtos dietéticos abrangem todas as faixas etárias desde os bebés, crianças, adultos e idosos e incluem regimes alimentares hipo ou hipercalóricos, proteicos e glucídicos. Podem conter suplementos de determinadas substâncias e estarem isentos de outras, consoante o fim a que se destinam. Estes produtos incluem uma grande diversidade de géneros alimentícios nomeadamente, géneros alimentícios destinados ao controlo do peso, alimentos para os desportistas, alimentos destinados a diabéticos, alimentos dietéticos com fins medicinais específicos, alimentos e leites para bebé.

Segundo o decreto nestes produtos estão incluídos:

Produtos dietéticos para lactentes e crianças:

- Produtos sem lactose;
- Farinhas lácteas com/sem glúten;
- Leites dietéticos para lactentes;
- Leites ou fórmulas de transição e outros alimentos de complemento;

Produtos dietéticos para adultos:

- Produtos complementares de regimes hipocalóricos, em diversas formas farmacêuticas (chás, edulcorantes, etc.)
- Produtos dietéticos destinados a fins medicinais específicos;
- Alimentos sem glúten;
- Alimentos adaptados a esforços musculares intensos, sobretudo para os desportistas;
- Alimentos destinados a pessoas que sofrem de perturbações do metabolismo dos glúcidos (diabéticos)

Na Farmácia Reis o utente encontra produtos destinados para a perda de peso corporal como por exemplo o XL-S medical®, Bio Activo Slim Duo®, Alli®; produtos destinados a pessoas em condições fisiológicas especiais como o Redrate® (usado na re-hidratação, em casos de diarreia e vómitos), o Fortimel® (suplemento hiperproteico sem lactose).

8.3. Produtos Dietéticos Infantis

Durante os primeiros meses de vida, o leite materno é o alimento de eleição. Além de fonte de nutrientes, é fonte de compostos que reforçam o sistema imunitário, protegendo contra agressões exteriores, como alergias e infecções. Mas nem sempre é possível amamentar, quer porque a mãe não tem possibilidade de o fazer, quer porque o leite não é suficiente para as necessidades nutricionais do bebé. Nestes casos, há que recorrer a alternativas para alimentar o bebé que são os leites e fórmulas infantis, cujas características se aproximam às do leite materno.^[26] Porque o leite materno não é sempre igual ao longo do período de amamentação, os leites infantis têm composições diferentes ao longo das diferentes etapas de crescimento:

- **Leite para lactentes:** Desde o nascimento até aos 4/6 meses, têm uma composição próxima do leite materno;
- **Leite de transição:** Dos 4 aos 12 meses, são mais ricos em ferro, vitaminas e têm maltodextrina ou amido para aumentar a saciedade;
- **Leite de crescimento:** Dos 12 meses aos 3 anos, têm um sabor mais agradável e são mais saciantes.

Na composição dos leites entram proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas e sais minerais. Na maioria das fórmulas actuais entram outros elementos que os aproximam mais do leite materno:

- ✓ Ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (LCPUFAs) - para o neurodesenvolvimento;
- ✓ Ácido araquidónico (AA ou Ómega 6);
- ✓ Ácido docosahexanóico (DHA ou Ómega 3);
- ✓ Nucleótidos - para a resposta imunitária;
- ✓ Pré e probióticos - para constituição da flora intestinal e defesas.

Estes são constituídos por de lactose e em menor quantidade maltodextrinas de assimilação lenta, garantem a satisfação entre biberões, sem que haja indisposições.

O leite de vaca não é recomendável antes dos 12 meses. Este leite tem maior teor proteico e 20 vezes menos ferro do que o leite materno, assim como menos vitaminas. Nesta fase, o leite de vaca pode causar sobrecarga renal.

Situações especiais: O leite de vaca é a fonte de proteínas de leites para lactentes e de transição, que sofrem alterações consoante certas indicações particulares, as grandes desvantagens destes leites são o mau sabor e o baixo poder saciante.

- **Leites Hipoalergénicos:** As proteínas do leite de vaca têm peso molecular elevado e, por isso, são hidrolisadas de modo a reduzir o risco de alergia. Dentro destes existem os parcialmente hidrolisados, para situações de prevenção de possível alergia. Não estão indicados quando há alergia declarada às proteínas do leite de vaca e os extensamente hidrolisados: Quando está diagnosticada a alergia (Leite com fins medicinais específicos).
- **Leites Anti-obstipantes:** A fórmula do leite facilita o esvaziamento gástrico, estimula a motilidade intestinal e o amolecimento das fezes. São constituídos em maior percentagem por lactose, que aumenta a osmolaridade e o teor de água nas fezes. São ricos em cálcio, fósforo e magnésio, iões fundamentais para a motilidade gástrica.
- **Leites Anti-cólicas:** Possuem um teor de lactose reduzido para minimizar a formação de gases causadores de cólicas. Constituídos na maioria por 1/3 de lactose e 2/3 de maltodextrinas, evitam o excesso de lactose no cólon que é responsável pela fermentação e formação de gases que originam as cólicas. Estão indicados em lactentes com insuficiência parcial de lactase, a enzima responsável pela digestão da lactose.
- **Leites Saciantes:** A fórmula rica em amido de milho, maltodextrinas, triglicéridos de cadeia longa e açúcares de absorção lenta (80% caseína, 20% seroproteína), proporciona uma absorção e digestão mais lentas para dar sensação de estômago cheio. Estes açúcares de assimilação lenta evitam hipoglicémias que provocam sensação de fome no bebé.
- **Leites Anti-desconforto digestivo:** As proteínas são parcialmente hidrolisadas para facilitar a digestão, o teor de lactose é reduzido e substituído por maltodextrinas para menor fermentação e maior viscosidade e menor ingestão de ar e são adicionados prebióticos para favorecer a flora intestinal. São indicados para bebés com imaturidade digestiva com sintomas de gases, cólicas e obstipação.

Em certas situações específicas e diagnosticadas pelo médico pediatra é necessário recorrer a leites medicinais específicos, de venda exclusiva em farmácias:

- **Leites de Soja:** São indicadas nos casos de intolerância ou alergia às proteínas do leite de vaca, quando há alergia aos leites extensamente hidrolisados;
- **Leites sem Lactose:** Nos casos em que há falta da lactase, enzima que metaboliza a lactose e após diarreias e gastroenterites agudas;
- **Leites Anti-regurgitantes:** Quando o refluxo gastroesofágico (bolsar) em excesso leva a uma perda excessiva de nutrientes. Estes leites são mais espessos tornando o conteúdo gástrico mais viscoso. Este espessamento do estômago é devido à sua constituição em amido de milho pré-gelatinizado que precipita a pH ácido; os triglicéridos de cadeia média facilitam o esvaziamento gástrico. ^[26]

Note-se que é muito importante que o farmacêutico alerte para os benefícios do leite materno, apresentado as vantagens deste alimento de uma forma simples e acessível, mas concreta, principalmente nos primeiros seis meses de vida do bebé, até mesmo porque o

simples acto de amamentar promove um vínculo afectivo entre a mãe e o filho. Nas características do leite materno, realçam-se o teor adequado dos nutrientes- proteínas, lípidos, glúcidos, vitaminas e sais minerais; a boa biodisponibilidade dos mesmos, garantindo uma mais fácil digestão e absorção; o adequado teor de anticorpos/imunoglobulinas (Ig A) que reforçam as defesas naturais do bebé contra infecções e diarreias; o ajustado teor de oligossacáridos com acção pré-biótica (que promovem o desenvolvimento da flora bifidogénica - saudável); e o facto de estar disponível e à temperatura ideal, dispensando qualquer tipo de manipulação. Assim, é de fácil reconhecimento que o leite materno deverá ser sempre privilegiado, como primeira opção na alimentação infantil, exceptuando situações muito específicas de patologia da mãe ou do bebé. Tem que se mostrar à mãe que este alimento proporciona ao bebé, de uma forma equilibrada, todos os nutrientes que ele precisa para um crescimento normal e harmonioso. O aleitamento materno deve manter-se como o seu único suporte alimentar durante os primeiros 4 a 6 meses de vida (até à alimentação diversificada) e prolongar-se como principal base líquida da sua alimentação enquanto a mãe puder amamentar.^[26] Na Farmácia Reis estão disponíveis vários tipos de leites, tais como leites para alimentação normal, anti-obstipantes, anti-cólicas, saciantes, anti-regurgitantes e hipoalergénicos, diferindo entre eles a sua constituição.

8.4. Fitoterapia e Suplementos Nutricionais (nutracêuticos)

Actualmente é cada vez maior não só a procura mas também a necessidade de recorrer a Medicamentos Homeopáticos e Fitoterapêuticos, uma vez que este tipo de medicamentos surge como uma alternativa à terapia convencional.

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 Agosto “medicamento homeopático é definido como: *“medicamento obtido a partir de substâncias designadas stocks, ou matérias-primas homeopáticas, de acordo com um processo de fabrico descrito na farmacopeia europeia ou, em sua falta, numa farmacopeia utilizada de modo oficial num Estado membro, e que pode conter vários princípios”*.^[15] De acordo com os conceitos homeopáticos as substâncias que conseguem causar no organismo uma série de sintomas semelhantes aos provocados por certa patologia estão aptas a exercer uma acção terapêutica. Na Farmácia Reis os medicamentos homeopáticos mais dispensados são os da marca Boiron, como o xarope Stodal®, para a tosse seca, o Coryzalia® utilizado no tratamento de constipações, rinites, corizas, febre dos fenos e o OSCILLOCOCCINUM® para estados gripais.

Relativamente aos produtos Fitoterapêuticos, o mesmo Decreto de lei define que um medicamento a base de plantas é: *“qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substâncias activas uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas em associação com uma ou mais preparações à base de plantas;”* a procura por estes produtos tem vindo a ser cada vez

mais significativa, sendo hoje uma área de interesse redobrado. São uma classe que tira partido das propriedades curativas e preventivas das plantas, indicados para quase todo o tipo de patologias.^[15] A farmácia Reis coloca ao dispor dos seus utentes estes produtos, na sua maioria na forma de chás e cápsulas. No que diz respeito aos produtos naturais, incidi a minha preferência pelas Arkocapsulas. Eram várias as pessoas que recorriam a este tipo de produtos. Normalmente eram pessoas na fase inicial de uma determinada patologia que ainda não viam necessidade de ser medicadas de outra forma. Lembro-me de aconselhar Arkocapsulas da gama amarela (destinada a problemas urinários) a clientes com os primeiros sintomas de infecção urinária, nomeadamente Uva-ursina e Urze (anti-sépticos urinários que actuam sobre os colibacilos, e anti-inflamatórios) devido à sua acção de limpeza, desinfecção e anti-inflamatória, aconselhando igualmente a ingestão de grandes quantidades de água para melhorar o efeito. Na dispensa deste tipo de medicamentos tive o cuidado de indicar o produto mais adequado a cada situação, preferencialmente numa fase inicial do problema, promovendo o seu uso racional uma vez que estes produtos não são isentos de efeitos secundários, interações e contra-indicações. Referi também a importância das medidas não farmacológicas que, em conjunto, contribuirão para a resolução do problema.

8.5. Medicamentos de Uso Veterinário

O Decreto-Lei n.º 184/97 de 26 de Julho define produto de uso veterinário: *"toda a preparação farmacêutica constituída por uma substância ou mistura de substâncias, apresentando uma dosagem determinada, e que se destina a ser aplicada nos animais, para prevenção ou tratamento de doenças e dos seus sintomas, na correcção ou modificação das funções orgânicas quando administrado de forma adequada."*^[27]

Estando a Farmácia Reis situada numa zona urbana a maior parte das solicitações destinam a animais domésticos (cães e gatos maioritariamente). Os produtos de dispensa encontram-se num dos lineares atrás do balcão à vista dos utentes mas fora do seu alcance. Sendo os mais vendidos os anti-parasitários, as pílulas contraceptivas e os produtos de higiene. Os anti-parasitários já são comercializados em pipetas com concentrações definidas para diferentes classes de animais e diferentes pesos (Frontline Combo® e Advantix®).

8.6. Dispositivos Médicos

Segundo o Decreto de lei n° 273/95 de 23 de Outubro *"entende-se por dispositivo médico "qualquer instrumento, aparelho, equipamento, material ou artigo utilizado isoladamente ou combinado, incluindo os suportes lógicos necessários para o seu bom funcionamento, destinado pelo fabricante para ser usado no corpo humano para fins de Diagnóstico, prevenção, monitorização, tratamento ou atenuação de uma doença; diagnóstico, monitorização, tratamento ou atenuação ou compensação de uma lesão ou deficiência;*

investigação, substituição ou modificação da anatomia ou de um processo fisiológico; controlo da concepção; e cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por estes meios". ^[28] Os dispositivos médicos dividem-se em quatro classes (tabela 5).

Tabela 5. Classes de risco dos dispositivos médicos. ^[29]

Classe I	Baixo Risco	Sacos colectores de urina, colares cervicais, meias de compressão, pulsos elásticos, ligaduras.
Classe IIa	Médio Baixo	Compressas de gaze hidrófilas, adesivos oculares, lancetas, agulhas para seringas, lentes de contacto.
Classe IIb	Médio Alto	Canetas de insulina, diafragmas, soluções de conforto ocular, preservativos.
Classe III	Alto Risco	Preservativos com espermicida, pensos medicamentosos, DIU que não libertam Progestagénios.

Esta classificação é atribuída pelo seu fabricante, que considera factores como a finalidade do dispositivo, os potenciais riscos inerentes à utilização do dispositivo, os possíveis incidentes relacionados com as características e/ou funcionamento do dispositivo, a duração de contacto com o corpo humano e a invisibilidade do corpo. A Farmácia Reis dispõe de muitos destes dispositivos, dispersos por zonas bem definidas de acordo com critérios de funcionalidade. São requisitados com frequência: seringas, compressas de gaze, adesivos, pensos e ligaduras de diferentes tamanhos, preservativos, testes de gravidez, termómetros, meias de compressão, pés e pulsos elásticos e dispositivos usados no auxílio das tarefas diárias de idosos.

8.7. Produtos de Puericultura

A opinião e aconselhamento do farmacêutico são frequentemente solicitados quando se trata desta área. As marcas presentes na Farmácia Reis são a Chicco®, Nuk®, Mustela®, Klorane Kids®, A'Derma® e Avène®, que oferecem um conjunto de produtos que se destinam ao bem-estar do bebé e da mamã, como biberões, chupetas, tetinas, discos de amamentação, produtos para higiene do bebé, entre outros. Estes produtos encontram-se em lineares ao alcance dos utentes na zona de atendimento.

8.8. Suplementos Alimentares

Os suplementos alimentares mais requisitados na farmácia são os multivitamínicos (Centrum®) e os suplementos indicados para a fadiga física e intelectual.

IX. Conclusão

Após a conclusão do estágio, posso constatar que este se revelou uma experiência muito gratificante, quer a nível social e pessoal quer a nível profissional. O estágio na Farmácia Reis revelou-me uma parte da profissão até então desconhecida para mim. Destaco do estágio, o contacto com o público e suas necessidades de informação. Posso afirmar que o contacto com o público foi a faceta mais gratificante do meu estágio e que me fez apaixonar pela futura profissão que escolhi. Também tenho que referir, que a equipa que fui encontrar na Farmácia Reis e com a sua ajuda consegui ultrapassar receios, inseguranças, dúvidas, atitudes e ganhar experiência em áreas até aqui inexistentes na minha vida.

O estágio em Farmácia de Oficina mostrou-me uma forma diferente de ser Farmacêutica. No meu entender, o farmacêutico é um profissional eminentemente social, cuja proximidade das populações traz vantagens para a Saúde Pública. Assim, é de destacar o nosso papel, como profissional e ser humano, pois sendo o farmacêutico o profissional de saúde de contacto mais directo com o utente, o seu papel é muito importante: na informação quanto aos aspectos inerentes ao uso de medicamentos (prevenção e resolução de problemas relacionados com os medicamentos); como dinamizador de programas de intervenção comunitária; na realização de determinados testes bioquímicos e fisiológicos; na promoção da educação para a saúde, entre outras funções. O doente deve ser sempre o centro da nossa actividade, sendo, portanto, o compromisso Farmacêutico para com o doente uma realidade irrefutável. Durante o estágio deparei-me com a realidade profissional que é bastante diferente de tudo o que nos é ensinado na faculdade e percebi que temos de adquirir diferentes posturas dependendo de cada utente. De notar, que é à Farmácia, que o utente se dirige muitas vezes em primeiro lugar, e que o farmacêutico é o último profissional de saúde a contactar com o doente após a ida ao médico, pelo que o farmacêutico apresenta um papel de grande importância na sociedade, e pelo qual a classe deve sempre lutar. Recordo também, a população idosa, percentagem significativa dos nossos utentes, para os quais deve haver uma especial compreensão e conforto. Após estes dois meses e meio de estágio constatei que a minha formação está longe de estar acabada, mas está sim no início de um longo percurso. Encaro este estágio como o primeiro e agradável passo no exercício da minha profissão, que espero seja sempre gratificante, realizadora das minhas aspirações, e desejo que a minha adoração e dedicação pela profissão se mantenha, aprofunde e consolide.

Termino assim esta etapa da minha vida com a certeza que cada dia que passa é mais um no meu crescimento, tanto a nível profissional como pessoal, convicta que é esta digna profissão que desejo gratificante, realizadora das minhas aspirações profissionais, actividade fundamental para o tipo de vida que pretendo.

X. Bibliografia Capítulo 1

1. Conselho Nacional da Qualidade Ordem dos Farmacêuticos; *Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF)*. 3ª Edição, 2009.
2. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED). *Regime jurídico das farmácias de oficina*. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de Agosto.
3. *Apontamentos da Cadeira Gestão e Organização Farmacêutica*. Curso Ciências Farmacêuticas 4º ano, Universidade da Beira Interior. Ano de 2011.
4. *Apontamentos da Cadeira de Farmácia Galénica*. Curso Ciências Farmacêuticas 4º ano, Universidade da Beira Interior. Ano de 2011.
5. *Ordem dos farmacêuticos. A profissão Farmacêutica*. [Online] [Citação: 27 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.ordemfarmaceuticos.pt/>
6. *The Seventh Report of the Joint National Committee. Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure*. NIH Publication, 2004. [Online] [Citação: 27 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/hypertension/>
7. Barbara G.; Joseph T.; Terry L.; Cecily V. *Pharmacotherapy Handbook*. 7ª edição, 2009, pp. 98- 103; 111-13; 210-12; 663-65.
8. *Apontamentos da Cadeira de Prevenção e Terapêutica* . Curso Ciências Farmacêuticas 4º ano, Universidade da Beira Interior. Ano de 2011.
9. Nathan D. M.; Buse J. B.; Davidson M. B.; Ferrannini E.; Holman R. R.; Sherwin R.; Zinman B. *Medical management of hyperglycaemia in type 2 diabetes mellitus: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy*. *Clinical Diabetes* 2008; 27 (1): 4-16.
10. *Diário da República. Despacho n.º 12 566-A/2003 (2.a série)*. [Online] [Citação: 27 de Maio de 2012]. Disponível em: http://www.adse.pt/document/Desp12-566B-2003_30-06.pdf
11. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED). *Normas relativas à normalização e harmonização dos preços de venda ao público dos meios auxiliares de diagnóstico destinados aos diabéticos*. Portaria n.º 509-B/2003, de 30 de Junho. 2003.
12. VALORMED. [Online] [Citação: 28 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/>
13. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED). [Online] [Citação: 28 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/>
14. Assistência Médica Internacional (AMI). *Reciclagem de Radiografias*. [Online] [Citação: 28 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.ami.org.pt>
15. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED). *Estatuto do Medicamento*. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto. 2006.
16. *Diário da República*. Portaria n.º 1501/2002 de 12 de Dezembro. [Online] [Citação: 26 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.dre.pt/>.
17. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P (INFARMED). *Classificação quanto à dispensa ao público*. Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto. [Online] [Citação: 26 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/>

18. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Normas Relativas à Prescrição de Medicamentos e aos Locais de Prescrição, Farmácias e Administrações Regionais de Saúde.* [Online] [Citação: 26 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/portal/>
19. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Classificação de medicamentos quanto à dispensa ao público.* Decreto-Lei n.º 209/94, de 6 de Agosto. 2006.
20. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Lista das situações de automedicação.* Despacho n.º 17690/2007, de 23 de Julho. 2007.
21. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Regime da venda de medicamentos não sujeitos a receita médica fora das farmácias.* Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de Agosto. 2005.
22. **Diário da República.** *Lei n.º 11/2012 8 de Março de 2012.* [Online] [Citação: 26 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://dre.pt/>
23. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Regime jurídico do tráfico e consumo de estupefacientes e psicotrópicos.* Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de Janeiro. [Online] [Citação: 26 de Maio de 2012]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/>
24. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Regime jurídico dos produtos cosméticos e de higiene corporal.* Decreto-Lei n.º 189/2008, de 24 de Setembro. 2008.
25. **Diário da República.** *Decreto-Lei n.º 227/99 de 22 de Junho.* 1999. [Online] [Citação: 1 de Junho de 2012]. Disponível em: <http://dre.pt/>
26. **Alimentação do bebé.** [Online] [Citação: 2 de Junho de 2012]. Disponível em: <http://farmaceutico.planetaclix.pt/>
27. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Regime jurídico dos medicamentos de uso veterinário farmacológicos.* Decreto-Lei n.º 184/97, de 26 de Julho. 1997.
28. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Regras a que devem obedecer o fabrico, a comercialização e a entrada em serviço dos dispositivos médicos e respectivos acessórios.* Decreto-Lei n.º 273/95, de 23 de Outubro. 1995.
29. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED).** *Classe de Dispositivos Médicos.* [Online] [Citação: 2 de Junho de 2012] disponível em: <http://www.infarmed.pt/>

Capítulo 2

Análise, Caracterização e Estudo da Toxicidade de um Hidrogel Depilatório com Tioglicolato de Cálcio

I. Introdução

1. Depilatórios

Desde as civilizações mais antigas, por motivos religiosos, sociais, como propósito de castigo ou para melhoria da apresentação pessoal, homens e mulheres praticam a remoção dos pêlos e cabelos de vários modos, ou a inibição do seu crescimento. Tratados históricos e religiosos, fazem menção de costumes e leis que decretavam a remoção do cabelo. Os primeiros registos datam de 4000 a 3000 anos antes de Cristo, quando surgiu a forma primitiva de um creme depilatório preparado à base de trissulfureto de arsénio, cal virgem e amido. Trata-se do clássico depilatório *Rhusma Turcorum*, usado durante muitos anos nos haréns orientais. ^[1,2]

Os depilatórios são produtos de uso cosmético. Entende-se como produto cosmético qualquer substância ou mistura destinada a ser colocada 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. ^[3]

Para depilação adequada o uso dos depilatórios geralmente requer tempos de aplicação de pelo menos 15 minutos, e muitas vezes até 20 ou 30 minutos. Juntamente com a remoção do cabelo adequada, a composição deve exibir pouca ou nenhuma irritação da pele. As composições depilatórias estão geralmente disponíveis na forma de pomadas, cremes, etc. Estes produtos também podem ser utilizados para a remoção de pêlos faciais. ^[4]

A depilação compreende os métodos que eliminam o pêlo de forma não permanente, arrancando ou cortando os pêlos indesejáveis, estes métodos podem subdividir-se em: depilação química, depilação física e depilação eléctrica. ^[5]

Uma vez que com este trabalho pretende-se caracterização e avaliação da toxicidade de um hidrogel depilatório com tioglicolato de cálcio, focar-se-á esta introdução unicamente nos agentes depilatório químicos.

1.1. Depilatórios Químicos

Neste tipo de depilação, utilizam-se cosméticos especiais, usando uma base de creme, pasta ou líquido, que incluem na sua composição substâncias que vão destruir o pêlo. A dificuldade reside em encontrar substâncias que dissolvam a queratina dos pêlos e não actuem sobre as células córneas da própria pele. Durante muito tempo foram utilizados os sulfuretos metálicos

(de sódio, bário, cálcio, estrôncio, etc.), contudo desprendiam mau cheiro quando aplicados na pele e em contacto com a água (libertação de ácido sulfídrico), e provocavam irritação devido a sua alcalinidade. ^[6]

Devido a desvantagens dos sulfuretos, as formulações de depilatórios passaram a conter tioácidos alifáticos ou os seus sais com uma base alcalina de modo a proporcionar um intervalo de pH de 10-12,5 essencial para a sua acção. ^[1,7]

O ingrediente activo destes depilatórios é um queratolítico, substância que dissolve a queratina. As substâncias mais utilizadas actualmente são os tioglicolatos, particularmente o tioglicolato de cálcio e tioglicolato de amónio. ^[1,8]

Estas preparações possuem um cheiro menos desagradável do que as preparações com sulfuretos, mas necessitam de mais tempo para actuar, por vezes envolvendo períodos de espera de 30 minutos ou mais. Contudo são mais seguras que os sulfuretos e por isso podem-se usar na cara ou numa zona onde o pêlo supérfluo pode causar alguma insatisfação. ^[5]

No geral, os produtos depilatórios são usados para “amaciar os pêlos do corpo”, de modo a que possam ser facilmente removidos por lavagem, após um curto período de tempo posterior a sua aplicação. Devem ser tão cosmeticamente elegantes quanto possível e não devem ser tóxicos nem irritantes para a pele. Devem ainda ser de fácil aplicação e económicos. No geral, convertem o pêlo numa massa macia em 2 a 5 minutos. O principal problema com estes produtos recai com a composição do cabelo e da pele, dado que ambos são formados por queratina. Assim, ambos estão sujeitos ao mesmo grau de ataque por parte dos produtos químicos, visto que a queratina é rica em pontes de enxofre que ligam as cadeias polipeptídicas dando à fibra capilar estabilidade e flexibilidade. O objectivo de um produto depilatório é quebrar as ligações enxofre-enxofre, por redução química, apenas na estrutura do cabelo para posteriormente estes se fragmentarem. ^[8,9]

Sem dúvida que o principal obstáculo para a aceitação perfeita dos depilatórios químicos surge devido à semelhança estrutural proteica das formações cutâneas e do pêlo, pelo que em grau quase equivalente, poderá afectar as duas estruturas. Dados quantitativos sobre quantidade de aminoácidos nestas duas estruturas indicam percentagens diferentes segundo a origem da queratina (da cutícula ou do córtex) e de outros factores como a raça. No entanto, para se entender melhor a acção dos depilatórios, considera-se dois componentes de queratina capilar: uma parte macromolecular pobre em resíduos sulfurados, disposta em espiral (α - queratina) responsável pela elasticidade e uma parte micromolecular com elevada percentagem de resíduos sulfurados e configuração planar (β - queratina) com propriedades de resistência ao estriamento. A coesão da queratina fica assegurada pelas próprias ligações peptídicas, por pontes de enxofre (S-S) derivadas da cistina, por pontes de hidrogénio

estabelecidas entre os grupos polipeptídicos das cadeias vizinhas, por pontes salinas entre péptidos adjacentes e também por forças de *Van der Waals*, (figura 2). [1]

A cistina é um aminoácido particularmente rico em enxofre presente em percentagens aproximadamente de 17% na queratina humana e encontra-se ligada a outros aminoácidos sem enxofre. Estes encontram-se ligados a cistina e o tipo e a configuração parece influenciar o grau de protecção ou vulnerabilidade das ligações S-S perante o ataque de agentes químicos. A quebra destas ligações provoca a deformação temporária ou definitiva da estrutura proteica. Este é o mecanismo de acção das preparações cosméticas para cabelos e depilatórios. [1]

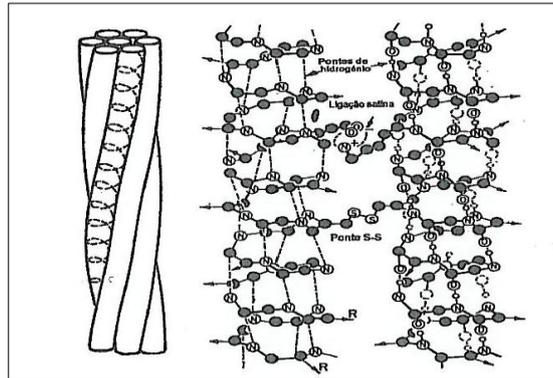


Figura 2. Estrutura dos Filamentos de Queratina. [1]

2. Estrutura da Pele

A pele e as mucosas representam a interface do organismo com o ambiente externo. Graças à sua resistência física e à constituição química da camada córnea que a reveste, a pele protege o organismo contra agentes físicos e químicos, assim como contra invasão de organismos patogénicos. [10]

Este órgão é formado por três camadas: epiderme, derme e hipoderme, da mais externa para a mais interna, respectivamente (figura 3). [11]

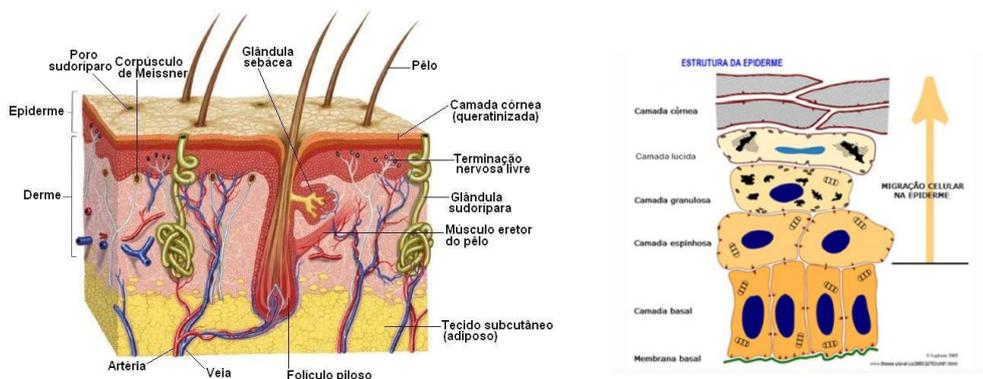


Figura 3. Ilustração representativa das camadas da pele e da estrutura da epiderme. [12] [13]

Epiderme:

Dá origem aos anexos cutâneos: unhas, pêlos, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas. A abertura dos folículos pilossebáceos (pêlo e glândula sebácea) e das glândulas sudoríparas na pele formam os orifícios conhecidos como poros (figura 3).^[14] As células da epiderme não são todas iguais: a camada mais externa é o estrato ou camada córnea (EC). Mais abaixo encontra-se a camada granulosa, espinhosa e basal. As diferentes camadas mostram as fases pelas quais passam as células, que, produzidas nos estratos mais profundos, sofrem processo de cornificação à medida que atingem os estratos mais superficiais.^[11]

A superfície externa é recoberta por epiderme, camada estratificada composta essencialmente de queratinócitos. A camada basal de queratinócitos repousa sobre uma membrana basal e é conhecida como a camada germinativa, cujas células se dividem garantindo a renovação da epiderme. À medida que as células se separam da membrana basal e avançam para a superfície aumentam os filamentos de queratina, incrementando assim a sua resistência mecânica. O EC é a camada mais superficial, composta de células mortas, secas, alongadas, chamadas de corneócitos, que são o produto final da diferenciação das células produzidas na epiderme viável. Com uma espessura de até 15 µm, este é a principal barreira física à entrada da maioria das substâncias na pele e à perda de água, embora seja levemente permeável a esta. A queratina depositada nos corneócitos confere resistência química e física ao tecido.^[11] Além dos queratinócitos, junto à membrana basal encontram-se os melanócitos, as células responsáveis pela cor da pele. Os melanócitos sintetizam o pigmento natural da pele, a melanina, que é progressivamente transferida aos queratinócitos.^[10]

Derme:

Contém uma densa malha de fibras de colagénio e elastina, produzidas por células específicas, os fibroblastos cutâneos. Essas células participam também na regeneração da pele. A membrana basal que separa a epiderme da derme é produzida por ambas as camadas, e contém as moléculas de adesão e as fibrilas perpendiculares que penetram profundamente na derme, garantido a continuidade física entre as duas camadas. Esta camada contém os vasos sanguíneos e linfáticos que a irrigam e garantem a nutrição da pele, assim como os nervos, que informam o organismo sobre a sua interação com o ambiente. Dentro da derme encontram-se também as estruturas que são derivadas da epiderme, como pêlos, glândulas sudoríparas e sebáceas.^[10]

Hipoderme:

Por baixo da derme encontra-se a hipoderme, a camada frouxa de tecido conjuntivo que une a pele aos órgãos subjacentes. Ela permite, por exemplo, que a pele deslize sobre os músculos.^[10]

2.1. Ciclo de Crescimento do Pêlo

Os pêlos são células mortas (células queratinizadas) dispostas de forma compacta e crescendo fora de tubos epidérmicos, ou folículos pilosos. A zona de queratinização estende-se ao longo da parte inferior do cabelo e de duas bainhas de suporte, as bainhas de raiz interior e exterior. A bainha interna da raiz está interligada com as células da cutícula do cabelo e cresce para a superfície com o cabelo, deslizando contra a bainha externa da raiz que é estacionária. Acima do nível da glândula sebácea, a bainha exterior da raiz torna-se idêntica em estrutura a superfície da epiderme (figura 4).^[15]

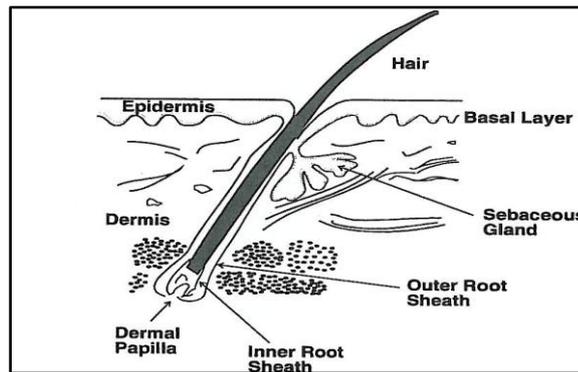


Figura 4. Imagem representativa de um pêlo dentro do folículo piloso.^[15]

Os pêlos têm uma actividade cíclica definida, conhecida como o ciclo de crescimento. A produção destes origina-se na parte inferior do folículo, que exibe uma actividade periódica dando origem ao ciclo do cabelo. A actividade do folículo pode ser classificada como "activa", durante o qual ocorre o crescimento, ou "passiva" quando o crescimento é estático.^[15]

A taxa de crescimento do cabelo varia de 0,6 a 1,4 cm/mês, dependendo do tipo de cabelo e zona anatómica. Este ciclo ocorre em três fases: anágena (activa), catágena (transição) e telógena (repouso) (figura 5).^[16]

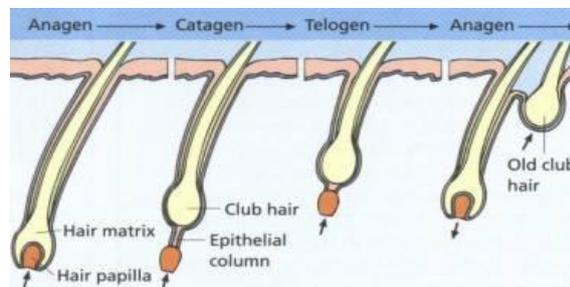


Figura 5. Fases do ciclo de crescimento do pêlo.^[17]

O crescimento inicial do cabelo no seu folículo é activado por hormonas naturais ou estímulos físicos.^[15] A fase anágena ocorre em média entre 4 a 8 anos, após a qual o folículo entra na

fase catágena, um período de transição curto de poucas semanas, em que ocorre paragem da divisão celular e o folículo começa a degenerar-se. Por último, ocorre a fase telógena um período de descanso que pode durar até 6 meses, e no qual o cabelo pára completamente de crescer. ^[16]

3. Tioglicolato de Cálcio

3.1. Usos

O uso de tioglicolato em depilatórios precede de investigações realizadas por Turley e Winders.^[18] Em 1940, cosméticos com esta molécula foram patenteados para uso humano. Estes permaneceram como os agentes depilatórios mais económicos e efectivos usados até aos dias de hoje. ^[19]

Os agentes redutores, que são capazes de quebrar as pontes S-S da queratina do cabelo, são bem conhecidos no campo da ondulação e alisamento do cabelo e em produtos depilatórios. Os materiais típicos para este uso são os mercaptanos. ^[20]

Segundo a Portaria n.º 1281/97, de 31 de Dezembro ^[21], o ácido tioglicólico e os seus sais encontram-se na lista de substâncias que requerem restrições e condições específicas para uso em produtos cosméticos e de higiene corporal. A quantidade máxima autorizada no produto acabado em depilatórios é de 5 a 6% de ácido tioglicólico no produto pronto a usar.

Nas preparações deste tipo tem que se atender cuidadosamente a determinados aspectos que incluem a concentração de tioglicolato, a alcalinidade e a própria composição do excipiente. Para concentrações inferiores a 2%, o tempo necessário para a depilação torna-se longo, e para contrariar este inconveniente, é aumentada a alcalinidade da formulação. Contudo esta alcalinidade aumenta o risco de irritação da pele. Para as concentrações de tioglicolato usuais (5%), os níveis de alcalinidade devem estar compreendidos em valores de pH 10-12,5, sabendo que fora deste limite compromete-se as formulações no que respeita ao poder irritante e tempo de actuação. Para a obtenção da alcalinidade necessária, é comum o uso de hidróxidos alcalinos e alcalino-terrosos. No geral, utilizam-se bases com constantes de ionização maiores que $2,0 \times 10^{-5}$. Na prática é usado um excesso de base em relação ao ácido tioglicólico, mas nunca deve atingir o equivalente ao dobro da concentração. ^[1]

3.2. Propriedades Físico-Químicas

- Sinónimos: Mercaptoacetato de cálcio.

- **Família:** Tióis. Um tiol é um composto organossulfurado que contém um grupo -SH. Também pode ser designado por grupo tiol, grupo mercaptano ou grupo sulfidrilo, ligado a um átomo de carbono (-C-SH ou R-SH, onde R representa um alceno, alceno, ou outro grupo de átomos contendo carbono).

- **Fórmula:** $(S-CH_2-COO)^{2-} Ca^{2+}$, representada na figura 6.

- **Descrição:** pó branco; trihidratado, cristais prismáticos, inodoro ou fraco odor mercaptano, um pouco adstringente. O tioglicolato de Cálcio (trihidratado) está disponível para comercialização numa quantidade de pureza variando entre 98% a 99%.
[22]

- **Aparência:** Pó fino branco e cristalino.

- **Solubilidade:** Água (70 g/L a 25 °C); Etanol (0.15 g/L a 25 °C).

- **Estabilidade:**

Esta varia na presença de vários factores:

- Temperatura: decomposição térmica acima do ponto de fusão (280 °C-290 °C); a 220 °C descoloração; a temperatura superior a 90 °C perda de água (trihidratado).

- Ar: Sensível a oxidação; as soluções em contacto com CO₂ presente no ar originam a formação de um precipitado de carbonato de cálcio.

- Metais: Vestígios de Fe, Cu, Mn podem levar a uma oxidação mais rápida.

- **Valor de pH:** 11-12 (10 g/L em H₂O a 20 °C).

- **Massa molecular:** 184.23 g/mol. [23]

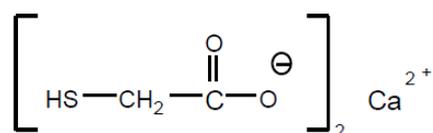


Figura 6. Fórmula do Tioglicolato de Cálcio. [22]

3.3. Mecanismo de Acção

Os agentes redutores levam a que as pontes S-S da queratina possam ser quebradas por redução simples, análoga a que ocorre na transformação da cistina em cisteína (figura 7).

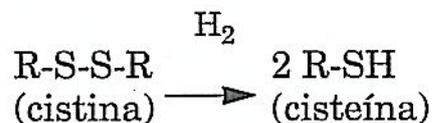


Figura 7. Transformação da cistina em cisteína. [1]

A composição de queratina no cabelo e na pele é de 15 e 2% respectivamente. Os tioglicolatos preferencialmente hidrolisam a queratina do cabelo em vez da queratina da pele. Estes sais atacam a porção do cabelo mais recentemente formada, que é a parte mais perto da superfície da pele. Actuam por ruptura das ligações dissulfureto presentes na queratina. [2]

Uma vez quebradas essas ligações, o cabelo absorve água pelo que vai intumescer e perder a sua força, tornando-se mais macio o que permite que seja facilmente removido. Por existir oito vezes mais queratina no cabelo do que na pele, os cremes depilatórios atacam preferencialmente a queratina do cabelo em vez da queratina da pele, assim num produto devidamente formulado, o cabelo pode ser removido sem afectar a pele circundante. [19]

A redução da queratina pode ser conseguida com tióis alifáticos, sulfitos, bissulfitos ou cianetos em meio neutro ou alcalino. Os tióis alifáticos primários, secundários e terciários aceleram a depilação em meio alcalino. Os tióis alicíclicos, sulfitos e tiosulfatos demonstram menor actividade do que os seus correspondentes alifáticos. Os tióis aromáticos são inactivos. [15]

3.4. Toxicidade

Segundo a ficha de dados de segurança do produto fornecida pela MERCK e de acordo com o Regulamento (CE) N.º. 1907/2006, [23] o tioglicolato de cálcio é nocivo por ingestão, pode provocar irritação das vias respiratórias e pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

O Regulamento (CE) N.º. 1272/2008, [23] classifica-se esta substância em diferentes categorias:

- Categoria 4 no caso de toxicidade aguda e para órgãos-alvo específicos;
- Categoria 3 no caso de exposição única;
- Categoria 1 no caso da sensibilização da pele.

4. Estudos de Libertação e Permeação *in vitro*

Segundo as *guidelines* da *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) a avaliação da absorção percutânea de ingredientes cosméticos tem relevância primária no procedimento de avaliação da segurança destes produtos para os consumidores. O referido comité recentemente realizou uma revisão da literatura disponível e dos dados científicos desenvolvidos pela indústria de cosméticos no sector de testes concordou com a utilização de métodos *in vitro* para avaliar a absorção percutânea. [24]

4.1. Fundamento Teórico

A substância em ensaio na sua forma natural ou num solvente apropriado ou veículo é aplicada à superfície da pele ou membrana que está posicionada entre a câmara superior e inferior de uma Célula de *Franz*, originando assim a amostra do teste. A amostra teste permanece em contacto com a pele ou membrana no recipiente dador por um período de tempo definido. O fluido receptor pode ser retirado no fim da experiência ou de preferência em vários pontos no tempo antes do final desta, de modo a que um perfil de absorção ou libertação possa ser calculado. A pele e/ou amostras de fluido são analisados por um método apropriado nomeadamente técnicas cromatográficas, como cromatografia líquida ou gasosa. [25]

Durante todo este processo é importante garantir a integridade da barreira cutânea. Os produtos cosméticos para uso depilatório actuam na camada mais externa da pele ou apêndices cutâneos, mais especificamente nos folículos pilosos, logo a sua eficácia dependerá da concentração da substância activa nesses locais. A quantidade de fármaco que vai actuar a nível do folículo piloso dependerá da eficiência relativa dos processos de libertação do fármaco da formulação que o contém e de penetração da substância activa nas camadas da pele, constituindo tema de interesse de tecnologia farmacêutica.

4.2. Libertação *in vitro*: Células de Difusão de *Franz*

Artigos científicos na área assim como *guidelines* da *Food and Drug Administration* (FDA), preconizam o uso de células de difusão como a célula de *Franz*, equipada com membrana sintética para determinar o perfil de libertação *in vitro* de formulações tópicas como cremes, géis, loções e de sistemas transdérmicos. De facto a célula de difusão de *Franz* tornou-se um método popular de estudo da difusão e permeação de substâncias através da pele. [14]

A célula de difusão vertical (VDC) é um sistema simples, confiável e um meio reprodutível de medição de libertação do fármaco a partir de formas de dosagem semi-sólidas. Normalmente, 200-400 mg de um creme, pomada ou gel são espalhados uniformemente sobre uma

membrana de suporte adequada, sintética e inerte. A membrana, com o seu lado de aplicação voltado para cima, é colocada numa VDC (normalmente possuem um orifício de diâmetro de 15 mm). Podem ser igualmente usadas células de difusão alternativas que estejam em conformidade com a mesma concepção geral e tamanho. A difusão entre o sistema de entrega e o reservatório ocorre através de uma membrana de suporte de material inerte e altamente permeável. Esta mantém o produto e o meio receptor separados de forma distinta. No geral, as membranas são escolhidas de forma a oferecer a menor resistência possível a difusão. [26]

A célula de *Franz* segue um modelo bicompartimental das células de difusão, possuindo dois compartimentos, um contendo o fármaco (compartimento dador) e outro contendo uma solução onde do fármaco é solúvel (compartimento receptor), separados por uma membrana natural ou sintética. No modelo de *Franz*, a disposição é vertical, mas existem sistemas onde os dois compartimentos estão dispostos lado a lado. A formulação em estudo é colocada na parte superior da membrana, no compartimento dador (figura 8). A passagem do analito pela membrana para o compartimento receptor é monitorizada pela análise das amostras do líquido receptor, colhido em diferentes tempos. [14]

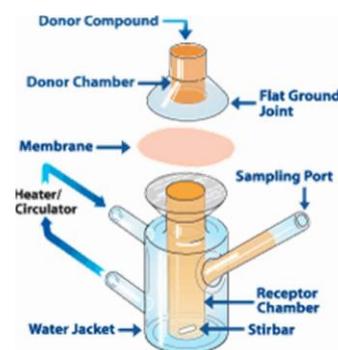


Figura 8. Representação de uma Célula de Difusão de Franz. [27]

A taxa de libertação de um fármaco a partir de determinada formulação depende directamente das características físico-químicas do veículo e do fármaco. O gráfico de quantidade de fármaco acumulado no meio receptor em função do tempo fornece o perfil de libertação, e o fluxo de passagem do fármaco a partir da formulação para a solução receptora é representado pelo declive da curva. [28]

4.3. Permeação *in vitro*: Células de Difusão de *Franz*

A absorção percutânea pode ser definida como o movimento de uma substância química aplicada à superfície da pele para o sistema circulatório. Se uma substância sob investigação tiver capacidade de penetrar através do EC e é encontrada em camadas mais profundas da pele, esta deve ser considerada absorvida. A finalidade do estudo de absorção percutânea dos

ingredientes cosméticos é a obtenção de informação quantitativa sobre as quantidades que podem entrar, sob condições de utilização, para dentro da circulação sistémica. Estas quantidades podem então ser tomadas em consideração para calcular a partir do *No Observable Adverse Effect Level* (NOAEL) um factor de segurança. [24]

Idealmente, os testes para avaliação da penetração e permeação de produtos de aplicação tópica devem ser realizados *in vivo*. No entanto, isso é frequentemente impossível, principalmente nos primeiros estágios de desenvolvimento de uma nova formulação, quando a toxicidade dos princípios activos e excipientes ainda não foi documentada. De facto, as experiências *in vitro* têm vindo a ganhar importância nesta área, devido ao grande número de problemas associados aos protocolos *in vivo*. [29]

Para realização de estudos *in vitro*, a principal premissa é de que o EC é a barreira limitante da taxa de penetração. A penetração de substâncias na pele é um processo passivo, e sua taxa não deve ser apreciavelmente alterada por processos metabólicos locais. [14] Estudos em laboratório requerem o uso de membranas que mimetizem a função de barreira do EC *in vivo*. O tecido humano seria a membrana mais apropriada para utilização em estudos de penetração e permeação cutânea, no entanto, apresenta problemas como baixa disponibilidade, questões éticas e legais, variações quanto ao sexo, idade e região anatómica. [14]

De facto, o modelo animal considerado mais relevante em substituição da pele humana é a pele de porco. Obtida em matadouros, esta possui propriedades histológicas e bioquímicas semelhantes à humana. Uma série de estudos demonstram que a permeabilidade a fármacos é bastante similar entre ambas, sendo a pele de orelha de porco particularmente aplicável a estudos *in vitro*, fornecendo resultados comparáveis aos obtidos com a pele humana. [11]

Entre os produtos de aplicação tópica, apenas os sistemas transdérmicos possuem o objectivo de produzir concentrações terapêuticas na circulação sistémica. [30] Já para os produtos cosméticos depilatórios o seu ponto de acção está localizado na camada mais superficial da pele, portanto, o objectivo é que o princípio activo dos depilatórios não seja capaz de alcançar a circulação. O teste de permeação *in vitro* é realizado em células de difusão de *Franz* e a montagem da célula é realizada da mesma forma que no teste de libertação *in vitro* sendo que a membrana sintética é substituída por um segmento de pele.

4.4. Testes de Integridade da Pele

A função barreira da pele é um parâmetro chave a considerar quando se trata de estudos de absorção percutânea *in vitro*. A integridade da barreira é crucial para a experiência, sendo

verificada por métodos físicos, como perda de água transepidermica (TEWL) ou resistência eléctrica transdermal (TER). [25]

Tal como descreve Eman et al (2009), inicialmente eram usadas medições de fluxo de água tritiada para avaliar a integridade da pele, contudo nas últimas décadas tem-se vindo a testemunhar uma necessidade e uma emergência de obter este parâmetro de forma mais rápida, sendo assim, usa-se preferencialmente a medição da TEWL. No entanto, até à data, a natureza da correlação entre TEWL e função barreira da pele *in vitro* ainda não está exaustivamente estabelecida. [31]

O princípio de medição deste teste consiste num sensor que é capaz de medir a taxa de evaporação da pele humana. O sensor consiste em eléctrodos com estrutura interdigital. A água evaporada a partir de pele humana precipita na superfície do sensor e altera a impedância eléctrica deste. A mudança da impedância é o parâmetro utilizado para avaliar a TEWL e é expressa em $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. A transpiração e evaporação levam a perda de água indesejada, pelo que o cálculo do TEWL é importante para avaliar a eficiência da função de barreira da pele. Quanto mais perfeito o revestimento protector da pele, maior o teor de água e inferior TEWL (figura 9). [32]

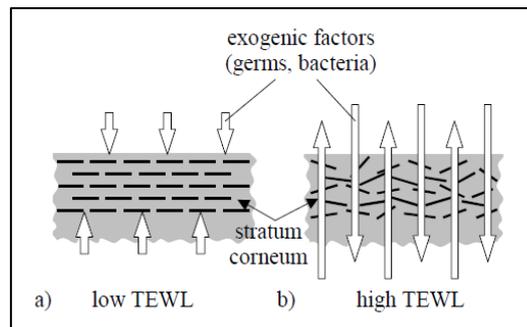


Figura 9. Perda de água transepidermica através da pele. [32]

Valetin et al, verificou que para pessoas saudáveis, este parâmetro varia entre 5 a 20 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, dependendo da localização do ponto de teste e da idade da pessoa. A utilização desta medição é frequente em testes para avaliar a eficácia e biocompatibilidade dos produtos cosméticos. [32]

5. Estudos de Citotoxicidade em Culturas de Células

Uma vez que a pele é frequentemente exposta, intencionalmente ou não, a produtos cosméticos, é evidente que o risco de um determinado ingrediente/produto causar irritação ou corrosão na pele tem de ser cuidadosamente avaliado como parte do processo de avaliação global de segurança. [33]

A utilização de modelos *in vitro* como ferramenta de avaliação de toxicidade foi desenvolvida durante as últimas décadas, principalmente devido à necessidade de obter melhores previsões dos efeitos potencialmente tóxicos de vários produtos químicos na saúde humana. Além disso, nos últimos anos designadamente por razões económicas e éticas tem-se assistido a uma redução da utilização de modelos animais em ensaios de toxicidade. [34]

A utilização de metodologias alternativas significa uma alteração nas *guidelines* oficiais sobre a realização de estudos toxicológicos para a avaliação dos efeitos potencialmente tóxicos exercidos por substâncias químicas em geral que afectam a saúde humana, incluindo os cosméticos, sendo essas substâncias parte integrante destes produtos comercializados. Em vez de animais, estes métodos alternativos utilizam culturas de células bacterianas e diferentes culturas de mamíferos ou de humanos, tecidos e órgãos particulares de animais, sistemas artificiais ou programas de análise computacional. [34]

A irritação da pele ou irritação dérmica é definida como um dano reversível da pele após a aplicação de uma substância em estudo num período que pode ir até aproximadamente 4 horas. Recentemente, foram oficialmente validados 5 testes *in vitro* para avaliação da irritação na pele (tabela 6). [34]

Tabela 6. Resumo dos métodos *in Vitro* envolvidos no estudo da irritação da pele efectuados pela *European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM)*. [33]

Method	Test System	Endpoint	Applicability	Validation Authority	Status	References
EPISKIN™ human skin model (commercial system)	reconstructed human epidermal equivalent	cell viability (MTT reduction assay)	general; a few materials may interfere with MTT reduction	ECVAM	protocol modification following prevalidation study; revised protocol and prediction model proposed for validation	Fentem <i>et al.</i> 2001 Zuang <i>et al.</i> 2002 Portes <i>et al.</i> 2002
EpiDerm™ human skin model (commercial system)	reconstructed human epidermal equivalent	cell viability (MTT reduction assay)	general; a few materials may interfere with MTT reduction	ECVAM	protocol modification following prevalidation	Fentem <i>et al.</i> 2001 Zuang <i>et al.</i> 2002
PREDISKIN™ human skin model (commercial system)	reconstructed human epidermal equivalent	histology and cell viability (MTT reduction assay)	general; a few materials may interfere with MTT reduction	ECVAM	did not meet criteria for progression to phase 3 of prevalidation	Fentem <i>et al.</i> 2001
Pig ear test	pig ear	trans-epidermal water loss (TEWL)	general	ECVAM	further development; did not meet criteria for progression to phase 3 of prevalidation	Fentem <i>et al.</i> 2001 Zuang <i>et al.</i> 2002
Mouse skin integrity function test (SIFT)	excised mouse skin	TEWL and electrical resistance (ER)	general; a few materials may interfere with either TEWL or ER determination	ECVAM	prediction model modification following prevalidation study; revised protocol and prediction model proposed for validation	Fentem <i>et al.</i> 2001 Zuang <i>et al.</i> 2002 Heylings <i>et al.</i> 2003

Os testes de corrosão dérmica pretendem avaliar o potencial de uma substância causar danos irreversíveis na pele, tais como necrose a nível da epiderme e derme na sequência da aplicação de uma substância em estudo num período de 3 minutos a 4 horas. Corrosividade não é uma característica que se espere que ocorra num cosmético, mas ocasionalmente essa situação pode acontecer após um erro de fabrico ou uso indevido pelo consumidor. Por outro lado, um ingrediente cosmético que tem como propriedade intrínseca ser corrosivo, pode em determinadas condições ser utilizado em cosméticos, dependendo muito da sua concentração final no produto cosmético, do pH, da presença de substâncias "neutralizantes", dos

excipientes utilizados, da via de exposição, das condições de utilização, etc. Os testes efectuados para avaliar a corrosão encontram-se representados na tabela 7. [34]

Tabela 7. Resumo dos métodos alternativos validados e mais avançados para estudo de corrosão da pele. [33]

Current endpoints addressed in the animal test	Alternative tests available	In vitro endpoints measured	Purpose	Area of application	Validation Status	Regulatory acceptance	Comments	Estimated time to have the method validated (ESAC endorsement)*
Skin corrosion: Full thickness destruction of skin tissue	Rat skin transcutaneous electrical resistance (TER) assay	Stratum corneum integrity and barrier function	Replacement	general; additional dye binding step for surfactants and solvents	Validated	accepted by regulatory authorities as a replacement test in the EU (B.40), but only as a screen for positives in the US; OECD TG 430		0 years
	EPISKIN™ human skin model (commercial system)	Cytotoxicity	Replacement	general; a few materials may interfere with MTT reduction	Validated	accepted by regulatory authorities as a replacement test in the EU (B.40), but only as a screen for positives in the US; OECD TG 431		0 years
	EpiDerm™ human skin model (commercial system)	Cytotoxicity	Replacement	general; a few materials may interfere with MTT reduction	Validated	accepted by regulatory authorities as a replacement test in the EU (B.40), but only as a screen for positives in the US; OECD TG 431		0 years
	CORROSITEX™ (commercial system)	//	Replacement (only for acids and bases and their derivatives)	mainly acids, bases and derivatives	Validated	validated and endorsed (US and EU) method for skin corrosion testing of acids and bases; proposal for a new OECD TG prepared by the US		0 years

5.1. Fibroblastos como Modelo de Estudo *in vitro*

O uso de culturas de linhas celulares tem vindo a aumentar exponencialmente nas áreas de Fisiologia, Farmacologia e Toxicologia. De Facto a utilização de células em cultura tornou-se indispensável na investigação, nomeadamente em Biologia Molecular e Celular, podendo contribuir para uma diminuição do uso de animais em experimentação. Neste âmbito, os fibroblastos animais e humanos têm sido um dos tipos de células mais utilizados em diversos tipos de estudos. [35]

Takashima et. al [36] referem as vantagens da utilização de culturas de fibroblastos em estudos de investigação tais como, a facilidade de obtenção de amostras de pele das várias partes do corpo através de biópsia, que constituem a principal fonte de fibroblastos, e devido a características de proliferação rápida e contínua destas células na presença de soro após o isolamento e estabelecimento de cultura. Esta linha celular comparativamente a outros tipos de células não necessita de factores de crescimento adicionais.

Efectivamente, todas as características anteriormente referidas contribuem para a atractividade de utilização destas células, contudo o principal interesse da utilização dos fibroblastos como modelo de estudo prende-se com o facto de estas células serem parte integrante da pele. [37]

5.2. Ensaio de Viabilidade Celular

A quantificação do efeito proliferativo e/ou citotóxico que compostos específicos podem exercer sobre as células em cultura pode ser efectuada através de diferentes métodos, incluindo os que são baseados na contagem directa de células, na medição da actividade metabólica e do conteúdo de ADN celular. [38]

Neste contexto, uma das metodologias mais utilizadas consiste na avaliação da viabilidade celular, através da redução de sais de tetrazólio, como é o caso do *brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio* (MTT). [39]

De facto, a determinação da viabilidade celular pelo ensaio MTT, proposta por Mosmann em 1983, é um procedimento rápido, simples, preciso e económico para avaliação da citotoxicidade e da proliferação celular *in vitro*. [40] Desde essa altura, foram introduzidas várias modificações no procedimento, e hoje este ensaio é frequentemente utilizado em laboratórios de Biologia Celular de todo o mundo. [41]

Este ensaio consiste numa reacção colorimétrica, resultante da redução do sal amarelo de tetrazólio MTT, fundamentalmente, pelas succinato-desidrogenases presentes nas mitocôndrias das células viáveis, o que conduz à formação de um produto púrpura insolúvel em meio aquoso, designado formazano (figura 10), e que é quantificado espectrofotometricamente após solubilização por um solvente adequado. A quantidade de formazano reflecte, na maioria das populações celulares, a actividade metabólica mitocondrial, e está portanto, relacionada com número de células viáveis presentes na cultura em estudo. [42, 43]

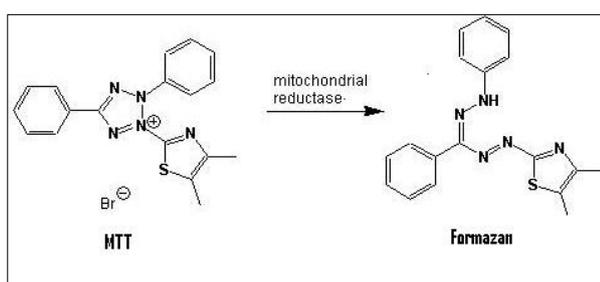


Figura 10. Redução do MTT em formazano pelas succinato-desidrogenases. [44]

Tratando-se de um ensaio custo-efectivo, com uma vasta aplicabilidade quer em culturas celulares primárias como em linhas celulares, a redução do MTT pelas células viáveis em cultura tem sido um dos métodos mais recomendados para o estudo do efeito citotóxico de xenobióticos, avaliação de taxas de proliferação e análise da actividade celular. [41,43]

II. Parte Experimental

1. Material e Métodos

1.1. Padrões e Reagentes

- Tioglicolato de cálcio (TC) (HPLC-grade), Sigma-Aldrich (Sintra, Portugal);
- Meio de cultura RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), Sigma Aldrich (Sintra Portugal);
- Acetonitrilo PROLABO[®], VWR (Carnaxide, Portugal);
- Ácido Fórmico (CH₂O₂), VWR (Carnaxide, Portugal);
- Cloreto de Potássio (KCl), Merck (VWR, Carnaxide, Portugal);
- Cloreto de Sódio (NaCl), Merck (VWR, Carnaxide, Portugal);
- Hidrogenofosfato dissódico (Na₂HPO₄), Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);
- Meio de cultura RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);
- HEPES (10 nM), Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);
- L-Glutamina (2nM), Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);
- Piruvato de sódio (1nM), Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);
- Soro bovino fetal (FBS), Biochrom AG (Sintra, Portugal);
- Antibiótico Ab (10,000 unidades/mL de penicilina, 10 mg/mL de estreptomicina e 25 µg/mL de anfotericina);
- Cloreto de Sódio (NaCl), Panreac Química (Seixal, Portugal);
- Glicina, Merck (VWR, Carnaxide, Portugal);
- Hidróxido de sódio (NaOH), Panreac Química (Seixal, Portugal);
- Solução de Tripsina (0,025 %) em PBS/EDTA, Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);
- Solução de Azul de Triptano (0,4 %), Merck (VWR, Carnaxide, Portugal);
- Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT), Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);
- Dimetilsulfóxido (DMSO), Sigma Aldrich (Sintra, Portugal);

1.2. Instrumentação

- Sistema de purificação de água Mili-Q Advantage A10[®] system da Millipore, (Interface, Lisboa, Portugal);
- Sistema de ultrassons *Elma Transonic 460/H[®]* da Reagente 5 (Porto, Portugal);
- Balança *Sartorius[®] CPA-22-SD*, Sartorius Stedim Spain (Lisboa, Portugal);

- Medidor de pH, *pH Meter Metrohm*[®], (Soquímica, Lisboa, Portugal);
- Vortex Mixer modelo 230V da *Labnet International*[®], (ILC, Porto, Portugal);
- Placa de agitação magnética modelo ASINCRO da *J.P. Selecta*[®], (ILC, Porto, Portugal);
- Câmara frigorífica a 4°C da *Dagard Ibérica*[®] (Nelas, Portugal);
- Medidor de pH modelo 744 da *Metrohm*[®], (ILC, Porto, Portugal);
- Micropipetas automáticas da *Gilson*[®] de 10, 100 e 1000 µL (VWR, Carnaxide, Portugal);
- Bomba de vácuo modelo DOA-P505-BN da *GAST*[®] (Waters, Califórnia, EUA);
- Centrífuga Heraeus Multifuge IS-R da *Thermo Electron Corporation*[®], (Osterode, Alemanha);
- Células de difusão tipo Franz calibradas 0.9mm, 5 mL de capacidade, área 0.636 cm²; da *PermeGear*[®], (Hellertown, Pensilvânia, EUA);
- Membrana Dialysis Tubing Celulose (33 mm), MWCO 12000Da, *Sigma Aldrich* (Sintra, Portugal);
- Membrana filtrante hidrofílica polypropylene 47 mm (0,45 µm) *Pall Corporation*[®] (WASHINGTON, N.Y, EUA);
- Banho Ultrasons *Bandelin Sonorex*[®], (Alemanha);
- Balança Balingen *PLJ 510-3M Kern & Sohn gmbh*[®], (Alemanha);
- Medidor de TEWL Vapometer, Delfin Technologies[®], (Finlândia);
- Sistema de filtração por vácuo;
- Micropipetas 200 µL *Eppendorf*[®], (Madrid, Espanha);
- Banhos Scientific-plystat 36, *Fisher Scientific*[®], (Loures, Portugal);
- Microscópio CKX41 Olympus[®], (Lisboa, Portugal);
- Centrifugadora Bioblock Scientific 3K18C, *Sigma Aldrich*[®], (Sintra, Portugal);
- Incubadora DHD Autoflow, *NuAire*[®], (Linda-A-Velha, Portugal);
- Câmara de fluxo laminar vertical Classe II, *NuAire*[®], (Linda-A-Velha, Portugal);
- Vórtex, *VELP Scientifica*[®], (Seixal, Portugal);
- Leitor espectrofotométrico de microplacas, Anthos 2020, *Biochrom*[®], (Cambridge, UK);

1.3. Sistema Cromatográfico e de Detecção

Para a identificação do composto em estudo, a análise cromatográfica foi realizada usando um sistema de cromatografia líquida de elevada eficiência acoplada a um detector de *diode array* (UPLC/DAD) modelo 1290, equipado com um detector de fotodiodos modelo 1260 e injetor automático modelo 1260 da Agilent (Soquímica, Lisboa, Portugal). O TC e possíveis interferentes presentes foram separados numa coluna de fase reversa Zorbax 300 SB-C¹⁸ (5

μm , 4,6x150 mm) da Agilent (Soquímica, Lisboa, Portugal) a temperatura de trabalho foi de 25 °C.

1.4. Soluções

- A solução mãe de TC foi preparada em água Milli-Q na concentração de 2,5 mg/mL. Para tal, pesaram-se 25 mg do composto que se dissolveu em água, num balão volumétrico de 10 mL. Esta solução foi armazenada a 4 °C e ao abrigo da luz.
- Para preparação da solução de ácido fórmico 50 mM: Pipetaram-se 1,89 mL de ácido fórmico para um balão volumétrico de 1000 mL de capacidade contendo 200 mL de água Milli-Q. Adicionou-se água até completar o volume e homogeneizou-se por inversão.
- Para a preparação da fase móvel: Pipetaram-se 7,5 mL de acetonitrilo para um balão volumétrico de 1000 mL de capacidade contendo 992,50 mL de ácido fórmico 50 mM em água Milli-Q. A solução foi homogeneizada por inversão e foi filtrada e desgaseificada num banho ultrasónico. O pH desta solução foi de 2,42.
- Solução de ácido fosfórico (0,1%) e água 90%: Pipetaram-se 0,1 mL de ácido fosfórico para um balão volumétrico de 100 mL de capacidade contendo 50 mL de água Milli-Q. Adicionou-se água até completar o volume e homogeneizou-se por inversão.
- Solução de metanol 10% e ácido fosfórico 0,1% em água (10:90, v/v): Com auxílio de uma proveta mediram-se 10 mL de metanol para um balão volumétrico de 10 mL de capacidade contendo 50 mL de ácido fosfórico (0,1%) em água. Milli-Q Adicionou-se ácido fosfórico (0,1%) em água até completar o volume e homogeneizou-se por inversão.
- Tampão fosfato salino (PBS), pH=7: para um volume final de 1000 mL pesaram-se 200 mg de KH_2PO_4 , 200 mg de KCl , 8 g de NaCl e 1,15 g de Na_2HPO_4 , para um balão volumétrico e aferiu-se com água Milli-Q.

Para a realização dos testes de citotoxicidade todas as soluções utilizadas foram gentilmente cedidas pelo Professor Dr. Samuel Silvestre (Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior):

- Os meios de cultura foram preparados solubilizando meio RPMI 1649 sólido em água Milli-Q, com adição de NaHCO_2 (2 g/L); após a dissolução dos componentes, acertou-se o pH para 7,3 com NaOH 1M e filtrou-se usando um filtro com 0,22 μm . De seguida, foram

pesados para um recipiente as quantidades adequadas de *L*-glutamina, HEPES e piruvato de sódio, que se dissolveram no meio base anteriormente preparado; a esta solução foram finalmente adicionados o antibiótico/antimicótico e o FBS e a mistura final foi novamente filtrada usando um filtro com 0,22 µm. Designou-se meio *completo* quando o meio em causa tinha FBS, e *incompleto* quando não tinha FBS.

- Tampão glicina Sorensen (solução de 0,1 M de *L*-glicina e 0,1 M NaCl, com o pH ajustado a 10,5 com NaOH 0,1 M).

1.5. Células de Difusão de *Franz* e Ensaio de Libertação e Permeação *in vitro*

1.5.1. Design da Célula

A célula consiste num compartimento dador superior e receptor inferior, separados por uma membrana ou pele. O estrato córneo enfrenta a câmara dadora. As células são feitas a partir de um material inerte e não-absorvente (por exemplo, vidro ou de PTFE - politetrafluoretileno). O controlo de temperatura do fluido receptor é crucial ao longo da experiência, deve manter um nível comparável ao de temperatura da superfície da pele *in vivo*. O fluido receptor é bem misturado durante toda a experiência. O design da célula permite amostragem múltipla, sem interromper a experiência.

1.5.2. Condições do Ensaio

Segundo a OECD durante todo o ensaio devem manter-se as “*sink conditions*”.^[25]

1.5.2.1. Dose e Tempo de Contacto

Devem ser o mais perto possível das condições reais de utilização do produto final.

1.5.2.2. Temperatura

Como a taxa de extensão da absorção da pele é dependente da temperatura, a temperatura da pele é mantida constante (32± 1°C temperatura que é semelhante a da superfície da pele *in vivo*).

1.5.2.3. Velocidade

A tolerância de velocidade de rotação é de +10% a partir de velocidade de destino (normalmente 600-800 rpm). A velocidade seleccionada devesa garantir uma mistura adequada do receptor durante o teste.

1.5.2.4. Duração do Estudo

A duração do estudo é variável consoante a formulação em estudo, mas um período de amostragem de 24 horas é normalmente necessário para permitir a caracterização adequada do perfil de absorção.

1.5.3. Escolha do Meio Receptor

A composição do meio receptor é escolhida de modo a que este não limite a extensão da penetração/libertação da substância de ensaio, isto é, a solubilidade do produto químico sob investigação tem de ser garantida. Solução salina ou solução salina tamponada é utilizado para compostos hidrofílicos. Para moléculas lipofílicas, albumina do soro ou outros solubilizantes adequados, tais como tensoactivos não-iónicos, são adicionados em quantidades que não interfiram com a integridade da membrana. As propriedades do fluido receptor devem garantir que não ocorrem interferências com o procedimento analítico. ^[25] Para alcançar esta “*sink condition*”, o meio receptor deve ter uma elevada capacidade para dissolver ou transportar a molécula em estudo, e o meio receptor não deve exceder 10% da concentração do padrão no final do teste. ^[26] Uma vez que o TC é bastante solúvel em água (70 g/L) e obedece a uma das “*sink condition*”, ou seja, não há proximidade de saturação para a massa de TC usada, usou-se a água como meio. De notar que não é obrigatório reproduzir o meio fisiológico, mas sim fornecer uma boa solubilidade para a libertação do fármaco. O meio receptor escolhido foi previamente filtrado por bomba de vácuo (400 mbar) utilizando uma membrana hidrofílica de polipropileno 47 mm (0,45 µm) e posteriormente desgaseificado a 32°C durante 15 minutos. Seguidamente o meio foi guardado na estufa. Aquando o seu uso, este meio receptor é cuidadosamente agitado em todos os momentos ou continuamente substituído no fluxo através das células. A escolha das condições da célula receptora, estático ou por escoamento, é realizada segundo o composto, dependendo das suas propriedades de absorção e do objectivo do estudo.

1.5.4. Preparação e Aplicação da Formulação Cosmética

Segundo o *Scientific Committee on Consumer Safety* (SCCS) a substância de ensaio é incorporada na maior concentração requerida para um veículo apropriado, o qual deve ser o protótipo da formulação do produto. A composição quantitativa deste veículo deve ser especificada. No presente trabalho a dose a colocar no recipiente dador era medida com uma seringa de 1 g e eram sempre efectuadas as pesagens da seringa vazia, seringa com hidrogel depilatório (HD) e a seringa no final do ensaio, de forma a obtermos a concentração exacta de HD presente nas células. Assim obtemos as seguintes quantidades disponíveis na tabela 8 em anexo (Anexo 10). A quantidade, bem como os tempos de contacto (exposição) com a

membrana e a pele são escolhidos para imitar as condições de uso pretendidas. Foram sempre realizados ensaios por triplicado por cada formulação.

1.5.5. Análise

Para efectuar a análise quantitativa podem ser utilizados procedimentos analíticos como contagem de cintilação, ou técnicas cromatográficas. [25]

1.5.6. Estudo de Libertação *in vitro*: Células de Difusão de Franz

1.5.6.1. Formulações Analisadas

Para este ensaio foram analisadas diferentes formulações (F2, F4, F6, F7, F8 e F9) de hidrogéis depilatórios com TC. A composição das nove formulações encontra-se resumida na tabela 9.

Tabela 9. Constituintes e respectivas quantidades de matérias-primas utilizadas em todas as formulações.

Matérias-primas	Formulações								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ρ-hidroxibenzoato de metilo	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Água Milli-Q	60,40 mL	50,40 mL	64,40 mL	54,40 mL	78,90 mL	52,74 mL	53,74 mL	50,84 mL	53,64 mL
Ácido Cítrico							0,1 g		
Ácido Ascórbico								3 g	
Aminoguanidina	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	12,56 g	12,56 g	12,56 g	12,56 g
Hidroxitolueno Butilado (BHT)									0,2 g
Carbopol					1 g				
Ácido etilenodiamino tetra-acético(EDTA)							0,1 g		
Essência de hortelã-pimenta		5 mL		5 mL		3 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Glicerina	13,5 mL	13,5 mL	13,5 mL	13,5 mL		13,5 mL	13,5 mL	13,5 mL	13,5 mL
Hidroxipropilmetilcelulose	4 g	4 g	2 g	2 g		2 g	2 g	2 g	2 g
Metil-β-ciclodextrina	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
Óxido de zinco	2 g	2 g							
Tioglicolato de cálcio		5 g		5 g		5 g	5 g	5 g	5 g
Ureia	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	6 g	6 g	6 g	6 g

As formulações 1, 2 e 3 foram excluídas deste estudo uma vez que não possuem na sua constituição a molécula depilatória em estudo, o TC.

1.5.6.2. Preparação da Membrana Sintética

Para este ensaio foram utilizadas membranas *Dialysis Tubing Celulose* (33 mm).

Foram cortados segmentos de aproximadamente 5 cm da membrana de acetato de celulose (membrana de diálise). As membranas foram colocadas em água Mili-Q durante 2 horas para saturar. A saturação das membranas é um passo limitante, pois se não garantirmos a saturação destas corre-se o risco de elas absorverem o meio. Posteriormente os laterais da membrana foram cortados. As membranas usadas estão representadas na figura 11.



Figura 11. Membranas de Dialysis Tubing Celulose (33 mm).

Estas membranas são amplamente utilizadas em estudos de libertação *in vitro* e são recomendadas pela FDA por atenderem a exigências tais como, não reagir com a formulação ou o meio receptor, serem permeáveis ao fármaco e não serem determinantes da taxa de libertação.

1.5.6.3. Montagem das Células de Difusão de Franz

No presente trabalho utilizaram-se nove células de difusão de *Franz* (figura 12), acopladas a um banho a 32,5°C (temperatura semelhante a da pele humana) e rotação de 800 rpm. As células foram mantidas a esta temperatura pela circulação de água termostaticada pela camisa dupla das mesmas. Estas foram montadas conforme a figura 13.



Figura 12. Ilustração de uma célula de difusão de *Franz* e respectivo compartimento dador.



Figura 13. Representação da montagem das células de difusão de Franz; células de difusão de *Franz* acopladas a um banho.

O compartimento receptor (5 mL de capacidade) foi preenchido com água, ou seja, a solução receptora (SR), filtrada e desgaseificada por sonicação. A membrana foi disposta na célula, evitando a formação de bolhas. Acima da membrana foi colocado um compartimento dador, a área de contacto da pele com o compartimento receptor é de 0.636 cm^2 . O orifício do compartimento dador foi totalmente preenchido pela formulação em estudo, resultando em aproximadamente 1 g de HD tal como foi referido no ponto 1.5.4., tabela 8 no anexo 10. O sistema foi fechado com uma garra metálica ilustrado na figura 14. O compartimento receptor foi mantido sob agitação (800 rpm) por meio de uma pequena barra magnética e hélice. As células foram mantidas à temperatura de $32,5^\circ\text{C}$, figura 15.



Figura 14. Garra metálica adaptada entre o compartimento dador e receptor de forma a fechar o sistema.



Figura 15. Sistema que controla e mantém a temperatura a $32,5^\circ\text{C}$.

1.5.6.4. Obtenção da Amostra

A obtenção das amostras foi realizada a diferentes perfis de tempo, através de uma micropipeta com ponta de gel eram retirados $200 \mu\text{L}$ de amostra através do braço da célula, e imediatamente de seguida era reposta a mesma quantidade de meio fresco (água). A concentração de TC acumulado no compartimento receptor, em cada tempo, foi calculada mediante à análise por UPLC/DAD.

1.5.6.5. Análise das Amostras

As amostras foram analisadas por UPLC/DAD, com a mesma fase móvel e as mesmas condições usadas no doseamento do TC (ensaio realizado no ponto 2.1.).

1.5.7. Estudo de Permeação *in vitro*: Células de Difusão de Franz

1.5.7.1. Formulações Analisadas

Este ensaio foi realizado para a formulação 9 devido aos resultados obtidos no ensaio de libertação da mesma, representados no ponto 2.2.1.

1.5.7.2. Obtenção da Pele de Porco

Segundo SCCS a pele de porco é usada porque partilha características de permeação essenciais com a pele humana. Esta pode ser armazenada a -20 °C num mínimo de 3 meses. Estas amostras de pele podem ser utilizadas com a espessura total ou como preparações de espessura parcial de forma a ajustar-se à célula.

A separação dermo-epidérmica pelo calor foi originalmente introduzida em 1942 por Baumberger et al. [45] Desde então este método já foi modificado várias vezes e a separação do tecido epidérmico por calor tem sido utilizada para estudos de várias substâncias.

Neste ensaio usou-se pele previamente descongelada retirada de orelhas de leitão (figura 16), gentilmente fornecida pela Dr.^a Carla Vitorino (Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra,). Para a sua obtenção a pele completa foi colocada num banho a 60°C durante 1min, tendo sido posteriormente separada a epiderme da derme (separação por calor, 60°C, 90 seg). A pele foi cortada com um dermatômetro (200 µm a 400 µm de espessura). A camada utilizada nos ensaios foi a epiderme (e não apenas a camada córnea). Esta foi colocada em folhas de alumínio e congelada a -20°C.



Figura 16. Ilustração das porções de pele de porco usadas no ensaio de permeação.

1.5.7.3. Montagem das Células de Difusão de Franz

Procedeu-se à montagem das células de difusão igual forma que no estudo de libertação *in vitro*, descrito anteriormente. A solução receptora utilizada foi tal como no ensaio de libertação água destilada Mili-Q, desgaseificada e filtrada (0,45 µm).

Após descongelamento, as porções de pele são colocadas em células preenchidas com água onde permanecem durante algum tempo a saturar. Para a realização dos ensaios de permeação, é necessário assegurar a integridade da pele. Neste sentido, um dos métodos usados passa pela medição da perda de água transepidermica (TEWL) usando o aparelho *Delfin Vapometer*, colocado perpendicularmente à pele tal como podemos observar na figura 17.



Figura 17. Medição da TEWL usando o aparelho *Delfin Vapometer*.

Neste trabalho considerou-se como $15 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ o valor máximo de selecção da pele para os ensaios.^[32] As medições foram efectuadas a uma temperatura entre 23 a 24 °C e a uma humidade relativa compreendida entre 57 a 67%. Os valores de TEWL para os 5 excertos de pele descongelados encontram-se na tabela 10.

Tabela 10. Valores de TEWL obtidos das porções de pele de porco.

Células	TEWL ($\text{g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$)	Humidade	Temperatura (°C)
1° Célula	25,8	H60	23 °C
2° Célula	18,9	H58	23 °C
3° Célula	19,5	H57	24 °C
4° Célula	14,5	H67	24 °C
5° Célula	27,4	H62	24 °C

As células escolhidas foram a 1°, a 2° e a 4° célula (figura 18). Considerando os valores inferiores a $15 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ para TEWL como medida da integridade da pele, a célula 4 é a única que cumpre este critério.



Figura 18. Porções de pele de porco elegidas para usar no ensaio de permeação.

A célula 1 e 2 foram as escolhidas, mesmo não cumprindo o critério proposto por B. Valentin et al,^[32] por terem um menor valor de TEWL em comparação com as restantes. Quanto mais perfeito o revestimento protector da pele, maior o teor de água e inferior TEWL. De notar que apesar da 3ª célula ter um valor de TEWL menor que a 4ª célula, teve de ser excluída do ensaio pois estava rompida o que impossibilitou o seu uso. De seguida a pele é adicionada a superfície da célula, com EC voltado na direcção do compartimento doador, e derme em contacto com a solução receptora evitando-se sempre a formação de bolhas. A formulação foi aplicada na área delimitada pelo compartimento doador, resultando em aproximadamente 1 g de HD em cada célula. O compartimento receptor foi mantido sob agitação (800 rpm) por meio de uma pequena barra magnética e hélice. As células foram mantidas à temperatura de 32,5°C.

1.5.7.4. Obtenção da Amostra

A obtenção das amostras foi realizada a diferentes perfis de tempo, através de uma micropipeta com ponta de gel eram retirados 200 µL de amostra através do braço da célula, e imediatamente de seguida era repostas a mesma quantidade de meio fresco. A concentração de TC acumulado no compartimento receptor, em cada tempo, foi calculada mediante à análise por UPLC/DAD.

1.5.7.5. Análise das Amostras

As amostras foram analisadas em UPLC/DAD com a mesma fase móvel e as mesmas condições usadas no doseamento do TC.

1.6. Cultura dos Fibroblastos e Estudo da Citotoxicidade do Tioglicolato de Cálcio e do Hidrogel Depilatório através do Ensaio MTT

1.6.1. Linha Celular e sua Cultura

Uma linha celular permite definir uma população de células que são mantidas em cultura por um determinado período de tempo. ^[35]

As células usadas neste estudo foram fibroblastos da derme humana (não cancerígenas), designadas NHDF, que foram cultivadas e mantidas em frascos de 75 cm² numa incubadora a 37°C e sob atmosfera húmida com 5% de CO₂, usando meio de cultura RPMI 1640 contendo L-glutamina (20 mM), HEPES (10 mM) e piruvato de sódio (1 mM) e suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) e 1% de antibiótico/antimicótico (10,000 unidades/mL de penicilina, 10 mg/mL de estreptomicina e 25 µg/mL de anfotericina B).

As células foram usadas na passagem 10, e quando estavam parcialmente confluentes, (figura 19).

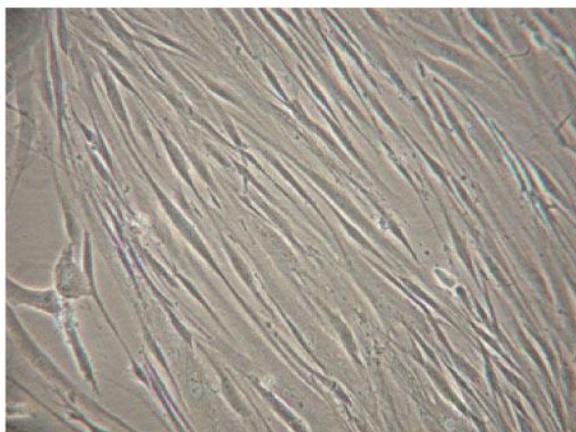


Figura 19. Ilustração da linha de fibroblastos utilizados no ensaio (ampliação 100x).

1.6.2. Preparação das Soluções em Estudo

1.6.2.1. Solução de Tioglicolato de Cálcio

Para a preparação da solução mãe de TC, pesaram-se 0,60 g de TC, que foram adicionados a 10 mL de Meio Completo RPMI. Esta concentração foi decidida partindo da informação que este composto tem uma solubilidade em água de 70 g/L e que 6% é a sua percentagem permitida em formulações depilatórias. Partindo desta solução-mãe, pelo método das diluições sucessivas, prepararam-se também as concentrações 0,6 µg/mL; 6 µg/ml; 60 µg/ml; 600 µg/ml; 6000 µg/mL e 60000 µg/mL, também em meio completo.

Ao preparar-se a referida solução-mãe, observou-se a formação de um precipitado branco, cuja composição se desconhece. Contudo, decidiu-se homogeneizá-lo e preparar a partir desta mistura as restantes diluições. Na concentração 6000 µg/mL ainda se observou uma quantidade significativa do precipitado, mas nas restantes concentrações isso já não aconteceu. Todas as concentrações foram avaliadas, mas nas duas concentrações mais elevadas não foi possível retirar conclusões, provavelmente devido ao referido precipitado, pelo que não foram incluídos nos gráficos.

1.6.2.2. Solução do Hidrogel Depilatório

Num estudo prévio foram desenvolvidas diferentes formulações de TC. De todas as formulações para a avaliação da citotoxicidade só foi realizado o estudo com a formulação 9, pelas razões indicadas no ponto 2.2.1 e 2.2.2.

Para decidir a concentração da solução-mãe a preparar neste caso, partiu-se do conhecimento de que o HD tem na sua composição de 6 % de tioglicolato e de um estudo prévio de solubilidade aquosa que indicou que dissolvendo 0,16 g de HD já ocorria formação de uma suspensão. Contudo, observou-se total solubilização na diluição seguinte (0,016 g de HD em 10 mL de água).

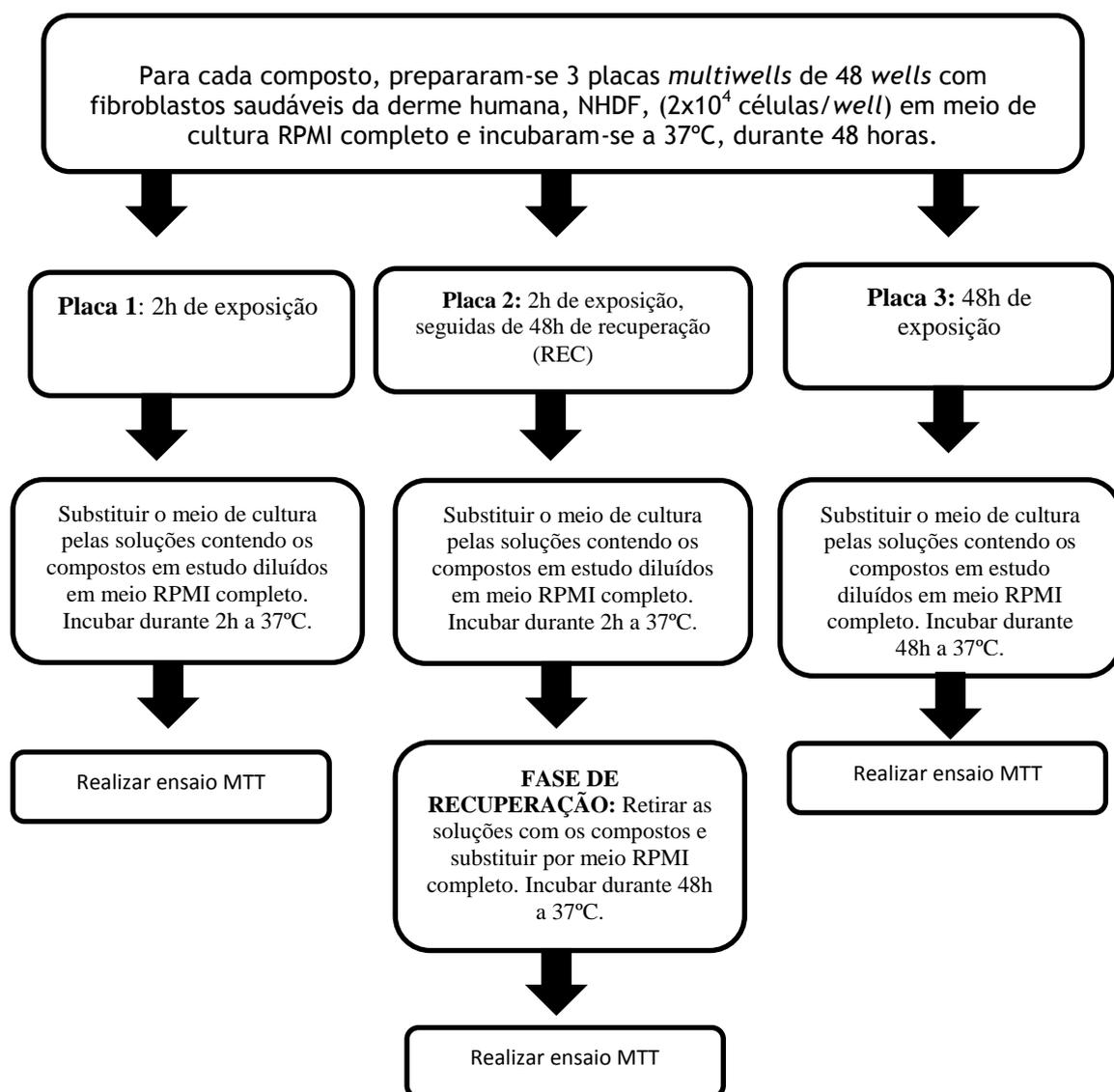
A solução mãe do HD para posterior diluição foi então preparada pesando 0,16 g de HD, a qual se adicionaram 10 mL de meio completo; desta solução retiramos posteriormente 0,6 mL e adicionamos 5,4 mL de meio e assim sucessivamente até obtermos as seguintes concentrações de tioglicolato: 0,0096 µg/mL; 0,096 µg/mL; 0,96 µg/mL; 9,6 µg/mL; 96 µg/mL; 960 µg/mL. Todas as concentrações foram avaliadas e incluídas nos gráficos, mesmo observando-se que na concentração mais elevada se observou formação de um precipitado.

1.6.3. Desenho do Ensaio

Neste ensaio foi avaliado a exposição ao TC e ao HD durante 2h, seguida ou não de uma fase de recuperação, que consistiu em substituir as soluções em estudo em contacto com as células por meio de cultura completo, incubando-se as células durante 48h adicionais e exposição ao TC e ao HD durante 48h.

Foi realizado um ensaio controlo que permitiu-nos comparar a viabilidade celular na ausência dos compostos testados, com a presença dos mesmos. Assim pudemos verificar se ocorreu um aumento ou uma diminuição da proliferação celular, em relação ao controlo.

Esquema-resumo:



Esquema 1: Representação da metodologia seguida para estudar a viabilidade celular de NHDF após 2 horas, 48 horas de recuperação (REC) e 48 horas de incubação com os compostos em estudo.

Os ensaios foram realizados em caixas de 48 *wells*, de acordo com o esquema seguinte:

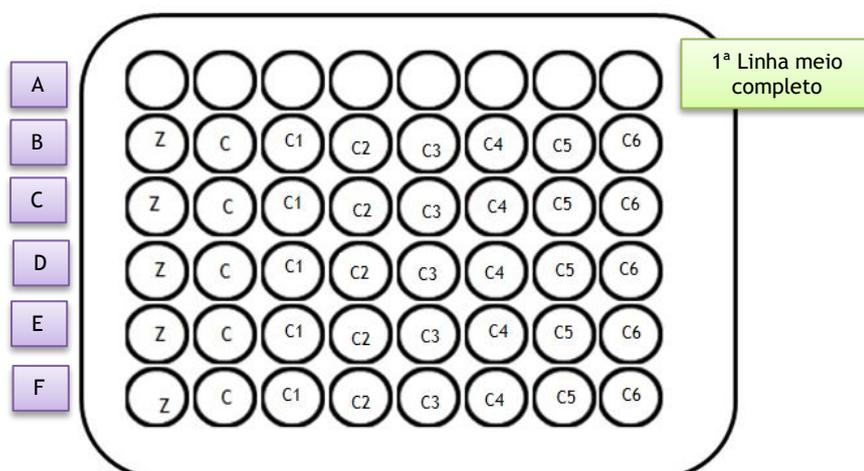


Figura 20. Disposição dos meios de cultura nas placas *multiwells*. (Z - zero; C- Controlo; C1- concentração de 0,0096 µg/mL para o HD, e de 0,6 µg/mL para o TC; C2- concentração de 0,096 µg/mL para o HD, e de 6 µg/mL para o TC; C3- concentração de 0,96 µg/mL para o HD, e de 60 µg/mL para o TC; C4- concentração de 9,6 µg/mL para o HD, e de 600 µg/mL para o TC; C5- concentração de 96 µg/mL para o HD, e de 6000 µg/mL para o TC; C6- concentração de 960 µg/mL para o HD, e de 60000 µg/mL para o TC;

1.6.4. Técnicas Utilizadas

Uma vez que os ensaios foram realizados em caixas de 48 *wells* (volume: 250 µL/*well*), para saber a quantidade de suspensão celular a preparar, considerando que o volume de cada *well* é 250 µL/*well* sendo assim temos de fazer o seguinte cálculo (equação 1).

$$0,250 \text{ mL} \times 37 \text{ wells/caixa} \times 6 \text{ caixas} = 55,5 \text{ mL de suspensão de células necessário} \quad (1)$$

Foram preparados 60 mL de suspensão celular (excesso, para eventuais erros que possam ocorrer).

A concentração adequada de células para o ensaio foi determinada em estudos de viabilidade celular prévios realizados anteriormente pelo Professor Dr. Samuel Silvestre. Destes estudos concluiu-se que a concentração adequada é 2×10^4 células/mL.

1.6.4.1. Tripsinização, Contagem e Sementeira de Células:

1. Na caixa de cultura de células (75 cm²), contendo as células nas condições adequadas para o ensaio, aspirou-se o meio de cultura, uma vez que, devido ao FBS, este vai destruir a solução de tripsina, enzima utilizada num passo posterior;
2. Lavou-se as células com 10 mL de PBS;
3. Após aspirar o PBS adicionou-se uma solução de tripsina-EDTA (0,025%) (10 mL), ocorrendo a tripsinização durante 5 minutos a 37°C e numa atmosfera húmida a 5% de CO₂; a tripsina é uma protease que vai clivar as ligações peptídicas das proteínas adesinas das células aderentes à superfície levando a que estas se soltem; este processo foi acompanhado utilizando o microscópio;
4. Neutralizou-se a tripsina com 10 mL de meio completo e transferiu-se a suspensão celular resultante para um tubo falcon de 50 mL;
5. Centrifugaram-se as células durante 8 minutos a 1000 rpm, obtendo-se um *pellet*;
6. Aspirou-se o sobrenadante e adicionou-se meio completo e ressuspenderam-se as células;

7. Retirou-se 10 μL da suspensão celular devidamente homogeneizada para um *vial* e adicionou-se 10 μL de corante azul de triptano;
8. Colocou-se a suspensão anterior na câmara de *Neubauer* e realizou-se a contagem das células através do microscópio (figura 21).

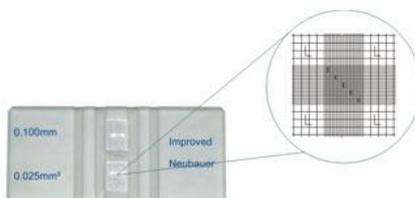


Figura 21. Imagem representativa da câmara de *Neubauer*. [46]

Da contagem dos 4 quadrantes na câmara de *Neubauer*, observou-se uma média de $29,25 \times 10^4$ células/mL

Uma vez que foram diluídas para metade após adição dos 10 μL do corante azul de triptano vamos obter segundo os cálculos (equação 2):

$$29,25 \times 2 = 58,5 \times 10^4 \text{ células/mL}$$

$$C1 \times V1 = C2 \times V2 \text{ logo, } 58,5 \times 10^4 \times V1 = 2 \times 10^4 \times 60 \text{ mL,} \quad (2)$$

$$\text{Assim, } V1 = 1,026 \text{ ml em } 60 \text{ mL de meio}$$

Após se preparar o volume pretendido (60 mL) da suspensão celular com a concentração adequada (2×10^4) esta foi então semeada nas caixas de 48 *wells*, conforme o esquema acima indicado, e incubadas durante 48 horas a 37°C e numa atmosfera húmida com 5% de CO_2 antes da exposição aos compostos.

1.6.5. Ensaio MTT

Após as linhas celulares serem incubadas com os diferentes compostos nas condições e nos tempos indicados acima, os sobrenadantes foram aspirados, procedeu à lavagem das células com tampão PBS previamente aquecido a 37°C de forma a que as células não sofram um choque térmico e seguidamente à adição da solução de MTT. Esta solução consistiu na mistura 4:1 de meio de cultura incompleto com uma solução de MTT (5 mg/mL) em PBS, preparada na ausência de luz, uma vez que o MTT é fotossensível. Esta solução esteve em contacto com as células durante 4 horas, numa atmosfera de 37°C com 5% CO_2 . As caixas foram revestidas com papel de alumínio para garantir ausência de luz.

Após 4 horas observou-se a formação de cristais de formazano com cor violeta (as mitocôndrias das células viáveis originam a formação de formazano a partir do MTT). Após se aspirar o sobrenadante, procedeu-se à adição de 200 µL de DMSO e 25 µL de tampão glicina pH 10,5 em cada *well*. O DMSO dissolve os cristais de formazano, sendo a coloração roxa proporcional ao número de células viáveis. Posteriormente transferiu-se as soluções formadas para uma placa de 96 *wells* e fez-se a leitura no espectrofotómetro (Anthos 2020) num comprimento de onda de 595 nm.

2. Resultados e Discussão

Relativamente a este capítulo e para uma melhor compreensão do documento o capítulo de resultados e discussão foi subdividido em:

- 2.1. Determinação de Tioglicolato de Cálcio por Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência acoplada a um Detector de *Diode Array* (UPLC/DAD);
- 2.2. Estudos de Libertação e Permeação *in vitro*;
- 2.3. Avaliação da Citotoxicidade do Tioglicolato de Cálcio e do Hidrogel Depilatório através do Ensaio MTT;

2.1. Determinação de Tioglicolato de Cálcio por Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência acoplada a um Detector de Diode Array (UPLC/DAD)

2.1.1. Optimização da Fase Móvel

Com a finalidade de detectar de melhor forma o TC, foi necessário otimizar a composição da fase móvel. Desta forma, e com base na literatura científica, foram avaliadas várias composições, usadas em estudos previamente publicados envolvendo diferentes compostos, em modo isocrático e com diferentes fluxos. ^[8, 47]

Inicialmente foi experimentada uma fase móvel cuja composição era metanol 10%, ácido fosfórico (0,1%) e água 90% (10:90, v/v) a um pH de 6,35 em modo isocrático e com um fluxo de 1 mL/min. Usando esta fase móvel (figura 22) o pico do TC (tempo de retenção - tR:1,3 minutos) não apresentava uma correcta simetria e co-eluiu com o frente solvente. Como tal decidiu-se utilizar uma outra fase móvel.

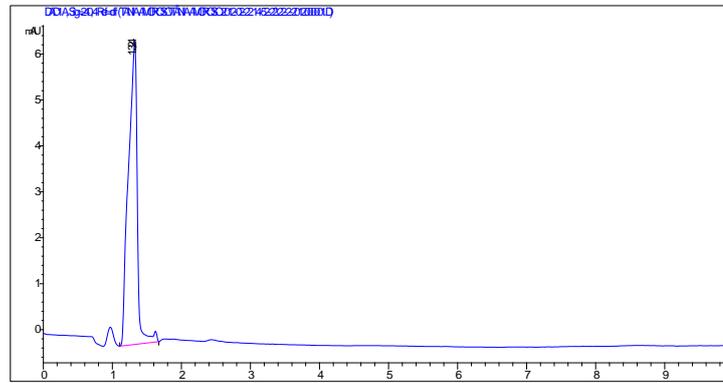


Figura 22. Cromatograma de TC a 1 mg/mL com a fase móvel ácido fosfórico (0,1%) em metanol e água (10:90, v/v).

Foi então utilizada uma mistura de ácido fórmico 50 mM em água Milli-Q e acetonitrilo na proporção 97:3 (v/v) a um pH de 2,42 tendo a eluição ocorrido em modo isocrático. O fluxo da fase móvel manteve-se constante a 1 mL/min. O t_R do tioglicolato foi de 2,5 minutos. O tempo total do cromatograma foi de 7 minutos e a detecção ocorreu a 240 nm, comprimento de onda máximo para este composto (figura 23).

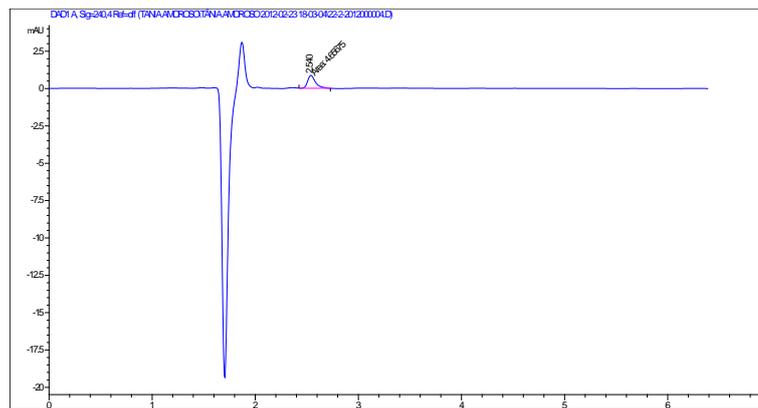


Figura 23. Cromatograma de TC a concentração de 10 µg/mL.

Foi possível verificar que com esta fase móvel não se observaram interferentes (figura 24), pelo que esta foi considerada a fase móvel final.

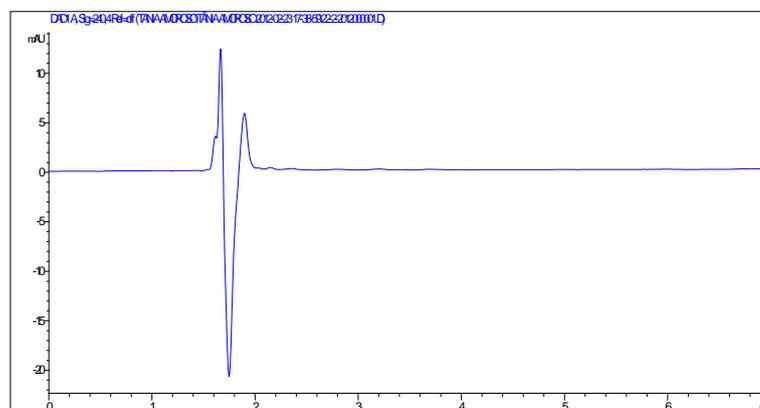


Figura 24. Cromatograma de uma injeção de fase móvel (ácido fórmico 50 mM em água Milli-Q e acetonitrilo (97:3; v/v)).

2.1.2. Validação do Método

Com a finalidade de demonstrar que os processos analíticos se adequam ao fim a que se destinam, é necessário efectuar a validação do método. Deste modo, a metodologia optimizada foi validada através de um protocolo de validação de 5 dias, seguindo as normas aceites internacionalmente para a validação de métodos bioanalíticos, concretamente da *Food and Drug Administration* ^[48] e da *International Conference on Harmonization*. ^[49]

A conformidade da metodologia deve ter alguns parâmetros obrigatórios, tais como selectividade/especificidade, precisão, exactidão, linearidade/curva de calibração, limites de detecção e de quantificação.

2.1.2.1. Selectividade

A selectividade consiste na capacidade de um método analítico identificar o(s) analito(s) de forma inequívoca numa matriz complexa e na presença de outros componentes da amostra, quer endógenos quer exógenos [69]. Deste modo, foram analisadas amostras isentas do analito em estudo, tendo sido pesquisados interferentes nos tempos de retenção e comprimentos de onda (λ). Não foram observadas quaisquer interferências de constituintes do líquido receptor aos tempos de retenção e λ seleccionados. Foram experimentados diferentes soluções como líquido receptor para as células de *Franz*: água Milli-Q, tampão PBS e fase móvel. Nas figuras 25, 26 e 27 apresentam-se os cromatogramas obtidos após análise de amostras de brancos (líquido receptor) e nas figuras 28 e 29 as amostras fortificadas com TC a 2,5 mg/mL e 10 μ g/mL, respectivamente.

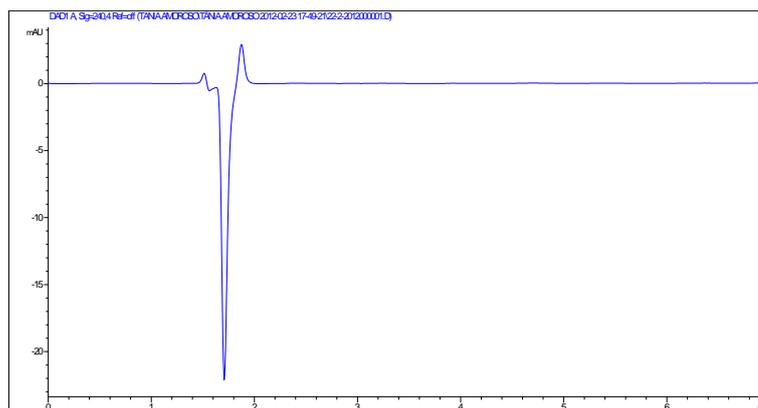


Figura 25. Cromatograma de amostra de PBS.

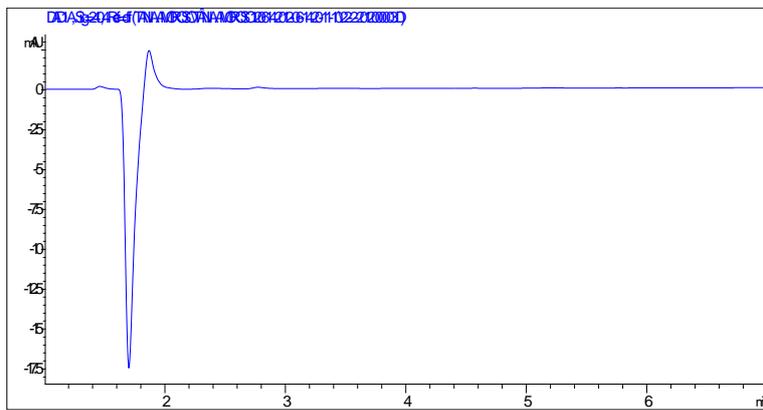


Figura 26. Cromatograma de amostra de H2O.

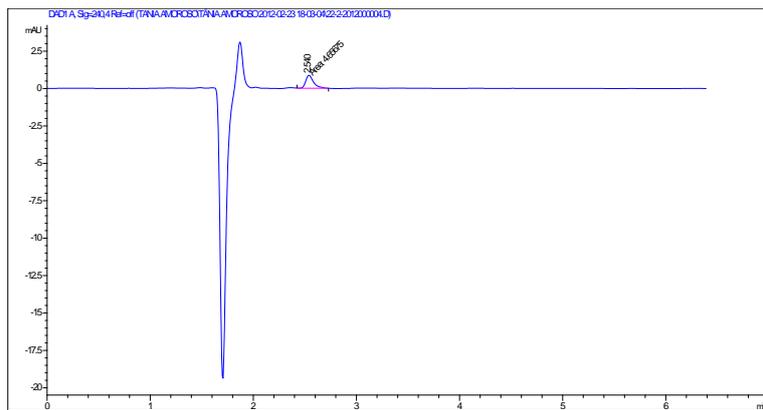


Figura 27. Cromatograma da Fase móvel.

Como se pode verificar nos cromatogramas obtidos nas figuras 25-27, não se observaram interferentes, pelo que decidi utilizar-se água como líquido receptor. Para além de ser o principal constituinte de uma amostra de sangue/plasma, é também mais fácil de obter desde o ponto de vista laboratorial quando comparado com outros líquidos receptores.

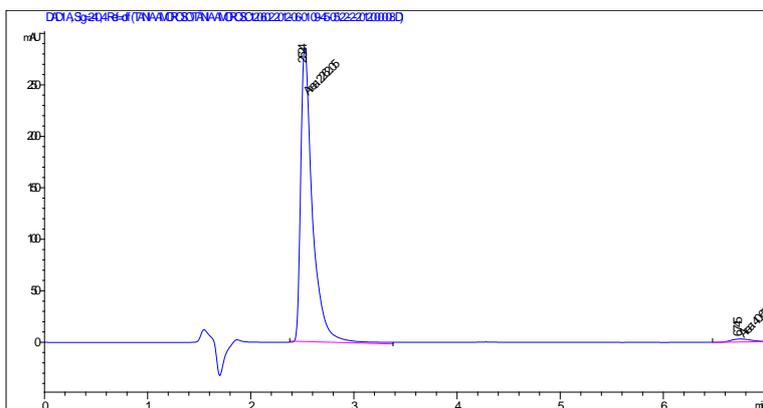


Figura 28. Cromatograma do TC na concentração de 2,5 mg/mL.

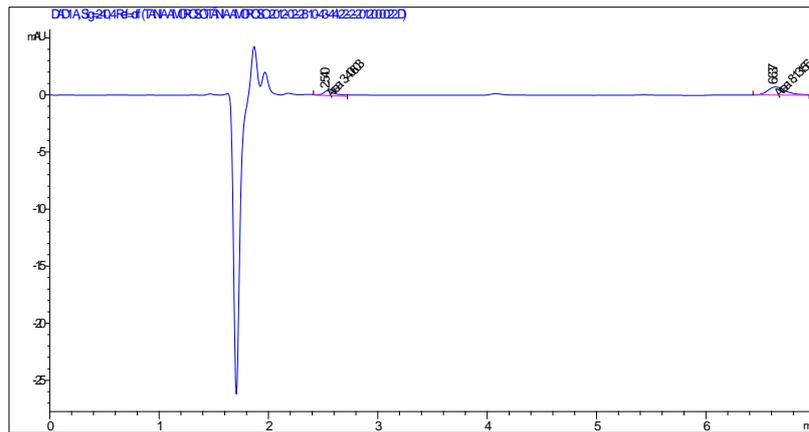


Figura 29. Cromatograma do TC na concentração de 10 µg/mL.

2.1.2.2. Curva de Calibração e Linearidade

O parâmetro linearidade refere-se a capacidade de um método analítico produzir resultados que sejam directamente proporcionais à concentração do analito, numa determinada faixa de concentrações. A faixa linear de um método é definida como o intervalo entre os níveis inferior e superior de concentração do analito no qual foi demonstrado ser possível a determinação com precisão, exactidão e linearidade exigidas sob as condições especificadas para o ensaio.

A curva de calibração traduz a relação que existe entre a resposta do equipamento e as concentrações conhecidas do analito.

As seguintes condições devem ser respeitadas no desenvolvimento de uma curva de calibração:

- 20% de desvio padrão e $\pm 20\%$ de erro relativo médio (*bias*) no limite inferior de quantificação (LLOQ) da concentração nominal;
- 15% de desvio padrão e $\pm 15\%$ de erro relativo médio (*bias*) para os restantes calibradores da concentração nominal. ^[50]

Pelo menos 4 dos 6 padrões não zero devem cumprir os critérios acima descritos, incluindo o LLOQ e o padrão de calibração com a concentração mais elevada. ^[48]

No presente trabalho surgiu a necessidade de se realizarem duas curvas de calibração, uma a concentrações baixas e outra a concentrações altas. Esta necessidade advém do facto da realização de um ensaio de libertação com algumas formulações depilatórias em que se pretende é que o TC se liberte praticamente na sua totalidade, para exercer o efeito desejado. Assim, o cálculo dos valores obtidos neste ensaio é realizado utilizando a curva de concentrações mais altas. O outro ensaio realizado foi um ensaio de permeação em que o

objectivo é que a molécula depilatória de TC não passe para a circulação sistémica. Desta forma este ensaio é realizado com uma curva de concentração de valores inferiores em que a concentração mínima corresponde ao limite de detecção do TC na metodologia desenvolvida de forma a que por mais que seja mínima a quantidade que passe a circulação, esta seja possível de detectar.

A curva de calibração a concentrações altas (relação de áreas entre o pico do analito vs concentração do analito) foi estabelecida no intervalo de concentrações entre 0,1251 e 2,5 mg/mL. O volume final de amostra foi de 200 µL. Foram então preparados 6 calibradores distribuídos uniformemente entre este intervalo, sendo que as concentrações estudadas foram de 0,125; 0,325; 0,625; 1,25; 1,875 e 2,5 mg/mL. Cada calibrador foi quantificado na curva de calibração obtida para o cálculo do *bias* (equação 3).

$$bias = \frac{\text{Concentração calculada} - \text{concentração teórica}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (3)$$

As curvas de calibração foram então obtidas por recurso à regressão linear e, com base nestas, os valores de concentração foram calculados por interpolação, estando os resultados sumariados na tabela 11 e a representação da curva na figura 30.

Tabela 11. Dados obtidos para a realização da curva de calibração de concentrações superiores.

Áreas Tioglicolato										
Concentração (mg/mL)	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Média	S.D.	CV (%)	Quantificação (mg/mL)	bias (%)
0,125	58,392	56,6	57,8	58,3	58,5	57,9184	0,784279	1,35	0,14	12,93
0,325	132,7	134	134,4	134,7	135,6	134,28	1,061603	0,79	0,31	-3,47
0,625	274,3	277,1	254,4	267,9	269,2	268,58	8,76396	3,26	0,62	-1,24
1,25	542	550,9	552,5	526,9	547,3	543,92	10,33354	1,90	1,24	-0,84
1,875	830,8	837,3	836,9	833	836,7	834,94	2,890156	0,35	1,90	1,18
2,5	1110,2	1101,3	1090,7	1098	1089	1097,84	8,571639	0,78	2,49	-0,35

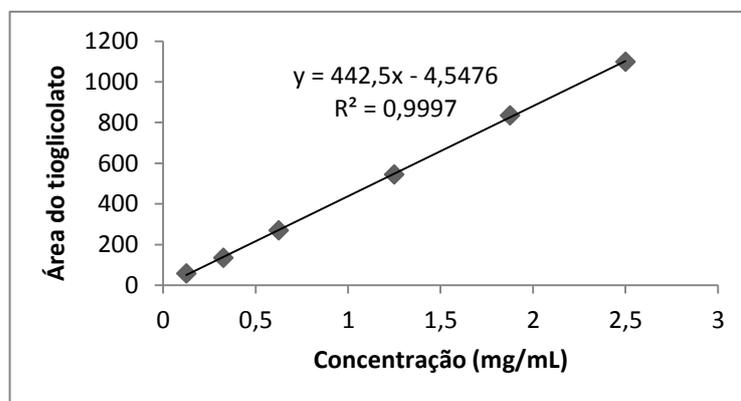


Figura 30. Curva de calibração a valores de concentração mais altos.

A curva de calibração a concentrações baixas foi estabelecida no intervalo de concentrações entre 1 e 10 µg/mL. O volume final de amostra foi igualmente de 200 µL. Foram então preparados da mesma forma 6 calibradores distribuídos uniformemente entre este intervalo, sendo que as concentrações estudadas foram de 1; 1,2; 2; 4; 8 e 10 µg/mL. Cada calibrador foi quantificado na curva de calibração obtida para o cálculo do erro médio relativo (*bias*). Estando os resultados sumariados na tabela 12 e a representação da curva na figura 31.

Tabela 12. Dados obtidos para a realização da curva de calibração de concentrações baixas.

Áreas Tioglicolato										
Concentração (µg/mL)	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Média	S.D	CV (%)	Quantificação (µg/mL)	bias (%)
1	0,2449	0,2316	0,2632	0,2316	0,2632	0,2469	0,015839508	6,4	1,01	1,12
1,2	0,3882	0,3799	0,38494	0,3858	0,37494 6	0,382758	0,005311591	1,4	1,33	11,14
2	0,60177 1	0,53297 9	0,6367	0,53179	0,62767	0,586182	0,050757729	8,7	1,82	-9,17
4	1,45982	1,57465	1,52584	1,5165	1,4984	1,515042	0,041827807	2,8	4,02	0,55
8	3,11041	3,4495	3,15472	3,1459	3,15472	3,20305	0,138976142	4,3	8,03	0,37
10	3,9133	4,09625	3,966	3,99625	4,166	4,02756	0,102114209	2,5	9,99	-0,13

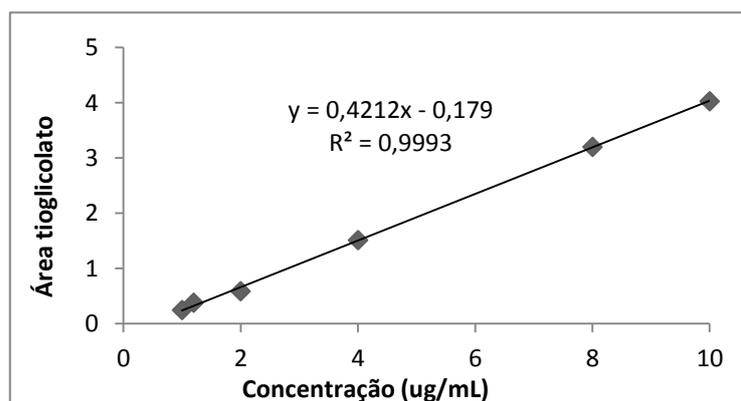


Figura 31. Curva de calibração a valores de concentração mais altos.

Pode-se concluir, que o método descrito é linear nas gamas de trabalho utilizadas para o composto em estudo, uma vez que a análise da regressão linear ponderada mostrou valores de coeficiente de determinação (R^2) superiores a 0,99. O *bias* é considerado adequado, estando dentro do intervalo de $\pm 15\%$ da concentração nominal para todas as concentrações, excepto para o LLOQ para o qual se aceitaram $\pm 20\%$.^[48]

2.1.2.3. Limites de Quantificação e Detecção

O limite de detecção (LOD) de um método analítico é definido como a mais baixa concentração de analito presente numa amostra, claramente distinguível do branco, que pode

ser detectada mas não necessariamente quantificada com um valor exacto. O LLOQ define-se como a mais baixa concentração de analito presente numa amostra que pode ser medida com uma precisão e exactidão aceitáveis, ou seja, com um coeficiente de variação inferior (CV) a 20% e *bias* num intervalo de $\pm 20\%$ da concentração nominal. [48,49]

No que diz respeito aos LLOQ, estes foram considerados como a concentração mais baixa da curva de calibração, de acordo com os critérios anteriormente referidos. Para o ensaio de libertação o LOQ foi 0,125 mg/mL e para o ensaio de permeação foi 1 $\mu\text{g/mL}$.

Para a determinação do LOD foram analisadas seis réplicas para a concentração de 1 $\mu\text{g/mL}$ verificando-se se era possível identificar os analitos (figura 32). Os CV obtidos foram inferiores a 15%.

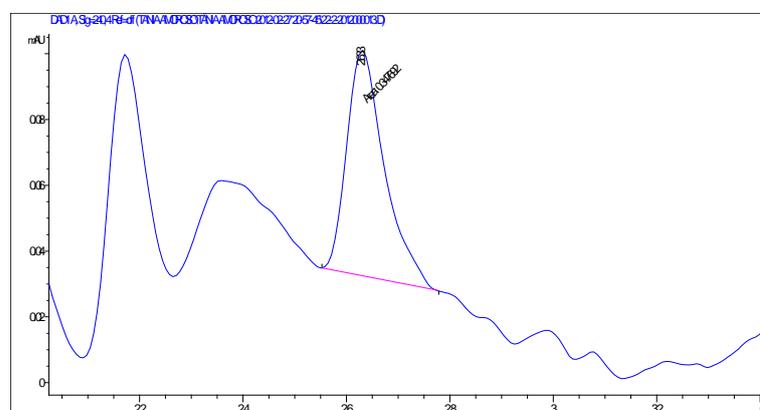


Figura 32. Cromatograma de TC a 1 $\mu\text{g/mL}$.

2.1.2.4. Precisão e Exactidão

A precisão de um método analítico descreve o grau de concordância de resultados individuais de um analito quando o procedimento é aplicado repetidamente a múltiplas alíquotas de uma matriz, sendo normalmente expressa em termos de CV. [48]

Para avaliar a precisão existem duas medidas, a repetibilidade (ou precisão intradia) e reprodutibilidade (ou precisão interdia). A primeira é aquela na qual o método analítico é executado nas mesmas condições experimentais durante um período de tempo reduzido. A precisão interdia obtém-se quando vários factores (e.g. operador, dia, lote) são diversificados durante a execução do método.

Para determinar a precisão intradia da curva de concentrações superiores, foram preparadas e analisadas no mesmo dia, seis réplicas de amostras com o analito em estudo as concentrações de 0,125, 1,25 e 2,5 mg/mL, os resultados obtidos encontram-se na tabela 13.

Tabela 13. Resultados obtidos no ensaio intradia da curva de concentrações superiores.

Precisão e Exactidão Intradia Curva de Concentrações Superiores							
Concentração (mg/mL)	Áreas	Média	S.D.	CV (%)	Quantificação (mg/mL)	bias (%)	
0,125	58,392	58,132	5,37232	9,24	0,14	13,32	
0,125	55,8						
0,125	58,6						
0,125	49,9						
0,125	66,4						
0,125	59,7						
1,25	542	544,15	7,011063	1,29	1,24	-0,80	
1,25	533,3						
1,25	540,2						
1,25	551,9						
1,25	550,4						
1,25	547,1						
2,5	1110,2	1104,917	12,29999	1,11	2,51	0,29	
2,5	1097,6						
2,5	1124,6						
2,5	1090,9						
2,5	1109,6						
2,5	1096,6						

Para determinar a precisão intradia da curva de concentrações inferiores, foram preparadas e analisadas no mesmo dia, seis réplicas de amostras com o analito em estudo as concentrações de 4 e 10 µg/mL, os resultados obtidos encontram-se na tabela 14.

Tabela 14. Resultados obtidos no ensaio intradia da curva de concentrações inferiores.

Precisão e Exactidão Intradia Curva de Concentrações Inferiores							
Concentração (ug/mL)	Áreas	Média	S.D	C.V. (%)	Quantificação (ug/mL)	bias (%)	
4	0,9032	0,886272	0,059951	6,76	3,40	-15,04	
4	0,9084						
4	0,9508						
4	0,8796						
4	0,78936						
10	2,1379	1,96872	0,099888	5,07	8,86	-11,40	
10	1,9685						
10	1,9355						
10	1,9229						
10	1,8788						

Os CV obtidos na precisão intradia foram inferiores a 7% para todas as concentrações; quanto à exactidão, os valores de *bias* situaram-se dentro de um intervalo de $\pm 16\%$ da concentração nominal. Estão estes valores dentro dos critérios estabelecidos pelas *guidelines* internacionais.^[48,49]

Para o cálculo da precisão interdia na curva de concentrações superiores, foram preparadas e analisadas em dias diferentes, amostras com o analito em estudo nas concentrações de 0,125, 1,25 e 2,5 mg/mL, os resultados obtidos estão resumidos na tabela 15.

Para determinar a precisão interdia da curva de concentrações inferiores, foram preparadas e analisadas em dias diferentes, amostras com o analito em estudo nas concentrações de 1, 4 e 10 µg/mL, os resultados obtidos estão resumidos na tabela 16.

Tabela 15. Resultados obtidos no ensaio interdia da curva de concentrações superiores.

Precisão e Exactidão Interdia Curva de Concentrações Superiores										
Concentração (mg/mL)	área (dia1)	área (dia2)	área (dia3)	área (dia4)	área (dia5)	Média	S.D.	CV (%)	Quantificação (mg/mL)	bias (%)
0,125	58,392	56,6	57,8	58,3	58,5	57,9184	0,784279	1,35	0,14	12,93
1,25	542	550,9	552,5	526,9	547,3	543,92	10,33354	1,90	1,24	-0,84
2,5	1110,2	1101,3	1090,7	1098	1089	1097,84	8,571639	0,78	2,49	-0,35

Tabela 16. Resultados obtidos no ensaio interdia da curva de concentrações inferiores.

Precisão e Exactidão Interdia Curva de Concentrações Inferiores										
Concentração (µg/mL)	área (dia1)	área (dia2)	área (dia3)	área (dia4)	área (dia5)	Média	S.D.	CV	Quantificação (ug/mL)	Bias
1	0,2449	0,2316	0,2632	0,2316	0,2632	0,2469	0,01584	6,4	1,01	1,12
4	1,45982	1,57465	1,52584	1,5165	1,4984	1,515042	0,041828	2,8	4,02	0,55
10	3,9133	4,09625	3,966	3,99625	4,166	4,02756	0,102114	2,5	9,99	0,13

Os CV obtidos na precisão interdia foram inferiores a 7% para todas as concentrações; quanto à exactidão, os valores de bias situaram-se dentro de um intervalo de $\pm 13\%$ da concentração nominal. Estão estes valores dentro dos critérios estabelecidos pelas guidelines internacionais. [48,49]

2.1.3. Estabilidade do Tioglicolato de Cálcio

Foi verificado o aparecimento de um pico a tR de 6,6 minutos presente no cromatograma do TC. Segundo a informação sobre as propriedades físico-químicas desta molécula descritas no ponto 3.2, onde se refere que o TC é sensível a oxidação, suspeita-se da formação de um dímero que é detectado pelo aparelho de UPLC/DAD ao tR de 6,6 minutos. De forma a confirmar este pressuposto realizou-se uma injeção no aparelho de uma amostra fresca de TC, e de uma amostra de 15 dias exposta a temperatura ambiente. Os resultados obtidos podem ser observados nas figuras 33, 34 e 35.

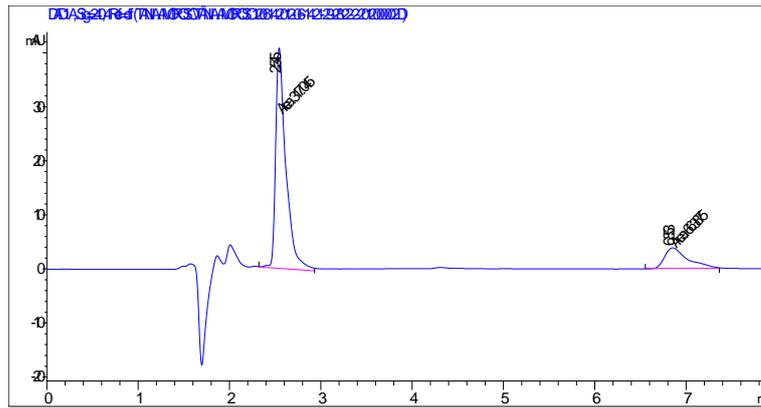


Figura 33. Cromatograma de um padrão de TC em água a 1 mg/mL preparado no momento.

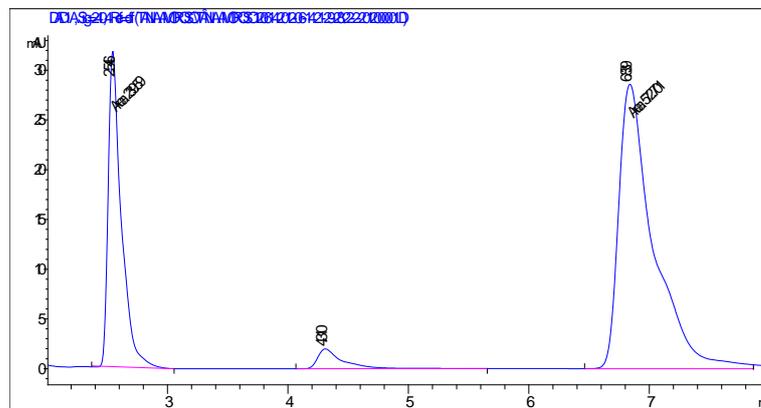


Figura 34. Cromatograma de um padrão de TC em água a 1 mg/mL após 15 dias a temperatura ambiente. Concentração final é de 0,75 mg/mL.

Através da sobreposição de cromatogramas do pico ao tempo de retenção de 6,6 minutos, observamos em azul a solução após 15 dias de armazenamento e a vermelho a solução preparada no momento (figura 35). Pelo que podemos concluir que quanto maior o tempo e a exposição do TC ao ar, maior a oxidação deste composto, com consequente aumento da área do pico a tR de 6,6 minutos.

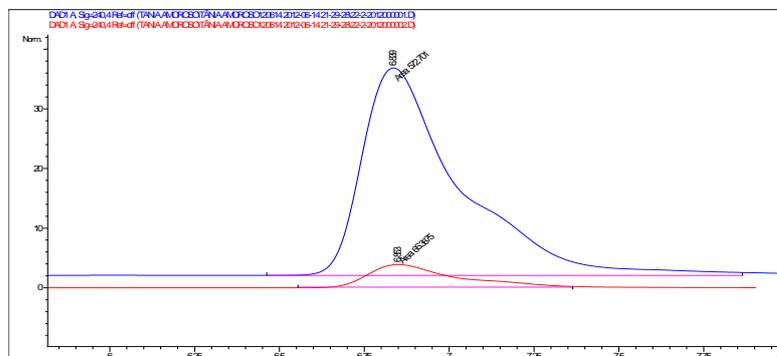


Figura 35. *Overlay* do pico ao tR de 6,6 minutos.

É conhecida a instabilidade do TC e que o mesmo em contacto com o oxigénio e com o anidrido carbónico da atmosfera, tem a tendência para sofrer oxidação do tiol levando à formação do ácido ditioglicólico, à perda da sua alcalinidade, e consequentemente à perda da sua eficácia. ^[1]

2.2. Estudos de Libertação e Permeação *in vitro*

2.2.1. Resultados Obtidos no Ensaio de Libertação

Tal como referido nos pontos 1.5.7.2 e 1.5.7.4 as amostras recolhidas a diferentes tempos foram analisadas em UPLC/DAD com a mesma fase móvel e as mesmas condições usadas no doseamento do TC. O tratamento dos resultados foi feito recorrendo ao programa informático Microsoft Office Excel 2010[®].

- **Ensaio formulação F2 e F4**

Nas células 1, 2 e 3 realizou-se o ensaio para a formulação F2 e nas células 4,5 e 6 o ensaio de libertação para a formulação F4. Os tempos de recolha da amostra foram: t0-0 min; t1-5 min; t2-10 min; t3-15 min; t4-30 min; t5-45 min.

Nestas formulações não foi possível quantificar a quantidade de TC libertado uma vez que nos cromatogramas não se observou a molécula de tioglicolato. Mas foi observado um pico aos 6,6 min, como tal foi monitorizado o sinal desse pico aos diferentes tempos, figura 36 e 37.

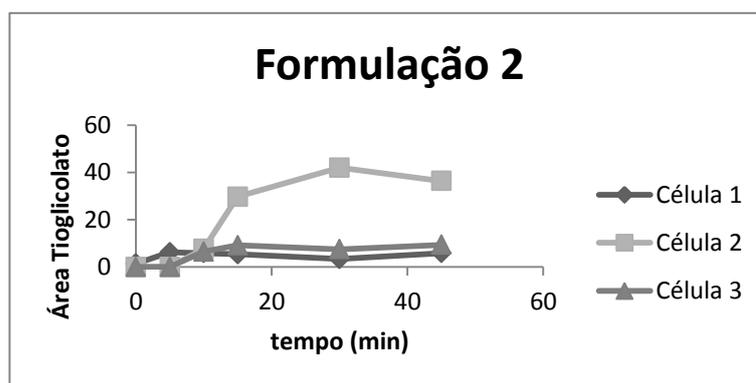


Figura 36. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 2.

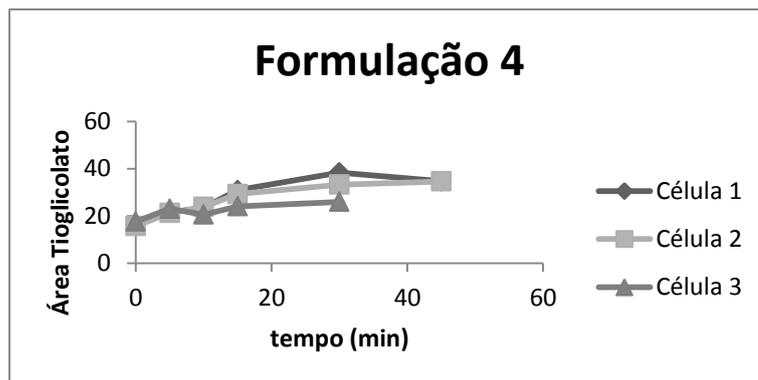


Figura 37. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 4.

O aparecimento do pico aos 6,6 min leva-nos a concluir mais uma vez que o TC sofre oxidação. Tal como foi referido no anteriormente o TC em contacto com o oxigénio e com o anidrido carbónico da atmosfera, tem a tendência para sofrer oxidação do tiol levando à formação do ácido ditioglicólico. Na figura 38 e 39 podemos observar um cromatograma da formulação 2 e da formulação 4 ao tR de 6,6 minutos, respectivamente.

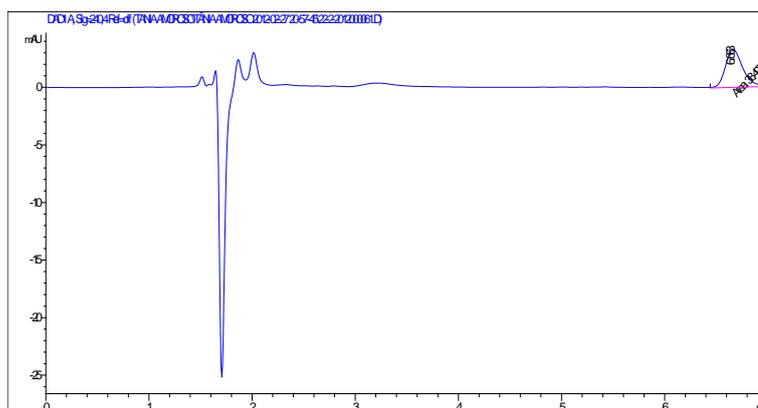


Figura 38. Cromatograma da formulação 2 a t4 (30 minutos). Área do pico ao tR de 6,6 minutos foi de 38,4.

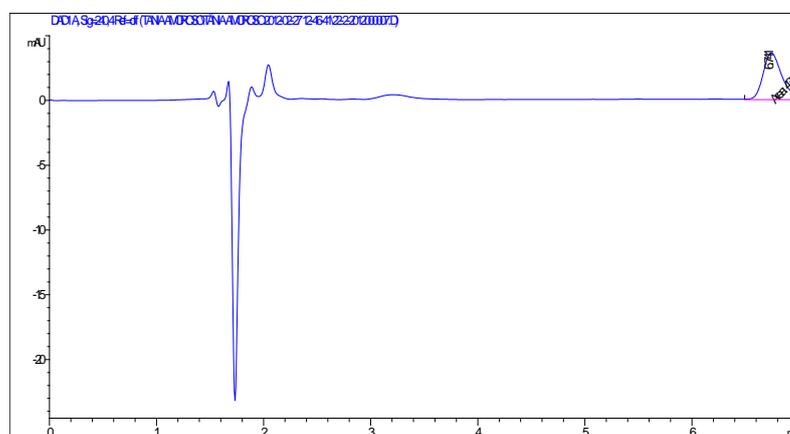


Figura 39. Cromatograma da formulação 4 a t4 (30 minutos). Área do pico ao tR de 6,6 foi de 42,0.

- **Ensaio formulação F6, F7 e F8**

Nas células 1, 2 e 3 realizou-se o ensaio para a formulação F6, nas células 4,5 e 6 o ensaio de libertação para a formulação F7 e nas células 7,8 e 9 para a formulação F8. Os tempos de recolha da amostra foram: t0-0 min; t1-5 min; t2-10 min; t3-15 min; t4-30 min; t5-45 e t6- 60 min.

Os resultados obtidos estão representados nas figuras 40, 41 e 42.

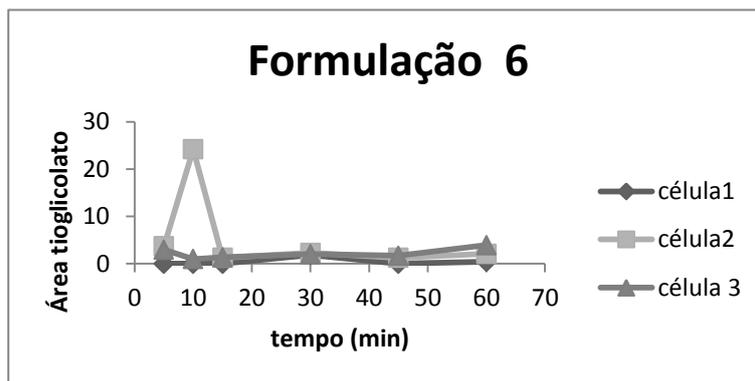


Figura 40. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 6.

O comportamento de libertação do TC da formulação 6 nas três células não foi homogêneo pelo que foi descartada esta formulação como formulação final do composto. Por outro lado na célula número 1 não foi possível quantificar o TC até aos 45 minutos. Nesta formulação também foi observado o pico aos 6,6 min.

As formulações 7 e 8 foram realizadas no sentido de prevenir a oxidação do TC, onde se adicionou um antioxidante, diferente em cada formulação. Na formulação 7 adicionou-se ácido cítrico e na formulação 8 EDTA. Ao estudar o perfil de libertação podemos concluir qual o mais efectivo.

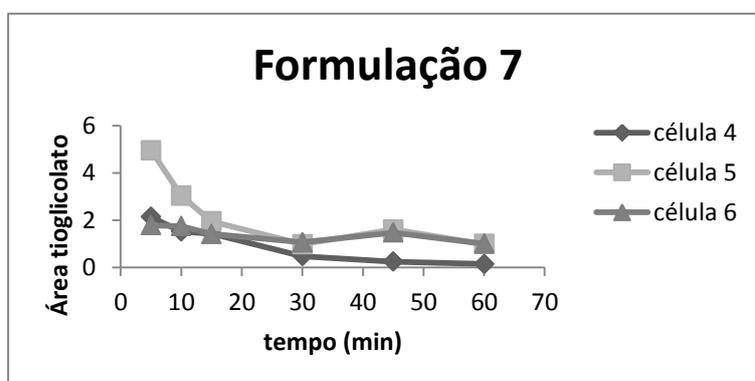


Figura 41. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 7.

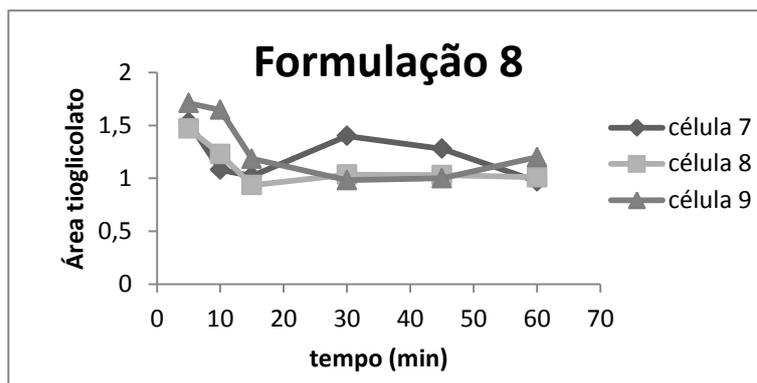


Figura 42. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 8.

Em ambas as formulações observamos que aos 5 minutos o TC se liberta sendo o tempo que se observa maior quantidade libertada. No entanto as concentrações libertadas detectadas nas duas formulações são baixas (inferiores a 15 µg/mL) (figura 43 e 44).

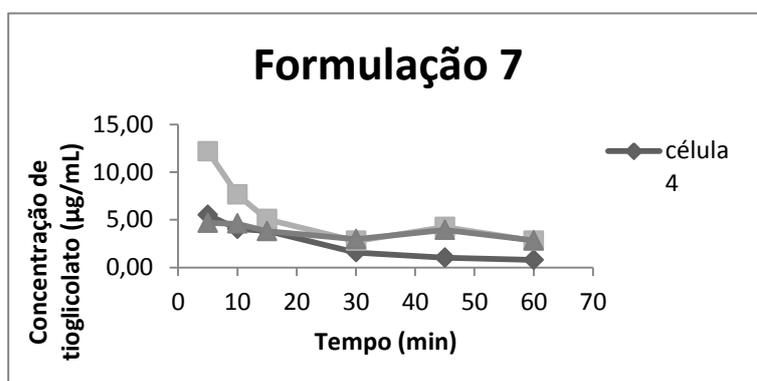


Figura 43. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 7. Comparação da concentração de tioglicolato libertada da formulação *versus* tempo.

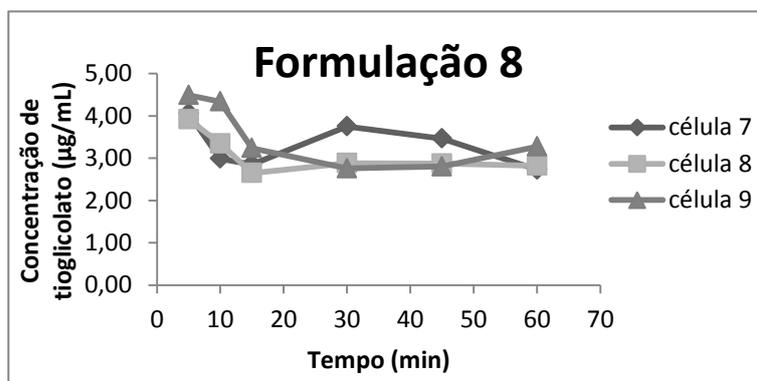


Figura 44. Gráfico dos resultados do ensaio de libertação para a formulação 8. Comparação da concentração de tioglicolato libertada da formulação *versus* tempo.

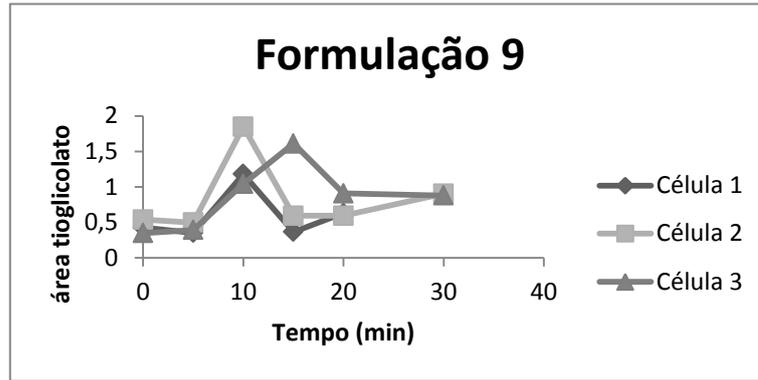


Figura 47. Gráfico dos resultados do ensaio de liberação para a formulação 9.

Nesta formulação observamos que aos 10 minutos um aumento da área do tioglicolato, sendo este o tempo em que se observa maior quantidade libertada de TC (figura 48).

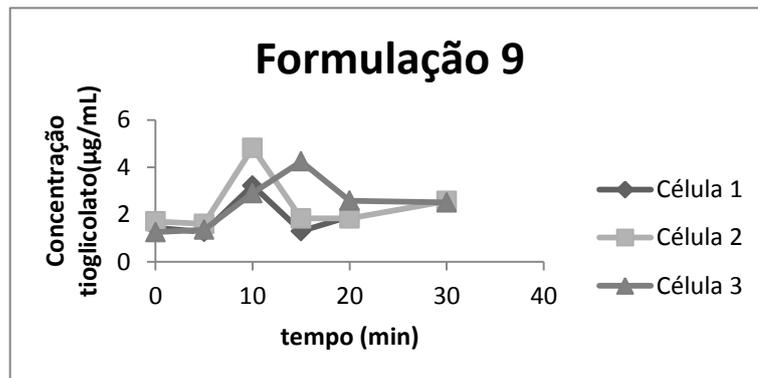


Figura 48. Gráfico dos resultados do ensaio de liberação para a formulação 9. Comparação da concentração de tioglicolato libertada da formulação *versus* tempo.

Contudo as concentrações libertadas continuam a ser baixas (na ordem de 5 µg/mL). Podemos assim concluir que esta formulação é a que apresenta um melhor perfil de liberação, porém esta formulação continua a oxidar-se tal como podemos ver pelo seguinte cromatograma (figura 49).

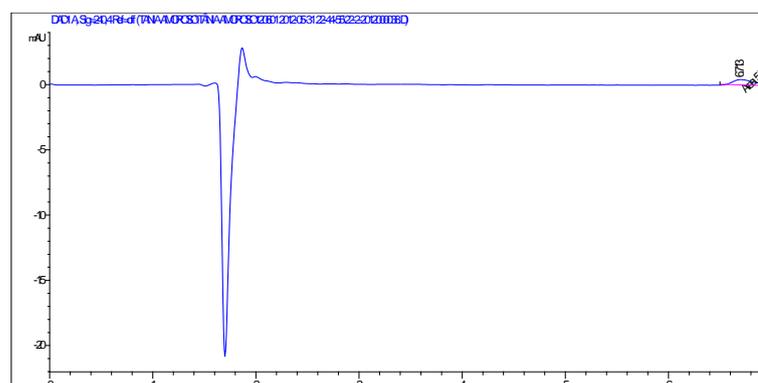


Figura 49. Cromatograma formulação 9 a t5 (30 minutos). Área do pico ao tR de 6,6 foi de 5,54.

Através da observação e análise dos cromatogramas das formulações 2, 4, 6, 7, 8 e 9 aos 30 minutos, apresentados anteriormente, e comparando a área do pico ao 6,6 minutos, podemos observar que as formulações 2 e 4 que não possuem na sua composição um antioxidante, apresentam áreas superiores à formulação 7, o que nos permite concluir que nesta última formulação o ácido cítrico permitiu que não ocorresse uma total oxidação do TC (área do pico aos 6,6 minutos a t4 para a formulação 7 é menor).

A formulação 8 é a que apresenta uma área superior a esse tempo, num total de 48,5, o que nos leva a pensar que o ácido ascórbico, agente utilizado nesta formulação, tem um poder antioxidante inferior ao ácido cítrico.

Relativamente à formulação 9, esta é a que apresenta uma área menor pelo que podemos concluir que o BHT é o agente que exerce uma maior protecção do TC contra a oxidação. Esta formulação mostra várias vantagens em relação às anteriores. Assim, consideramos a formulação 9 como uma futura possível formulação final, pelo que procedeu-se a analisar a segurança desta através da realização de um ensaio de permeação e de citotoxicidade na tentativa de traçar um perfil da mesma.

2.2.2. Resultados Obtidos no Ensaio de Permeação

Este ensaio foi realizado em 3 células (célula 1, 2 e 3) onde se coloca o HD no compartimento dador. Os tempos de recolha da amostra foram: t0-0 min; t1-15 min; t2-30 min; t3-1h; t4-1h e 30min e t5-2h.

Para a realização deste estudo usou-se a curva de calibração a concentrações mais baixas em que a concentração mínima desta curva corresponde ao limite de detecção (1 µg/mL) de forma a garantir que mesmo que uma quantidade mínima de tioglicolato atravessasse a pele de porco se consiga detectar. Os resultados obtidos estão ilustrados nas figuras 50 e 51, em que através da análise dos cromatogramas não se conseguiu observar a presença de uma área de TC, o que nos permite concluir que este não sofre permeação e não passa para a circulação sistémica.

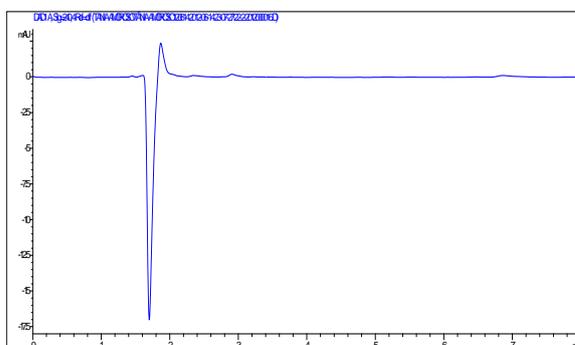


Figura 50. Cromatograma dos resultados obtidos no ensaio de permeação (t-1) em que não se observa a área do TC (tR de 2,5 minutos).

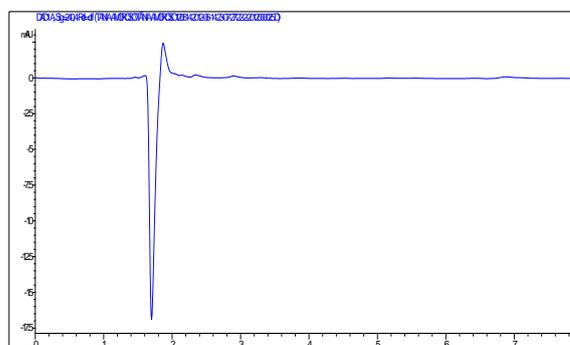


Figura 51. Cromatograma dos resultados obtidos no ensaio de permeação (t-5) em que não se observa a área do TC (tR de 2,5 minutos).

2.3. Avaliação da Citotoxicidade do Tioglicolato de Cálcio e do Hidrogel Depilatório através do Ensaio MTT

2.3.1. Resultados Obtidos

Os resultados obtidos foram expressos em média \pm desvio padrão, e para a análise dos mesmos foi utilizado o Microsoft Office Excel 2010®, aplicando o teste estatístico *t-student*. Consideraram-se diferenças estatisticamente significativas aquelas cujo $p < 0,05$.

O teste *t-student* foi aplicado para comparar os resultados de 2 formas distintas:

- Comparação entre a resposta de viabilidade celular obtida pelo controlo e pelos compostos de interesse;
- Comparação da viabilidade celular obtida pelas mesmas concentrações de compostos em diferentes ensaios;

2.3.1.1. Ensaio de Toxicidade do Tioglicolato de Cálcio

Os resultados obtidos neste ensaio estão apresentados na figura 52.

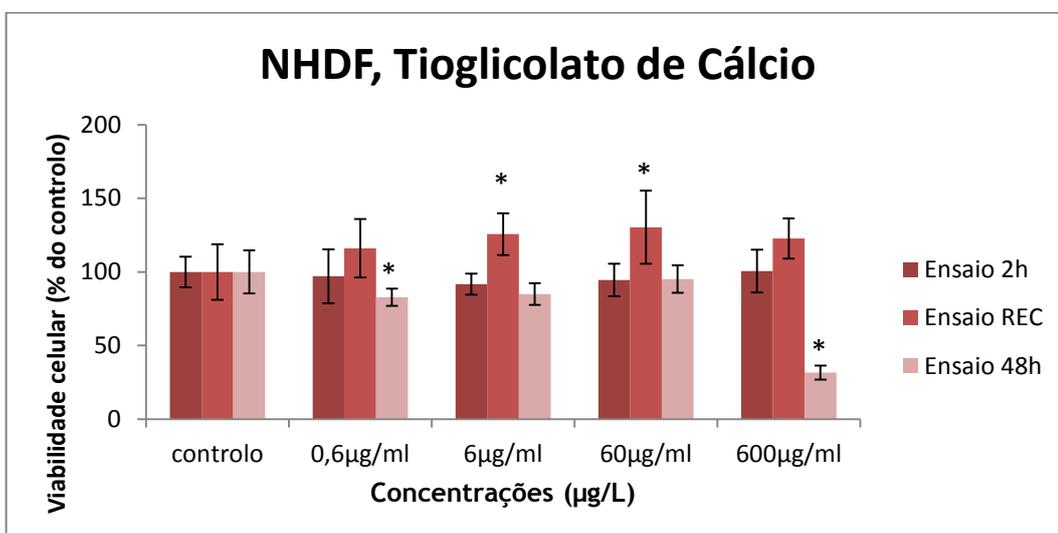


Figura 52. Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o TC; Os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos no ensaio controlo ($p < 0,05$).

No ensaio de 2 horas de exposição ao TC verificou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) em todas as concentrações testadas. Neste ensaio, e nestas condições, o composto não parece ser tóxico.

No estudo procedeu-se também à avaliação da recuperação celular após 2 horas de exposição ao composto em estudo. Neste ensaio de recuperação observa-se um aumento da proliferação celular (com estatística significativa) em duas concentrações (6 µg/mL e 60 µg/mL) do composto estudado. De notar que ocorre sempre uma tendência para um aumento da viabilidade celular relativa após recuperação nas concentrações estudadas. Assim, o TC parece estimular a proliferação destas células nestas condições, em comparação com o controlo. Este resultado evidencia que, apesar de parecer que no estudo de 2 horas de exposição não há toxicidade, isso pode não ser verdade. Ou seja, pode ocorrer alguma alteração celular induzida por este composto que se reflecte no efeito verificado.

Após 48h de exposição ao TC na concentração de 600 µg/mL também se observa uma variabilidade na resposta celular. Na concentração de 0,6 µg/mL verifica-se uma redução estatisticamente significativa da viabilidade celular que, contudo, não faz sentido ocorrer dado tratar-se da concentração mais baixa, o que nos indica que podemos estar na presença de um *outlier*. Neste ensaio para a concentração máxima de TC observou-se citotoxicidade. Este dano provocado nas células poderá ser devido a alterações de pH do meio causadas pelo TC ou pela interacção deste composto com algum componente presente no meio de cultura ou mesmo na célula.

2.3.1.2. Ensaio de Toxicidade do Hidrogel Depilatório

Os resultados obtidos neste ensaio estão representados na figura 53.

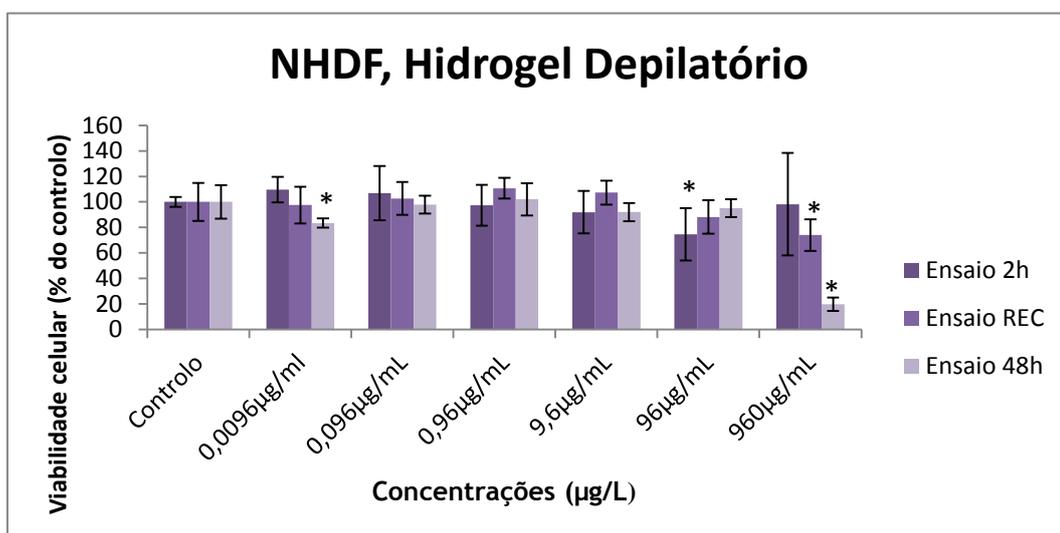


Figura 53. Gráfico representativo dos resultados obtidos na aplicação dos ensaios para o HD; Os valores assinalados com * apresentam diferenças significativas relativamente aos resultados obtidos pelo ensaio controlo ($p < 0,05$).

Como foi evidenciado pelo gráfico, no ensaio MTT efectuado após 2 horas de exposição ao HD, apenas para a concentração de 96 µg/mL se verificou uma redução estatisticamente significativa da viabilidade celular mas a qual pode não ser conclusiva e tratar-se de um erro, já que nas restantes concentrações não foram verificadas diferenças significativas na viabilidade celular dos fibroblastos. Estes resultados indicam que a exposição dos fibroblastos, por 2 horas ao HD, não teve efeito marcado na proliferação destas células.

No ensaio de exposição ao HD seguido de recuperação celular, na última concentração estudada observa-se uma redução da viabilidade celular. Assim, após a exposição das células ao HD nesta concentração não ocorreu uma total recuperação destas. Este resultado pode ter ocorrido devido à formação de um precipitado no meio de cultura. Para as concentrações de 0,96 µg/mL e de 9,6 µg/mL ocorre um aumento, embora não significativo, da recuperação celular, que leva a suspeitar que algum constituinte presente no HD pode levar a esta tendência de estímulo de crescimento celular. Uma possibilidade a considerar é o próprio TC, como se pode observar nos resultados acima descritos; outra possibilidade poderá ser a acção do antioxidante que está presente na formulação do HD.

Nos resultados do teste de 48 horas de exposição ao HD observa-se uma acção citotóxica acentuada na concentração máxima. Também se observa diferença significativa na concentração de 0,0096 µg/mL (em que também ocorre uma diminuição da viabilidade celular relativamente ao controlo), embora na concentração mais elevada, 960 µg/mL, esta diminuição seja mais marcada. Nas restantes concentrações não se verificam diferenças significativas. À semelhança do que se verificou no ensaio da 48 horas para o TC, na concentração mais elevada e nas condições experimentais do ensaio, começam a observar-se efeitos nocivos para as células.

Os valores observados para o ensaio do TC e do HD mostram não existirem grandes diferenças ao nível dos seus efeitos na viabilidade celular nas concentrações estudadas e condições experimentais em causa. Apesar dos agentes depilatórios exercerem a sua acção nos folículos pilosos presentes na epiderme, e os fibroblastos fazerem parte de uma camada mais profunda da pele, a derme, nada garante que ao usar estes agentes não ocorra alguma passagem da molécula depilatória até a essa camada mais profunda. Assim, partindo do pressuposto que esta situação ocorre, o teste realizado neste trabalho dá-nos alguma segurança no uso da formulação 9, pois tratando-se de um HD, a sua aplicação nunca será efectuada por um longo período de tempo (inferior a 2 horas), mesmo neste período não se observou citotoxicidade). Podemos então depreender que a formulação 9 se pode considerar relativamente segura no tempo necessário para a sua acção. Contudo o seguinte alerta deve ser efectuado: o uso do TC por tempos mais prolongados que os da acção depilatória, que pode ser desde 5 a 30 minutos, deve ser evitado, pois já pode ter algum risco de toxicidade celular.

III. Conclusões

1. Foi desenvolvido um método rápido e simples para a determinação do TC por UPLC/DAD. Esta técnica revelou ser uma técnica promissora para a quantificação deste analito, devido à rapidez do aparecimento do pico do TC (tR de 2,5 minutos). O método demonstrou elevada sensibilidade devido ao baixo volume de amostra utilizada (200 µL). O método demonstrou ser selectivo, já que não foram detectados interferentes após análise de amostras de branco, tendo sido obtida uma resposta linear na gama de concentrações estudada. Os valores obtidos para a precisão e exactidão intra- e interdia estão em de acordo com os critérios de validação mencionados. O aparecimento de um 2º pico a tR de 6,6 minutos surge que possa ocorrer formação de um dímero devido a oxidação do TC quando exposto ao ar.

2. A determinação do perfil de libertação *in vitro* em células de Franz equipadas com membrana sintética mostrou-se um método adequado para avaliação do perfil de libertação do TC nas diferentes formulações em estudo. No geral, a formulação 9 apresentou maior libertação de TC quando comparado com as outras formulações. Esse comportamento foi atribuído a presença do BHT que permite que não ocorra a total oxidação do TC. Contudo foi verificado que a quantidade de TC libertada ao longo do tempo é baixa (na ordem de 5 µg/mL) sugerindo a hipótese que algum componente na formulação possa estar a limitar a libertação deste. Pelos resultados obtidos no ensaio de permeação foi verificado que o TC não atinge a circulação sistémica.

3. Através do estudo da resposta de culturas de fibroblastos NHDF ao TC e ao HD pode concluir-se que através da relação entre os valores de absorvância de MTT e a viabilidade celular, o TC e o HD ao fim de 48 horas diminuem a viabilidade celular nas concentrações mais elevadas. Os estudos de recuperação mostraram que, após o efeito directo dos compostos de interesse, ocorria uma tendência para aumento da viabilidade celular. Depreendemos, também, que o uso do HD no tempo necessário à sua acção (inferior a 2 horas) não deverá causar toxicidade celular marcada.

IV. Bibliografia Capítulo 2

1. L Prista, M Bahia, E Vilar. *Dermofarmácia e Cosmética*. Vol II, ANF 1995, pp. 479, 485-89.
2. M Tietjen, M Luciano. *Depilatory Composition*. United States Patent, 2002, pp.1.
3. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED). *Decreto de lei n.º 189/2008, de 24 de Setembro*. [online] [Citação: 30 Maio 2012]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/>
4. M Guardia. *Depilatory Formulation*. United States Patent, 1976, pp.2.
5. J Simmons. *Cosméticos: Formulación, Preparación y Aplicación*. 2000, pp.349-52
6. J Zemlin, K Bowler. *Depilatory Composition and Method of Use*. United States Patent, 1975.
7. P Juneja. *Depilatory Compositions*. United States Patent, 1986.
8. C Smith, S Hewlins, M Goffe, J Matts, P Smith. *Hair Removal Method and Hair Removal Kit*. United States Patent, 2011, pp.1,6.
9. J Wilinson, R Moew. *Cosmetología de Harry*. 1990, pp. 164-68.
10. R Borojevic, P Serricella. *Próteses Vivas de Pele Humana*. 1999, *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 1999; 2 (7): 16-17.
11. K Walters, M Roberts. *Dermatological and Transdermal Formulations*. 2002, Capítulo 1.
12. Imagem Representativa da Estrutura da pele. [online] [Citação 1 de Junho de 2012] Disponível em: <http://betaneamartins.com.br/?load=mod1&idm=105&tipo=2>
13. Imagem Representativa da Estrutura da epiderme. [online] [Citação 1 de Junho de 2012] Disponível em: <http://ltc.nutes.ufrj.br/toxicologia/ml1.pele.htm>
14. CS BemVindo. *Dissertação de Mestrado: Estudo Comparativo da Libertação e Penetração Cutânea de Nitrato de Miconazol de Emulsões Tópicas Comerciais*. 2006, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
15. A Barel, M Paye, H Maibach. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. 1ª edição, 1993, pp. 184-202.
16. M Barroso, E Gallardo, D Vieira, M Rivadulla, J Queiroz. *Hair: a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology*. *Bioanalysis* 2011, pp.67-68.
17. Imagem Representativa do Ciclo de Crescimento do Cabelo. [online] [Citação 1 de Junho de 2012] Disponível em: <http://www.pgbeautygroomingscience.com/the-hair-growth-cycle.php>
18. A Pozo. *Cosmetología Teórico Práctica*, Publicação do Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 1995, pp.340-41.
19. R Tapper. *Hair Removal Device and Method*. European patent. 2004, pp.2-3.
20. K Stoner, C Slife. *Shaving Preparation for Improved Shaving Comfort*. United States Patent, 1999.

21. **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. (INFARMED):** *Substâncias que não podem ser integradas na composição de produtos cosméticos e de higiene corporal e das substâncias cuja admissão permitida com restrições e condições.* Portaria n.º 1281/97, de 31 de Dezembro, 2001. [online] [Citação 3 de Junho de 2012] Disponível em: <http://www.infarmed.pt/>
22. **Prepared for NCI by Technical Resources International. Inc.** *Summary of Data for Chemical Selection Thioglycolic Acid, Salts and Esters.* [online] [Citação 3 de Junho de 2012] Disponível em: <http://ntp.niehs.nih.gov/>
23. **Ficha de Dados de Segurança e Informação Merck.** *Tioglicolato de cálcio tri-hidratado.* [online] [Citação 3 de Junho de 2012] Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/>
24. **EUROPEAN COMMISSION.** *The rules governing cosmetic products in the European Union: Notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation.* Vol III, 1999, Anexo 1, 2, 9 e 10.
25. **OECD: Test Guideline 428: Skin Absorption in vitro method.** [online] [citação 4 de Junho de 2012]. Disponível em: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-428-skin-absorption-in-vitro-method_9789264071087-en
26. **M. Marques.:** *Topical and Transdermal Drug Products.* Pharmacopeial Forum 2009; 35 (3):1-3;
27. **Imagem Representativa de uma Célula de Difusão de Franz.** [online] [Citação 5 de Junho de 2012] Disponível em: <http://www.permegear.com/franz.htm>
28. **C Mendonça, I Silva, K Rodrigues, M Campos, M Medeiros, V Casteli, M Ferrari, C Musis, S Machado.** *Emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%: avaliação da estabilidade acelerada e estudos de libertação in vitro.* Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada 2009; 30(1): pp. 35-46.
29. **Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS):** *guidelines for dermal/percutaneous absorption.* 7th revision, 2010, pp.32-34.
30. **J Thomas, M Franz.** *Percutaneous absorption on the relevance of in vitro data.* 1975, Journal of Investigative Dermatology 1975; 64: 190-195.
31. **E Eman, F Yakov, M Gillian, C Simon, M Victor.** *Transepidermal water loss for probing full-thickness skin barrier function: Correlation with tritiated water flux, sensitivity to punctures and diverse surfactant exposures.* Toxicology in vitro 2009; 23 (7): 1429-1430.
32. **B Valentin, M Mündlein, R Chabicovsky, J Nicolics.** *Thin Film Sensor for Transepidermal Water Loss Measurement - Calibration Method and Application to Human Skin..* Electronics Technology: Meeting the Challenges of Electronics Technology Progress 2005; (1): 64-68.
33. **V Zuang, M Alonso, P Botham, C Eskes, J Fentem, M Liebsch, J Sandt.** **EUROPEAN COMMISSION: Subgroup 2 Skin Irritation/Corrosion.** 1999, pp.3,18.
34. **SCCS: guidelines for Corrosivity and irritation.** 7th revision, 2010, pp.28-30.
35. **G Gstraunthaler.** *Alternatives to the use of fetal bovine serum: serum-free cell culture.* ALTEX 2003; 20 (4): 275-81.
36. **V Jacob.** *Dissertação de Mestrado: Estudo da influência da idade dos fibroblastos em cultura na resposta ao 17 β -estradiol.* 2011
37. **C Zouboulis.** *The human skin as a hormone target and an endocrine gland.* Hormones: international journal of endocrinology and metabolism. 2004; 3 (1); 9-26.

38. P Wang, S Henning, D Heber. *Limitations of MTT and MTS-Based Assays for Measurement of Antiproliferative Activity of Green Tea Polyphenols*. PLOS 2010; 5 (4): 2010, pp.1-2.
39. F Sarti, A Staaf, D Sakloetsakun, A Bernkop-Schnürch. *Thiolated hydroxyethylcellulose: Synthesis and in vitro evaluation*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2010; 76 (3): 421-427.
40. R Freshney. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*. 5ª edição, 2005, pp. 365
41. V Meerlooet, J Kaspers, J Cloos. *Cell sensitivity assays: the MTT assay*. Methods Mol Biol, 2011. 2009, pp. 731-745.
42. H Wan, R Williams, P Doherty, DF Williams. *A study of the reproducibility of the MTT test*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 1994; 5 (3): 154-159.
43. A Jaszczyszyn, K Gasiorowski. *Limitations of the MTT Assay in Cell Viability Testing*. Advances in clinical and experimental medicine. 2008, 1: 525-529.
44. P Brescia, P Banks. *Quantifying Cytotoxicity of Thiostrepton on Mesothelioma Cells using MTT Assay and the Epoch™ Microplate Spectrophotometer*. Tech Resources [online] [Citação 14 de Junho de 2012]. Disponível em: <http://www.biotek.com/resources/articles/quontification-cell-viability-epoch.html>
45. V Kassis. *Heat-Separation of Normal Human Skin for Epidermal and Dermal Prostaglandin Analysis*. Archives of Dermatological Research 1982; 273 (3-4):301-304.
46. Imagem Representativa da Câmara de Neubauer. [online] [Citação 14 de Junho de 2012] Disponível em: <http://www.laborimport.com.br/produtos/vidraria/camara-de-neubauer>.
47. OSHA: *Methods for Analysis Using ZORBAX HPLC Columns*. [online] [Citação 7 Junho de 2012] Disponível em: www.osha-slc.gov.
48. Food and Drug Administration. *Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation*. 2001. [Online] [Citação: 6 de Junho de 2012.] Disponível em: <http://www.fda.gov>.
49. International Conference on Harmonization (ICH). *Validation of analytical methods: Methodology ICH Q2 B*. [online]. 2005 [Citação 5 Junho 2012]. Disponível em: <http://www.ich.org>.
50. MC Chiaradia. *Tese de doutoramento: Desenvolvimento, Validação e Aplicação de Métodos para Análise Multiresidual de Agrotóxicos em suco de laranja e tangerina utilizando CLAE-DAD, CL-EM-EM e CLUE-DAD*. 2009, Departamento de Química Analítica, Instituto de Química). Universidade Estadual de Campinas.

| Anexos

Anexo 1 - Fatura da Encomenda



FACTURA - DUPLICADO

ARMAZEM CASTELO BRANCO Rota : 02
 Numero : 92A037180 Pag. : 1 / 6
 Data : 2012/05/28

1078

ALLIANCE HEALTHCARE, S.A.
 Sede Social:
 Rua Eng.ª Ferreira Dias, 728, 3.ª Piso Sul
 4149-014 PORTO PORTUGAL
 Contr: 502693150 C.R.C. 51991 Porto
 Capital Social EUR 2,500,000.00

FARMACIA REIS
 REGINA J REIS CARDOSO-FARMACIA UNIP.LDA
 R DR JOAO MOURATO GRAVE 156 R/C ESQ
 CASTELO BRANCO
 6000-241 CASTELO BRANCO, PORTUGAL
 Cliente Platina
 Cli FI: 6007
 Cli OP: 867 Cont. : 510104215
 MILENIO1 00:00, 12:15 Guia : 000047684
 NO-Normal

Armazem:
 Quelha do Barrocal 6000-128 CASTELO BRANCO
 Telef: 272321316 Fax: 272345967

Lin	Codigo	Designacao	Ped	Env	FVP	Preco	MG	%Desc	Tx.Cm	Pr.Liq.	Total	%I
Nr.Externo 3634												
A	1	5145164 DEFLAZACORTE MG 6MG 20CMP CIC	1	✓	3.93	2.66	PVA M1		.01	2.97	2.97	6
Nr.Externo 3635												
B	208	4237285 ACABELRAPID CMP X30	2	✓	9.37	6.37	PVA M2		.04	7.10	14.20	6
B	207	9727008 ACTILAM AMP BEB 10ML X20	1	✓	4.99	3.37	PVA M1		.02	3.77	3.77	6
B	206	7359992 ACUTILL.CAP X30	1	✓		9.04	F MN			9.04	9.04	# 23
B	205	8563379 ADALAT CR CMP 60MG X28	1	✓	14.90	10.30	PVA M4		.06	11.39	11.39	6
B	204	5663380 ADALGUR N CMP X30	1	✓	5.85	3.95	PVA M1		.02	4.41	4.41	6
D	203	7435040 ADVANTIX 400 CAES +25KG PIPETA	1	✓		13.40	F MN			13.40	13.40	# 6
B	202	3506888 AERIUS CMP REV 5MG X20	7	✓	7.19	4.86	PVA M1		.03	5.43	38.01	6
B	201	5034426 AERIUS SO 0.5MG/ML 150ML	1	✓	10.76	7.34	PVA M3		.04	8.16	8.16	6
B	200	5324637 ALIPZA CMP REV 4MG X28	1	✓	35.80	25.51	PVA M5		.13	27.99	27.99	6
B	196	2584282 ALPRAZOLAM MG 0.5MG 60CMP MYL	1	✓	3.53	2.39	PVA M1		.01	2.67	2.67	6
D	194	5087549 ALPRAZOLAM MG 1MG 60CMP LIB MO	1	✓	5.33	3.60	PVA M1		.02	4.02	4.02	6
D	197	5422183 ALPRAZOLAM MG GEN 60CMP 0.5MG	1	✓	3.53	2.39	PVA M1		.01	2.67	2.67	6
D	195	4184685 ALPRAZOLAM MG RAT 60CMP 1MG	1	✓	5.01	3.40	PVA M1		.02	3.78	3.78	6
D	198	9682328 ALPRAZOLAM PAZOLAM MG 60CMP 0.	1	✓	3.53	2.39	PVA M1		.01	2.67	2.67	6
B	193	5229158 AMISSULPRIDA MG 200MG 60CMP WY	1	✓	27.61	19.33	PVA M4		.10	21.36	21.36	6
B	192	5120274 AMLODIPINA MG 10MG 56CMF TEV	1	✓	15.81	10.92	PVA M4		.06	12.07	12.07	6
B	191	3045580 ASPIRINA GR CMP 100MG X30	1	✓	3.50	2.36	PVA M1		.01	2.63	2.63	6
B	189	9934604 ATARAX XRP 200ML	1	✓	2.75	1.86	PVA M1		.01	2.08	2.08	6
B	188	5809181 AULIN CMP 100MG X20	2	✓	4.70	3.17	PVA M1		.02	3.55	7.10	6
B	187	5115456 AXURA CMP REV 20MG X28	1	✓	86.56	67.28	PVA M6		.33	71.93	71.93	6
B	186	9524033 BAYCUTEN CRM 30G	1	✓	5.41	3.65	PVA M1		.02	4.08	4.08	6
B	185	8626507 BEN-U-RON XRP 200MG/5ML 85ML	3	✓	2.96	2.00	PVA M1		.01	2.23	6.69	6
B	184	3807682 BENDALINA COL 0.5% 7ML	1	✓	3.48	2.35	PVA M1		.01	2.62	2.62	6
B	181	4273793 BETAMOX PLUS 400 SPO 100ML	1	✓	8.40	5.70	PVA M2		.03	6.35	6.35	6
B	182	2869584 BETAMOX PLUS CMP REV 1G X16	1	✓	7.63	5.17	PVA M2		.03	5.76	5.76	6
B	180	8354951 BETASERC CMP 16MG X60	1	✓	8.40	5.70	PVA M2		.03	6.35	6.35	6
B	179	8184713 BETNOVATE CRM 30G	1	✓	3.06	2.07	PVA M1		.01	2.31	2.31	6
B	177	3198199 BLOPRESS CMP 16+12.5MG X56	1	✓	38.93	27.77	PVA M5		.15	30.47	30.47	6
B	178	5193032 BLOPRESS CMP 32/25MG X56	1	✓	49.85	35.81	PVA M5		.19	39.29	39.29	6
B	176	4537890 BROMALEX 40 COMP 3 MG	1	✓	2.95	1.99	PVA M1		.01	2.22	2.22	6
A	175	5550389 BRUFEN CMP 600MG X20	1	✓	4.62	3.12	PVA M1		.02	3.49	3.49	6
A	112	2087492 CALICIDA INDIANO PDA 5G	6	✓		2.26	F MN			2.26	13.56	# 6
A	173	8536771 CAPOTEN CMP 25MG X60	1	✓	10.00	6.80	PVA M2		.04	7.58	7.58	6
A	172	9452144 CASTILIMUM 30 COMP 20MG	1	✓	5.12	3.46	PVA M1		.02	3.87	3.87	6
A	171	9222109 CELESTONE GTS OR 30ML	1	✓	2.03	1.37	PVA M1		.01	1.53	1.53	6
A	170	6818831 CETRIDINE SO SPR 30ML	1	✓		2.65	F MN			2.65	2.65	# 23
C	169	9766105 CLAVAMOX DT CMP 875MG X16	2	✓	8.09	5.48	PVA M2		.03	6.10	12.20	6
C	168	9479501 CLONIX CAP 300MG X10	1	✓	5.12	3.46	PVA M1		.02	3.87	3.87	6
B	167	5003009 CLONIX CAP 300MG X20	1	✓	8.28	5.62	PVA M2		.03	6.26	6.26	6
C	161	2806289 COAPROVEL CMP 300/12.5MG X28	16	✓	21.95	15.32	PVA M4		.08	16.93	270.88	6
B	160	5039706 COMPETACT CMP 15/850MG X56	2	✓	40.63	29.02	PVA M5		.15	31.84	63.68	6
B	159	4261087 CONCERTA CMP RET 36MG X30	1	✓	54.02	38.93	PVA M5		.20	42.71	42.71	6
A transportar												

PROCESSADO POR COMPUTADOR

Cóp. 02



Anexo 2 - Nota de Crédito



DUPLICADO

Nota de Crédito - Standard

N.º 12040793 NC

24-05-2012

1

Documento Incluído em Resumo

N.º CLIENTE: 308343

F. REIS

Regina J. Reis Cardoso - F.º, Unip., Lda

NIF: 510104215

R. Dr. Joao Mourato Grave, 156 R/C

6000-241 Castelo Branco

CÓDIGO	DESIGNAÇÃO	OBS1	OBS2	QT PED	QT AVI	PVP	DESC1	DESC2	P. UNI	VALOR	IVA
5190517	ZALDIAR EFE 37,5+325 20CEFERV		E1	2	2	4,93	27,90%		3,72	7,44-	6
V/ Doc: 20451863		Refª a GF: 20451863 FA									

Total N.º Linhas Aviadas: 1

Total Embalagens: 2-

Legenda:

E=Esgotado E0 Escoamento
 F=Falta E1 PVP < 7,40
 N=Não Comercializado E2 PVP < 10,29
 R=Retirado E3 PVP < 14,58
 FR=Produto de Frio E4 PVP < 28,56
 NET=Venda NET E5 PVP < 69,12
 PE=Psico./Estupefaciente E6 PVP > 69,13
 PL=PVF Parceria Lab.
 DESC=Margem de lei sobre PVA

TAXA	INCIDÊNCIA	IVA
6%	7,44-	,45-
Total Mercadorias		
	7,44-	,45-
Total Consumíveis		

VALOR NET	
VALOR DL 112/2011	7,44-
VALOR ILÍQUIDO (A)	9,30-
VALOR DESCONTOS (B)	1,86-
VALOR LIQUIDO (C=A-B)	7,44-
VALOR IVA (D)	,45-
TOTAL (C+D)	7,89-

VALOR ACUM. RESUMO 2.213,23

CARGA:

Rua Cidade de Hull, 2
 CACEM
 2735-211 Cacem

HORA DE CARGA: 06:00

(Processado por computador)

Escalões Standard

Superior a 75.000
 De 50.000 a 75.000
 De 35.000 a 50.000
 De 10.000 a 35.000
 Inferior a 10.000

DESCARGA:

N.º Local Envio: 308343

F. REIS

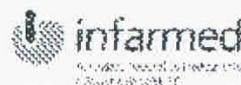
Regina J. Reis Cardoso - F.º, Unip., Lda

R. Dr. Joao Mourato Grave, 156 R/C

6000-241 Castelo Branco

HORA DE DESCARGA: ____ : ____

Anexo 3 - Circular Informativa



Infarmed

Circular Informativa

N.º 082/CD

Data: 03/04/2012

Assunto: Recolha do medicamento Fenil-V Retard 100 mg, cápsulas de libertação prolongada, lote 7829 - validade 06/2014, n.º de registo 9720003

Para: Divulgação Geral

Contacto no Infarmed: Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde (CIMI); Linha do Medicamento: 800 222 444; Tel. 21 798 7373 Fax: 21 798 7107; E-mail: cimi@infarmed.pt

Na sequência do cancelamento do Certificado de Boas Práticas de Fabrico da Henan Dongtai Pharmaceutical Co Ltd, China, fabricante da substância ativa Diclofenac Sodium, pelo facto da Agência Dinamarquesa do Medicamento ter relatado a existência de não conformidades críticas, foi suspenso pelo European Directorate Quality Medicines (EDQM) o certificado de conformidade com a Farmacopela Europeia (CEP) da substância ativa *Diclofenac Sodium*.

Este fabricante de substância ativa está autorizado para o medicamento Fenil-V Retard, 100 mg, cujo titular de AIM são os Laboratórios Vitória, S.A..

Considerando que esta substância ativa, Diclofenac Sodium, foi utilizada no fabrico do medicamento **Fenil-V Retard**, 100 mg, cápsulas de libertação prolongada, lote 7829, o Infarmed determina a suspensão imediata da comercialização deste lote de medicamento.

Face ao exposto:

As entidades que possuam este lote de medicamento em *stock* não o poderão vender, dispensar ou administrar, devendo proceder à sua devolução.

Por precaução, os utentes que tenham embalagens deste lote de medicamento não as devem utilizar.

O Conselho Diretivo

Cristina Furtado
Vogal do
Conselho Directivo

Anexo 4 - Interpretação do conteúdo da Receita Médica

Este segundo contacto com a prescrição médica, compreende a verificação do conteúdo desta, devendo ter-se em conta:

- *Designação do medicamento*, por denominação comum internacional (DCI), nome genérico ou nome de marca;
- Dosagem, quando não é especificada, cede-se a dosagem mais baixa;
- Tamanho da embalagem, quando não é especificado, cede-se a embalagem mais pequena;
- Forma farmacêutica, se se tratam de comprimidos, supositórios, pomadas, etc.;
- Número de embalagens prescritas: é limitado por alguns organismos, como é o caso do SNS, em que só se podem prescrever quatro embalagens de medicamentos por receita, até quatro medicamentos distintos ou duas embalagens de cada medicamento até ao limite de quatro embalagens totais, excepto no caso de medicamentos em forma unitária, em que se podem dispensar quatro embalagens iguais;
- Verificar se o médico autoriza a dispensa de medicamentos genéricos;
- Posologia, incluindo a dosagem, intervalo de administração e duração da terapêutica. Muitas vezes, os médicos recorrem a símbolos, por exemplo x id, como indicativo de tomar x vezes ao dia, SOS para tomar só em caso de necessidade e x+y+z em que se tomam x ao pequeno-almoço, y ao almoço e z ao jantar.

Anexo 5 - Interpretação da receita médica

Legalidade

A legalidade consiste na validade e autenticidade da receita médica. Deste modo, é necessário atender à data de prescrição, tendo em conta que as receitas apresentam diferentes prazos de validade e que podem ser ou não renováveis. Todas as receitas que apresentem, rasuras ou alterações, que não estejam rubricadas pelo médico prescriptor devem ser rejeitadas.

Formalidades Relativas ao Utente

A receita médica deve apresentar a identificação do utente (nome e número de beneficiário) e a identificação do regime de comparticipação, confirmando-se todos os dados por observação do cartão individual do utente.

Formalidades relativas à Entidade Emissora da Receita Médica

Na receita médica deve constar a identificação da entidade de cuidados de saúde onde foi emitida a receita. No caso de consultórios ou médicos particulares as receitas só precisam de estar identificadas com a vinheta do médico, referindo que é de particular. As receitas provenientes de unidades de saúde do sistema nacional de saúde devem apresentar a vinheta identificativa do local da prescrição.

Formalidades relativas ao médico prescriptor

A identificação do médico prescriptor é feita através de vinheta codificada. A receita deve estar assinada pelo médico prescriptor, o qual também deve assinar a autorização ou não autorização de substituição do medicamento por medicamento genérico. No caso de comparticipação especial o médico prescriptor deve fazer referência às portarias ou despachos em causa.

Anexo 6 - Dispensa dos Produtos prescritos

Uma vez analisada a receita, efectua-se a dispensa dos produtos prescritos, procedendo-se então da seguinte forma:

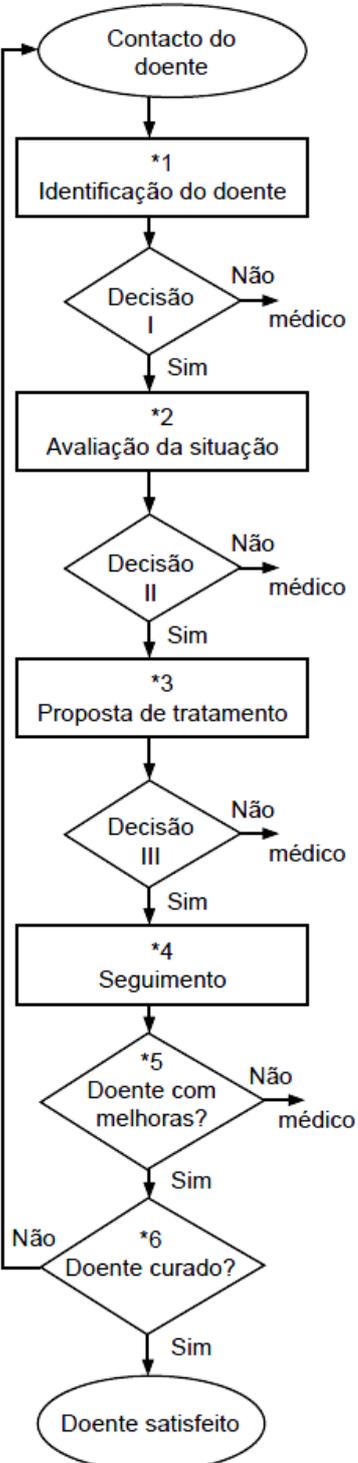
- ✓ Recolha dos medicamentos do local de armazenamento;
- ✓ Verificação dos prazos de validade;
- ✓ Execução da receita informaticamente:
 - Leitura óptica do código de barras, verificando se o preço inscrito na embalagem coincide com o preço que aparece no computador;
 - Introdução no sistema do código referente ao organismo do qual o utente é beneficiário e das portarias, caso existam;
 - Finalização da venda, sendo impresso o verso da receita com os respectivos dados da receita, bem como da venda, onde se podem observar os códigos de barras dos produtos dispensados que têm comparticipação, e a factura/recibo;
 - Carimbar, datar e rubricar a receita (pessoa responsável pelo aviamento), e a pessoa dispensada deve também assinar o verso da receita, que serve como declaração de que lhe foram cedidas todas as embalagens de medicamentos e as informações necessárias no espaço reservado para o efeito no verso da receita;
 - A factura/recibo é carimbada e rubricada pelo farmacêutico e entregue ao utente;
 - Acondicionamento;
 - Pagamento;
 - Colocar a receita em local próprio para que seja correctamente arquivada.

Anexo 7- Regimes especiais de participação

Dispensa em Farmácia Oficina

Patologia Especial	Âmbito	Comp.	Legislação
PARAMILOIDOSE	Todos os medicamentos	100%	Disp. 4 521/2001 (2ª série), de 31/1/2001
LÚPUS	Medic. comparticipados	100%	Disp. 11 387-A/2003 (2ª Série), de 23/5
HEMOFILIA	Medic. comparticipados	100%	Disp. 11 387-A/2003 (2ª Série), de 23/5
HEMOGLOBINOPATIAS	Medic. comparticipados	100%	Disp. 11 387-A/2003 (2ª Série), de 23/5
DOENÇA DE ALZHEIMER	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho nº 13020/2011 (2ª série), de 20 de Setembro	37% (quando prescrito por neurologistas ou psiquiatras)	Despacho nº 13020/2011, de 20/09
PSICOSE MANIACO-DEPRESSIVA	Priadel (carbonato de lítio)	100%	Disp. 21 094/99, de 14/9
DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho nº 1234/2007 (2ª série), de 29 de Dezembro de 2006	90% (quando prescrito por médico especialista)	Despacho n.º 1234/2007, de 29/12/2006, alterado pelo Despacho n.º 19734/2008, de 15/07, Despacho n.º 15442/2009, de 01/07, Despacho n.º 19696/2009, de 20/08 e Despacho n.º 5822/2011, de 25/03
ARTRITE REUMATÓIDE E ESPONDILITE ANQUILOSANTE	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 14123/2009 (2ª série), de 12 de Junho	69%	Despacho n.º 14123/2009 (2ª série), de 12 de Junho (substitui o anterior Despacho n.º 21249/2006 (2ª série), de 27 de Setembro)
DOR ONCOLÓGICA MODERADA A FORTE	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho nº 10279/2008 (2ª série), de 11 de Março de 2008	90%	Despacho nº 10279/2008, de 11/03, alterado pelo Despacho n.º 22186/2008, de 19/08, Despacho n.º 30995/2008, de 21/11, Despacho n.º 3285/2009, de 19/01, Despacho n.º 6229/2009 de 17/02, Despacho n.º 12221/2009 de 14/05, Declaração de Rectificação n.º 1856/2009, de 23/07, Despacho n.º 5725/2010 de 18/03, Despacho n.º 12457/2010 de 22/07 e Despacho n.º 5824/2011 de 25/03
DOR CRÓNICA NÃO ONCOLÓGICA MODERADA A FORTE	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho nº 10280/2008 (2ª série), de 11 de Março de 2008	90%	Despacho nº 10280/2008, de 11/03, alterado pelo Despacho n.º 22187/2008, de 19/08, Despacho n.º 30993/2008, de 21/11, Despacho n.º 3286/2009, de 19/01 e Despacho n.º 6230/2009, de 17/02, Despacho n.º 12220/2009, de 14/05, Despacho n.º 5726/2010 de 18/03, Despacho n.º 12458/2010 de 22/07 e Despacho n.º 5825/2011 de 25/03
PROCREIAÇÃO MEDICAMENTE ASSISTIDA	Lista de medicamentos referidos no anexo ao Despacho n.º 10910/2009, de 22 de Abril	69%	Despacho n.º 10910/2009, de 22/04 alterado pela Declaração de Rectificação n.º 1227/2009, de 30/04, Despacho n.º 15443/2009, de 01/07, Despacho n.º 5643/2010, de 23/03 e Despacho n.º 8905/2010, de 18/05
PSORÍASE	Medic. psoríase lista de medicamentos	90%	Lei n.º 6/2010, de 07/05

Anexo 8 - Interação Farmacêutico

FLUXO	DESCRIÇÃO	RESPONSÁVEL
 <pre> graph TD Start([Contacto do doente]) --> B1[*1 Identificação do doente] B1 --> D1{Decisão I} D1 -- Não --> Med1[médico] D1 -- Sim --> B2[*2 Avaliação da situação] B2 --> D2{Decisão II} D2 -- Não --> Med2[médico] D2 -- Sim --> B3[*3 Proposta de tratamento] B3 --> D3{Decisão III} D3 -- Não --> Med3[médico] D3 -- Sim --> B4[*4 Seguimento] B4 --> D4{*5 Doente com melhoras?} D4 -- Não --> Med4[médico] D4 -- Sim --> D5{*6 Doente curado?} D5 -- Não --> Start D5 -- Sim --> End([Doente satisfeito]) </pre>	<ul style="list-style-type: none"> Solicitação de medicamentos/conselhos Apresentação de queixas ou sintomas Complemento de terapêutica instituída 	<p>Profissional de farmácia que atende o doente</p>
	<p>*1</p> <ul style="list-style-type: none"> Recolhe informação/dados pessoais: <ul style="list-style-type: none"> Idade Sexo Estado fisiopatológico Outros 	<p>Director Técnico Farmacêutico</p>
	<p>*2</p> <ul style="list-style-type: none"> Recolha da informação sobre o problema/situação Avaliação da gravidade/critérios de exclusão: <ul style="list-style-type: none"> Identificação de queixas, sinais e/ou sintomas Duração Localização Persistência/recorrência Outros sintomas ou situações em que sente melhoras Medicamentos associados Outras doenças de que sofre Hábitos de vida História familiar Alergias 	<p>Director Técnico Farmacêutico</p>
	<p>*3</p> <ul style="list-style-type: none"> Medidas não farmacológicas Terapêutica farmacológica Decisão de acordo com critérios de selecção terapêutica 	<p>Director Técnico Farmacêutico</p>
	<p>*4</p> <ul style="list-style-type: none"> Avaliar eficácia do tratamento Seguimento do estado do doente 	<p>Director Técnico Farmacêutico</p>
	<p>*5</p> <ul style="list-style-type: none"> Doente não curado e sem melhoras deve ser encaminhado para o médico Doente com melhoras mas não curado pode ser reavaliada a situação 	<p>Director Técnico Farmacêutico</p>
	<p>*6</p> <ul style="list-style-type: none"> Doente curado que deve, no entanto, continuar a ser seguido 	<p>Director Técnico Farmacêutico</p>

Anexo 9 - Lista de situações passíveis de automedicação

Sistema	Situações passíveis de automedicação (termos técnicos)
Digestivo	<ul style="list-style-type: none"> a) Diarreia. b) Hemorróidas (diagnóstico confirmado). c) Pirose, enfartamento, flatulência. d) Obstipação. e) Vômitos, enjoo do movimento. f) Higiene oral e da orofaringe. g) Endoparasitoses intestinais. h) Estomatites (excluindo graves) e gengivites. i) Odontalgias. j) Profilaxia da cárie dentária. k) Candidíase oral recorrente com diagnóstico médico prévio. l) Modificação dos termos de higiene oral por desinfecção oral. m) Estomatite aftosa.
Respiratório	<ul style="list-style-type: none"> a) Sintomatologia associada a estados gripais e constipações. b) Odinofagia, faringite (excluindo amigdalite). c) Rinorreia e congestão nasal. d) Tosse e rouquidão. e) Tratamento sintomático da rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio. f) Adjuvante mucolítico do tratamento antibacteriano das infecções respiratórias em presença de hipersecreção brônquica g) Prevenção e tratamento da rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio (corticóide em inalador nasal)
Cutâneo	<ul style="list-style-type: none"> a) Queimaduras de 1.º grau, incluindo solares. b) Verrugas. c) Acne ligeiro a moderado. d) Desinfecção e higiene da pele e mucosas. e) Micoses interdigitais. f) Ectoparasitoses. g) Picadas de insectos. h) Pitiríase capitis (caspa). i) Herpes labial. j) Feridas superficiais. l) Dermatite das fraldas. m) Seborreia. n) Alopecia. o) Calos e calosidades. p) Frieiras. q) Tratamento da pitiríase versicolor. r) Candidíase balânica. s) Anestesia tópica em mucosas e pele nomeadamente mucosa oral e rectal.

Nervoso/psique.....	<p>t) Tratamento sintomático localizado de eczema e dermatite com diagnóstico médico prévio.</p> <p>a) Cefaleias ligeiras a moderadas.</p> <p>b) Tratamento da dependência da nicotina para alívio dos sintomas de privação desta substância em pessoas que desejem deixar de fumar.</p> <p>c) Enxaqueca com diagnóstico médico prévio.</p> <p>d) Ansiedade ligeira temporária.</p> <p>e) Dificuldade temporária em adormecer.</p>
Muscular/ósseo.....	<p>a) Dores musculares ligeiras a moderadas.</p> <p>b) Contusões.</p> <p>c) Dores pós-traumáticas.</p> <p>d) Dores reumatismais ligeiras moderadas (osteoartrose/osteoartrite).</p> <p>e) Dores articulares ligeiras a moderadas.</p> <p>f) Tratamento tópico de sinovites, artrites (não infecciosa), bursites, tendinites.</p> <p>g) Inflamação moderada de origem músculo esquelética nomeadamente pós-traumática ou de origem reumática.</p>
Geral	<p>a) Febre (menos de três dias).</p> <p>b) Estados de astenia de causa identificada.</p> <p>c) Prevenção de avitaminoses.</p>
Ocular	<p>a) Hipossecreção conjuntival, irritação ocular de duração inferior a três dias.</p> <p>b) Tratamento preventivo da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio.</p> <p>c) Tratamento sintomático da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio.</p>
Ginecológico.....	<p>a) Dismenorreia primária.</p> <p>b) Contraceção de emergência.</p> <p>c) Métodos contraceptivos de barreira e químicos.</p> <p>d) Higiene vaginal.</p> <p>e) Modificação dos termos de higiene vaginal por desinfeção vaginal.</p> <p>f) Candidíase vaginal recorrente com diagnóstico médico prévio. Situação clínica caracterizada por corrimento vaginal esbranquiçado, acompanhado de prurido vaginal e habitualmente com exarcebação pré-menstrual.</p> <p>g) Terapêutica tópica nas alterações tróficas do tracto génito-urinário inferior acompanhadas de queixas vaginais como disparêunia, secura e prurido.</p>
Vascular	<p>a) Síndrome varicosa—terapêutica tópica adjuvante.</p> <p>b) Tratamento sintomático por via oral da insuficiência venosa crónica (com descrição de sintomatologia).</p>

**Anexo 10 - Concentração de Hidrogel colocada no compartimento dador
(tabela 8)**

Ensaio de libertação:

Formulação Hidrogel Depilatório	Célula n°	Seringas Vazias (g)	Seringas com Creme (g)	Seringas no Final do Ensaio (g)	Quantidade Hidrogel no compartimento dador (g)
F2	1	2,2280	1,0178	2,27912	0,96668
	2	2,6248	0,9909	2,68429	0,93141
	3	2,2418	1,04735	2,32455	0,9646
F4	4	2,23512	1,12194	2,28792	1,06914
	5	2,27031	1,13124	2,32584	1,07571
	6	2,43559	1,12915	2,48255	1,08219

Formulação Hidrogel Depilatório	Célula n°	Seringas Vazias (g)	Seringas com Creme (g)	Seringas no Final do Ensaio (g)	Quantidade Hidrogel no compartimento dador (g)
F6	1	2,24784	1,03735	2,29071	0,99448
	2	2,10039	1,00068	2,16419	0,93688
	3	2,47792	1,07354	2,5288	1,02266
F7	4	2,2227	1,07405	2,3074	0,98935
	5	2,27513	1,12435	2,33968	1,0598
	6	2,26864	1,10575	2,33939	1,035
F8	7	2,23222	0,88672	2,29838	0,82056
	8	2,22705	0,81876	2,27657	0,76924
	9	2,28402	0,90676	2,34738	0,8434

Formulação Hidrogel Depilatório	Célula n°	Seringas Vazias (g)	Seringas com Creme (g)	Seringas no Final do Ensaio (g)	Quantidade Hidrogel no compartimento dador (g)
F9	4	2,21564	1,1959	2,26639	1,14515
	5	2,43768	0,9569	2,54081	0,85377
	6	2,26056	1,22404	2,34594	1,13866

Ensaio de Permeação:

Formulação de Hidrogel Depilatório	Célula n°	Seringas Vazias (g)	Seringas com Creme (g)	Seringas no Final do Ensaio (g)	Quantidade Hidrogel no compartimento dador (g)
F9	1	2,25612	1,13729	2,31859	1,07482
	2	2,63941	1,12873	2,70818	1,05996
	3	2,22533	1,22405	2,29178	1,1576