



IPG Politécnico
| da | Guarda
Polytechnic
of Guarda

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

Licenciatura em Farmácia

Relatório Profissional II

Fábio Miguel Fonseca Nunes

julho | 2015





Escola Superior de Saúde
Instituto Politécnico da Guarda

RELATÓRIO DE ESTÁGIO PROFISSIONAL II

FÁBIO MIGUEL FONSECA NUNES
RELATÓRIO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE LICENCIADO EM FARMÁCIA

julho | 2015



Escola Superior de Saúde
Instituto Politécnico da Guarda

CURSO DE FARMÁCIA – 1º CICLO
4º ANO / 1º SEMESTRE

RELATÓRIO DE ESTÁGIO
PROFISSIONAL II
ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

FÁBIO MIGUEL FONSECA NUNES
SUPERVISORA NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA: DR.ª JOANA AMADO
SUPERVISORA NO LABORATORIO DE ESTABILIDADES: ENG.ª CATARINA SILVA
ORIENTADORA: PROF. MARIA DE FÁTIMA SANTOS MARQUES ROQUE

julho | 2015

LISTA DE SIGLAS

ESS – Escola Superior de Saúde
IPG – Instituto Politécnico da Guarda
LQC – Laboratório de Controlo de Qualidade
Pharm Eur – Farmacopeia Europeia
U1 – Unidade 1
U2 – Unidade 2
U3 – Unidade 3
U4 – Unidade 4
u.f.c. – unidade formadora de colónia
UV – Ultravioleta
WFI – Water For Injection~
LCQ – Laboratório de Controlo de Qualidade
FQ – Físico-químicos
HPLC – High Performance Liquid Chromatography
UPLC – Ultra Performance Liquid Chromatography
MU - Marketing Unit
PU - Production Unit
GMP's - Good Manufacturing Practice for Medical Products
AIM - Autorização de Introdução no Mercado
TSA - Trypticase de soja agar
SDA - Sabouraud Dextrose agar
IPC – In Progress Control

LISTA DE ABREVIATURAS

% - por cento
mL – mililitro
°C – graus Celsius
g – gramas
mg – miligramas
l – litro

AGRADECIMENTOS

*Para os meus pais, e para a minha avó, que são os meus mestres de vida, exemplos de amor e entrega, que lutam diariamente para que este sonho se torne possível e por todo o esforço, dedicação e empenho que demonstram, porque mesmo com a distância nunca deixaram que me faltasse nada, principalmente apoio e compreensão, e a eles o meu
muito obrigado!*

*À minha companheira de vida, por tudo o que aturou nos bons e maus momentos, e que mesmo perante adversidades me apoiou incondicionalmente!
O meu profundo, muito obrigado!*

*Ao meu amigo Carlos Eduardo, pelo grande companheirismo e amizade, como companheiro de risos, gargalhadas, bom humor e desvaneios, Obrigada por seres
aquele irmão que nunca tive!*

A toda a equipa do laboratório de controlo de qualidade da unidade 4, por tudo o que me ensinaram, pela forma como me receberam, e por me fazerem sentir sempre em casa, agradecendo de uma forma muito especial a todos os técnicos analistas do laboratório de microbiologia e Físico-químicos e a todos os meus colegas estagiários, pela forma tão natural como me incluíram nas diferentes equipas de trabalho, pelos momentos de riso e descontração, pela paciência e tempo despendido a transmitirem-me da melhor forma os seus conhecimentos, o meu muito obrigado!

À Dr.^a Joana e à Eng.^a Catarina, as minhas supervisoras na Labesfal, e aos docentes da Escola Superior de Saúde que me acompanharam durante todo o processo de estágio, transmitindo-me sempre os seu valores, o meu muito obrigado!

À Labesfal – Fresenius Kabi, pela oportunidade única que me concedeu de realizar este estágio nas suas instalações.

E por fim, um agradecimento especial a todos aqueles que contribuíram e continuam a contribuir direta ou indiretamente para o meu sucesso enquanto futuro e bom profissional.

A todos, o meu muito obrigado!

PENSAMENTOS

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória, é o desejo de vencer!”

(Mahatma Gandhi)

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem.”

(Fernando Pessoa)

“Deus quer, o homem sonha, a obra nasce.”

(Fernando Pessoa)

ÍNDICE

CAPITULO I	8
1. INTRODUÇÃO	8
CAPITULO II.....	10
2. APRESENTAÇÃO DA EMPRESA.....	10
2.1 LABESFAL GENÉRICOS – FRESENIUS KABI PORTUGAL	10
2.1.1 História	10
2.1.2 Missão	10
2.1.3 Principais mercados.....	11
2.1.4 Estrutura organizacional	11
2.1.5 Estrutura física.....	12
2.1.5.1 Unidade 4	13
2.1.5.1.1 Laboratório de Controlo de Qualidade	13
2.1.5.1.2 LCQ – Microbiologia	14
2.1.6 Regras de Higiene e Segurança.....	15
CAPITULO III	16
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1 SISTEMAS DE QUALIDADE	16
3.2 O MEDICAMENTO, A INDÚSTRIA E O CONTROLO DE QUALIDADE.....	16
Os procedimentos	18
3.3 GOOD MANUFACTURING PRACTICE FOR MEDICAL PRODUCTS (GMP’S)	19
3.3.1 Princípio das GMP’s.....	19
3.3.2 Garantia da qualidade.....	19
3.3.3 Controlo de qualidade	21
3.3.4 Sistema de documentação	22
CAPITULO IV.....	23
4. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	23
4.1 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	23
4.2 ENSAIOS REALIZADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA	25
4.2.1 Monitorização microbiológica ambiental	25
4.2.2 Análise e controlo microbiológico de águas.....	27
4.2.3 Ensaio de Bioburden.....	28
4.2.4 Identificação de microrganismos.....	29
4.2.4.1 Repicagem e isolamento.....	29

4.2.4.2	Testes de diferenciação macroscópica e microscópica e morfológicos	30
4.2.4.3	Diferenciação Metabólica	31
4.3	LCQ U4 – ESTABILIDADES FISICO-QUIMICAS	33
4.3.1	Seleção e estudo dos lotes	34
4.4	ENSAIOS REALIZADOS NO LCQ U4 – ESTABILIDADES FISICO-QUIMICAS	34
4.4.1	Descrição da aparência.....	35
4.4.2	Ensaio de Desagregação	35
4.4.3	Ensaio de Dissolução.....	36
4.4.4	Determinação do peso médio, diâmetro, dureza e espessura.....	38
4.4.5	Ensaio de uniformidade de massa	38
4.4.6	Uniformidade de conteúdo	38
4.4.6.1	Cromatografia	39
4.4.6.1.1	HPLC (High Performance liquid chromatography).....	40
4.4.6.1.2	UPLC (Ultra Performance liquid chromatography).....	40
4.4.6.2	Análise Qualitativa	40
4.4.6.3	Análise Quantitativa	40
4.4.6.4	Fases Móveis	41
4.4.6.5	Espectrofotometria	42
4.4.6.6	Titulometria.....	42
CAPITULO V	43
5.	CONCLUSÃO.....	43
	BIBLIOGRAFIA	45
	ANEXOS.....	47

CAPITULO I

1. INTRODUÇÃO

O presente relatório foi realizado no âmbito da unidade curricular de Estágio Profissional II pelo aluno Fábio Miguel Fonseca Nunes, a frequentar o 2º semestre do 4ºano do curso de Farmácia – 1º ciclo, da Escola Superior de Saúde (ESS) do Instituto Politécnico da Guarda (IPG).

O estágio foi realizado no ramo de Indústria Farmacêutica, na empresa Labesfal – Fresenius Kabi Portugal, localizada em Santiago de Besteiros, na unidade de controlo de qualidade da unidade 4, no laboratório de Microbiologia, entre os dias 16 de fevereiro de 2015 a 31 de março de 2015, e no laboratório do controlo de qualidade de Estabilidades físico-químicas de medicamentos de 6 a 27 de abril de 2015.

Teve ainda orientação da docente da ESS-IPG Maria de Fátima Santos Marques Roque e supervisão no local de estágio da Dr.^a Joana Amado, e da Eng.^a Catarina Silva, responsáveis pelo LCQ - Microbiologia, e responsável pelo LCQ U4 F.Q.- Estabilidades, respetivamente.

Na parte final do estágio fiz o tratamento dos resultados relativos ao estágio profissional I, nas instalações do laboratório do Centro de Potencial e Inovação de Recurso Naturais (CPIRN), participando e sendo orador em palestras e debates científicos, cujas participações estão anexas ao presente relatório.

O estágio de integração à vida profissional, componente da unidade curricular de Estágio Profissional II, é uma importante vertente da formação de qualquer estudante, uma vez que permite a este a aprendizagem no seio de uma equipa multidisciplinar de saúde.

Os objetivos gerais deste estágio são o desenvolvimento de competências e técnicas que permitam ao estudante a realização de atividades subjacentes à profissão de Técnico de Farmácia, no enquadramento das diversas áreas de integração profissional, a aplicação dos princípios éticos e deontológicos subjacentes à profissão, a identificação, desenvolvimento e avaliação de planos de intervenção adequadamente integrados numa equipa multidisciplinar, e dar resposta aos desafios profissionais com inovação, criatividade e flexibilidade.

Com vista a cumprir os objetivos gerais do estágio, foi então elaborado um plano individual de estágio, definindo as atividades a realizar consoante a área técnica em questão.

Como tal, de acordo com as tarefas desenvolvidas pelo laboratório de microbiologia, e das estabilidades físico-químicas de medicamentos, e sobre orientação dos supervisores foi planeado a observação e/ou realização de:

Laboratório de Microbiologia:

- Avaliação da qualidade microbiológica de produtos não estéreis
- Avaliação da qualidade microbiológica de águas,
- Identificação de microrganismos,
- Ensaio de Bioburden,
- Monitorização microbiológica ambiental
- Leitura e análise de resultados.

Laboratório de F.Q. – Estabilidades de Medicamentos:

- Descrição da aparência
- Desagregação
- Dissolução
- Espectrofotometria
- Peso médio, diâmetro, dureza e espessura
- Titulometria
- Uniformidade de massa
- Uniformidade de conteúdo
 - Cromatografia

Por motivos de confidencialidade exigidos pela empresa, este relatório não apresenta anexos ou fotografias dos laboratórios e restantes instalações. Assim como a informação, que em alguns casos se encontra restringida pela mesma razão.

O relatório segue uma estrutura física baseada no Guia de Elaboração e Apresentação de Trabalhos Escritos da ESS-IPG [2] e este baseia-se principalmente na reflexão individual da aprendizagem efetuada durante o período de estágio. Com este pretende-se avaliar a descrição e análise das atividades realizadas, tendo elas sido ou não planeadas, bem como a apresentação de sugestões pertinentes.

CAPITULO II

2. APRESENTAÇÃO DA EMPRESA

2.1 LABESFAL GENÉRICOS – FRESENIUS KABI PORTUGAL

2.1.1 – História

A Labesfal Genéricos teve a sua origem numa farmácia comunitária da propriedade do farmacêutico João Almiro Coimbra e do seu genro, Joaquim Coimbra, que suportavam um pequeno negócio em Campo de Besteiros e que ganhara forma e dimensão desde a década de 50 com o tratamento de doentes do sanatório do Caramulo através dos seus medicamentos.

Assim, na década de 70/80 nasceu o Laboratório de Especialidades Farmacêuticas Almiro, que se viria a tornar ao longo do tempo na Labesfal.

Dado o crescimento do mercado e as exigências legais implicadas, a Labesfal abriu a sua fábrica no complexo industrial de Santiago de Besteiros em 2002, e desde então aumentou a sua área de produção, bem como as áreas terapêuticas de interesse. [3].

Em 2003 criou a marca Labesfal Genéricos® e em 2005 esta foi adquirida na totalidade pela Fresenius Kabi, empresa alemã.

A Fresenius Kabi é uma empresa global de cuidados de saúde especializada em medicamentos e em tecnologias de perfusão, transfusão e nutrição clínica. As suas áreas de intervenção a nível Farmacêutico são os medicamentos de administração intravenosa, as terapêuticas de perfusão, a nutrição clínica – entérica e parentérica e dispositivos médicos e tecnologias de transfusão [4].

2.1.2 – Missão

“Baseados na nossa competência em terapia de infusão e nutrição clínica com os nossos produtos farmacêuticos e dispositivos médicos e com o comprometimento e dedicação dos nossos colaboradores, iremos gerar os recursos necessários que nos permitam ser líderes globais na terapia e tratamento de doentes críticos e crónicos, tanto em ambiente hospitalar como fora dele.” [5]

A Labesfal Genéricos tem como missão fornecer ao mercado, e à comunidade, produtos farmacêuticos de qualidade excelente a preços competitivos, de forma

responsável e sustentada, contribuindo, assim, para a prossecução dos objetivos de racionalização das despesas com a saúde e, simultaneamente, contribuir para a melhoria da qualidade de vida das populações, querendo sempre estar um passo à frente, apostando na inovação, e alargando continuamente o seu portfólio de produtos e serviços.

Sempre com o contributo empenhado de uma equipa altamente qualificada e motivada, investindo assim nas pessoas e na saúde de todos, de forma a “conquistar o futuro”. [3]

2.1.3 - Principais mercados

A nível Comercial, a actividade da Labesfal encontra-se orientada para 3 áreas de atuação fundamentais, tais como [3]:

- **Mercado Hospitalar:** O seu mercado natural, para o qual desenvolveu competências tecnológicas específicas e para quem oferece vantagens competitivas assentes em fatores diferenciadores ao nível do serviço, do produto e da gama, evidenciando-se como o maior fornecedor nacional de medicamentos para os hospitais portugueses.
- **Mercado Internacional:** Assumindo-se como o maior exportador de medicamentos produzidos em Portugal. Olhando sempre em melhoria contínua no alargamento e na consolidação da sua posição nos diferentes mercados externos.
- **Produção para terceiros:** Atividade em franco desenvolvimento, refletindo o reconhecimento da qualidade e capacidade técnica da Labesfal.

2.1.4 - Estrutura organizacional

No que respeita a estrutura organizativa, a Labesfal integra duas unidades operacionais distintas, as quais reportam a unidades de negócio e a divisões diferenciadas, sendo elas:

- **MU (Marketing Unit):** Englobando as atividades comerciais e administrativas.
- **PU (Production Unit):** Englobando todas as atividades produtivas da empresa.

Sendo que ambas são lideradas por o **Conselho de administração**. [3].

2.1.5 - Estrutura física

Atualmente, a Labesfal Genéricos - Fresenius Kabi, localizada como já referido em Santiago de Besteiros, concelho de Tondela, distrito de Viseu, é constituída por três edifícios independentes, correspondendo a quatro unidades de produção distintas.

Sendo [5]:

- **Unidade 1 (U1) – Unidade de Produção de Penicilinas**
 - Pós para injetáveis
 - Sólidos orais
- **Unidade 2 (U2) – Unidade de Produção de Soluções estéreis**
 - Soluções injetáveis de grande volume em plástico
 - Soluções injetáveis de pequeno volume em plástico
 - Soluções injetáveis de pequeno volume em vidro
 - Dispositivos Médicos
- **Unidade 3 (U3) – Unidade de Produção de Sólidos e Semi-sólidos**
 - Sólidos (comprimidos e cápsulas)
 - Semi-sólidos (pomadas e cremes)
- **Unidade 4 (U4) – Unidade de Produção de Cefalosporinas**
 - Pós para soluções injetáveis

A U2 e a U3 são unidades contíguas, localizando-se no mesmo edifício, no qual se encontram também os serviços administrativos, a receção, refeitório e gabinete médico.

Na Labesfal, existem também dois laboratórios de controlo de qualidade (LCQ), um na U2 e outro na U4, e ainda pequenos laboratórios de controlo em processo nas zonas de produção.

No decorrer do estágio, tive oportunidade de visitar o outro LCQ (na U2), a área de produção da U2 e U3 e ainda da U4, que confesso ter sido um ponto alto deste EP visto que deparei e conheci uma realidade desconhecida que me fez perceber muito melhor não só todo o mecanismo da indústria farmacêutica, mas também todo o trabalho efetuado pelos LCQ. [3]

2.1.5.1 Unidade 4

2.1.5.1.1 Laboratório de Controlo de Qualidade

Nos laboratórios de controlo de qualidade são realizados os ensaios aplicáveis a cada produto específico. O Laboratório de Controlo de Qualidade da U4, é dividido no laboratório de controlo de qualidade físico-químico, onde são analisadas cefalosporinas e avaliadas as estabilidades físico-químicas dos produtos, e o laboratório de microbiologia, onde ocorre uma análise microbiológica de produtos de todas as unidades.

A entrada dentro da U4 é efetuada apenas através de um código de acesso atribuído a cada colaborador. O acesso ao LCQ é feito através dos vestiários, onde se veste o fardamento obrigatório para esta secção, que inclui:

- O uso de touca (que deve cobrir totalmente o cabelo)
- Fato de macaco descartável ou volante (fornecido pela empresa)
- Calçado adequado (sendo que na impossibilidade de tal, recorre-se ao uso de protetores de calçado)

O fardamento é colocado num cacifo limpo, localizado na zona limpa, sendo que todo o vestuário próprio fica guardado no cacifo pessoal, localizado na zona suja, tal como todos os pertences.

Não é permitido guardar nestes, comida ou medicamentos de uso pessoal, e dentro do LCQ é igualmente proibido:

- Comer e beber
- Usar bijuteria
- Maquilhagem
- Tirar fotografias
- Fumar dentro de todo o edifício

Este laboratório é dividido em várias secções tais como [5]:

- Sala/Laboratório para execução dos ensaios
- Três estufas e armazenamento de produtos (diferenciadas pelas suas condições de temperatura e humidade relativa)
- Seis gabinetes de gestão
- Arquivo
- Sala de Lavagens

2.1.5.1.2 LCQ – Microbiologia

O laboratório de microbiologia encontra-se localizado (como já referido) dentro do LCQ da U4, devidamente isolado dos restantes espaços. Este encontra-se dividido em diversos compartimentos, tais como:

- Três salas de preparação de amostras estéreis, onde duas delas contêm câmaras de fluxo laminar e outra um isolador.
- Um pequeno armazém de laboratório.
- Uma sala de ensaios de qualidade de produtos não estéreis e de qualidade microbiológica de águas.
- Uma sala de pesquisa de endotoxinas bacterianas
- Uma sala de pesagens.
- Uma sala de estufas para a incubação de meios e leitura dos seus resultados
- Uma sala de identificação de microrganismos.
- Uma sala de lavagens, denominada como a sala mais suja e sendo o fim do circuito.

As instalações do laboratório estão desenhadas de modo a minimizar o risco de contaminação cruzada, sendo que [5]:

- O circuito das amostras e dos analistas respeita o princípio de “marcha em frente”, sendo apenas possível a transição de salas mais limpas para salas menos limpas ou mais sujas.
- As amostras encontram-se em contentores selados.
- É proibida a existência de comida dentro das instalações
- O material de escritório necessário deve estar bem organizado e arrumado, estando apenas à vista o estritamente necessário para a atividade.
- Antes e depois de abrir as torneiras dos lavatórios, as mesmas devem ser pulverizadas com desinfetante específico, aplicando-se também a bancadas, e a meios de transporte de amostras.
- Os equipamentos não devem ser transferidos de local.
- As diversas atividades estão registadas no espaço e no tempo, como tal, existem cadernos de laboratório fornecidos aos analistas/operadores nos quais são descritos todos os ensaios efetuados, bem como os resultados obtidos, tendo estes de ser assinados e datados.

- Existem igualmente procedimentos e normas para ensaios e operações, como são exemplo os ensaios de esterilidade e ensaios de Bioburden, e ações como a abertura de porta de estufas e frigoríficos, a receção de amostras no laboratório, entre outras.
- Também para cada equipamento existe um caderno associado (logbook), onde se descreve a atividade realizada no mesmo, e se coloca a data e rubrica do analista.
- Há também uma uniformização nestes processos, pelo que se datam todos os documentos seguindo a mesma estrutura para todos os colaboradores, além dos impressos, que seguem também uma disposição uniforme. Estes podem ser encontrados em formato digital na base de dados, de acesso restrito por utilizador e palavra-passe, bem como procedimentos técnicos, resultados de ensaios realizados, e outras informações. Tendo todos os colaboradores, deste modo, um acesso simplificado a uma vasta gama de informação.
- De modo a relembrar as regras de higiene e segurança de cada local, cada sala da Labesfal possui folhas informativas afixadas em zonas estratégicas.

2.1.6 Regras de Higiene e Segurança

O cumprimento das regras de Higiene e Segurança consiste numa das partes fundamentais das condições de trabalho na generalidade da Labesfal.

A Labesfal compromete-se a proteger, dentro das suas instalações e no âmbito da execução das atividade que lhe são inerentes, todas as pessoas contra danos provenientes de acidentes de trabalho e doenças profissionais, e ao assumirem este compromisso, os colaboradores providenciam e mantêm um ambiente de trabalho seguro e saudável, de acordo com as práticas estabelecidas para a indústria, aplicando e fazendo cumprir os dispositivos legislativos e regulamentares que existem para o efeito.

A prevenção de acidentes e doenças profissionais é uma tarefa de todos os colaboradores, pelo que as regras e princípios de conduta, sobre esta matéria, devem ser cumpridos por todos os trabalhadores da empresa.

Contudo, para admissão na Labesfal, é necessário realizar testes médicos para garantir que os colaboradores estão em condições para realizar as tarefas atribuídas no

local definido, e como estagiário, passei pelo mesmo processo, tendo de realizar exames médicos e análises para garantir que me encontrava em boas condições de saúde para realizar as atividades pretendidas pela empresa. [3]

CAPITULO III

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 SISTEMAS DE QUALIDADE

Os sistemas de qualidade definem a estratégia que permite à empresa criar uma forte relação com o cliente.

São importantes não só porque reduzem os custos, mas também porque reduzem a insatisfação dos clientes, o que leva à fidelização destes (necessidade de sobrevivência de qualquer empresa).

Existem ainda outras razões para apostar na qualidade como, por exemplo, a durabilidade do produto, a fiabilidade do serviço, uma maior garantia da sua qualidade e o preço, onde é importante referir que na maioria os clientes não se importam de pagar pela qualidade assegurada do produto. Podendo resumidamente definir-se Qualidade como:

”Grau de satisfação de requisitos, dado por um conjunto de características intrínsecas, ou seja Qualidade faz-se, verifica-se e demonstra-se” [6].

3.2 O MEDICAMENTO, A INDÚSTRIA E O CONTROLO DE QUALIDADE

“Só a dose faz o veneno...”

Paracelso, Séc. XVI

Medicamento é toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos, dos seus sintomas, e administrada com vista a estabelecer um diagnóstico médico, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, corrigindo ou mudando funções fisiológicas [7], e esta famosa frase de Paracelso demonstra bem a estreita fronteira que

existe entre a cura e o poder tóxico de qualquer **princípio ativo**, ou seja, qualquer molécula com atividade farmacológica no corpo humano. [7]

É certo que nos primórdios a cura estaria relacionada com o explorar dos potenciais terapêuticos das plantas, ditas medicinais, em que estava subjacente uma larga janela de utilizações de doses terapêuticas, mas os tempos e a História encarregaram-se da pesquisa e descoberta de soluções alternativas que assegurassem a eficácia e segurança desejável atribuída ao medicamento.

Assim sendo, apareceu a necessidade da seleção criteriosa da:

- Forma farmacêutica
- Composição qualitativa e quantitativa do medicamento e estabilidade
- Via de administração
- Operações farmacêuticas de produção

Todas estas vertentes foram sofrendo transformações e acentuando a sua complexidade, obedecendo aos princípios fundamentais já referidos, deixando para trás as tinturas e linimentos dos famosos boticários.

Forçosamente a Indústria edificou-se e encarregou-se da conceção, do desenvolvimento, da produção e comercialização do medicamento [7].

Não pode ser negligenciada a espiral de crescimento tecnológico e a própria revolução industrial que, crescendo a um ritmo vertiginoso, concorreram para a evolução e metamorfoses sofridas pela Indústria nos seus variados espectros de ação, onde nos quais notoriamente podemos salientar como uma maior diferença, o sector da **Produção**.

A **produção** foi condicionada pela inovação no seio do desenvolvimento galénico, mas igualmente pelas exigências legislativas nas quais se encontra intrínseco o conceito de GMP (Good Manufacturing Practice).

O **controlo analítico** sofreu igualmente mutações e rapidamente se abandonou a instrumentação rudimentar que tanto celebrizou os seus criadores. Tal ficou igualmente a dever-se à evolução da Física, da Química, da Informática, da Eletrónica e, novamente, às GMP'S. A própria Matemática e a Estatística contribuíram para marcar o ritmo. Parâmetros como a precisão, seletividade, robustez e a especificidade, entre outros critérios subjacentes, autodeterminaram esta evolução sustentada [8].

A **garantia da qualidade** é um conceito suficientemente envolvente para cobrir todos os pontos que, individual ou coletivamente influenciam a qualidade de um produto.

É um conjunto de ações organizadas que assegura que os medicamentos têm a qualidade, segurança e eficácia exigida para o fim a que se destinam [8].

O **controle de qualidade**, como componente dos sistemas de gestão e garantia da qualidade, constitui um precioso instrumento para assegurar a qualidade dos produtos fabricados, produzindo, na empresa, assinaláveis ganhos de eficiência e competitividade. É a parte da qualidade que trata da amostragem e dos ensaios físico-químicos e microbiológicos tratando também, intrinsecamente a estes, da análise de estabilidade dos produtos comercializados durante o seu definido prazo de validade [9].

Os **procedimentos** determinam com especificidade como são executadas as tarefas de um dado sector e dão indicações sobre a realização de certas operações.

Há procedimentos escritos relativos a: rotulagem interna, quarentena e armazenagem das matérias-primas, dos materiais de embalagem e de outros materiais, conforme adequado, e à receção de cada remessa de matéria-prima, material de embalagem ou produto semi-acabado e acabado [5].

Para além disso existem ainda procedimentos escritos de autorização e rejeição, relativos quer aos materiais, quer aos produtos, nomeadamente quando se trate da autorização de venda de um produto acabado pela pessoa qualificada.

São conservados registos relativos à distribuição de cada um dos lotes de um produto, a fim de, se necessário, facilitar a sua recolha.

Quando considerado adequado, são preparados procedimentos escritos e os respetivos registos, relativos às ações empreendidas ou às conclusões alcançadas relativamente a [5]:

- Validação,
- Manutenção, desinfestação e limpeza,
- Questões relativas ao pessoal, incluindo formação, vestuário, segurança e higiene,
- Reclamações,
- Recolhas,
- Devoluções.

Estão disponíveis instruções de funcionamento claras sobre equipamentos de produção e de execução de testes mais importantes. Os equipamentos estão acompanhados de livros (Logbook / Diários de Equipamento) em que se registam

quaisquer operações de validação, calibração, manutenção, limpeza ou reparação, incluindo as datas e a identificação das pessoas que as efetuaram [5].

São registadas, por ordem cronológica, quer a utilização dos equipamentos mais importantes ou críticos, quer as áreas em que os produtos foram processados [5].

3.3 GOOD MANUFACTURING PRACTICE FOR MEDICAL PRODUCTS (GMP'S)

As práticas de bom fabrico são a parte da garantia de qualidade que assegura que os produtos são produzidos e controlados de forma consistente com padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e como requerido pela Autorização de Introdução no Mercado ou especificação do produto.

O cumprimento das GMP'S está dirigido primeiramente para a diminuição dos riscos inerentes a qualquer produção farmacêutica, os quais deverão ser detetados através da realização de ensaios nos produtos acabados.

Os riscos são constituídos essencialmente por contaminação-cruzada, contaminação por partículas e troca ou mistura de produto (rotulagem incorreta) [10]

3.3.1 Princípio das GMP's

O suporte de uma autorização de fabrico deve assegurar que os medicamentos produzidos obedecem às especificações e que não coloca os pacientes em risco devido à inadequada segurança, qualidade ou eficácia.

Como forma de controlar a qualidade dos produtos deve incorporar-se um sistema detalhado, projetado e corretamente executado na garantia de qualidade.

Todas as partes do sistema de garantia de qualidade devem ser adequadamente trabalhadas com pessoal competente, equipamento e meios apropriados e suficientes [10].

3.3.2 Garantia da qualidade

O conceito de "Garantia" está associado ao risco potencial de não-qualidade. Por outras palavras, um produto tem garantia de qualidade quando o seu fornecedor estabelece um processo para o fornecimento deste produto, de tal forma que a probabilidade de ocorrerem falhas no produto seja nula [6].

Um Sistema de Garantia da Qualidade é então um conjunto planeado de atividades, que se adicionam ao processo natural de fornecimento de um dado produto, com o objetivo de reduzir o risco de falhas [6].

A garantia da qualidade incorpora, conseqüentemente, as Boas Práticas de Fabrico e outros fatores, incluindo o projeto e o desenvolvimento de um produto. [10]

Um sistema apropriado da Garantia da Qualidade, aplicado à fabricação de medicamentos, deve assegurar que: [10]

1. Os medicamentos sejam projetados e desenvolvidos considerando a necessidade do cumprimento das GMP'S;
2. As operações de produção e controle sejam claramente especificadas por escrito e as exigências de GMP'S cumpridas;
3. As responsabilidades gerenciais estejam claramente especificadas, na descrição de cargos e funções;
4. Sejam tomadas providências quanto à fabricação, suprimento e utilização correta das matérias-primas e materiais de embalagem;
5. Todos os controles necessários sejam realizados nas matérias-primas, produtos intermediários, produtos a granel e produto acabado, bem como realizar outros controles necessários durante o processo, além das calibrações e das validações;
6. O produto acabado seja corretamente processado e conferido, segundo procedimentos definidos;
7. Os medicamentos não sejam expedidos antes que o pessoal autorizado confirme que cada um dos lotes foi fabricado de acordo com os requisitos do registo e os regulamentos relevantes à produção, controle e libertação;
8. Sejam fornecidas instruções e tomadas as providências necessárias para garantir que os medicamentos sejam armazenados, distribuídos e conseqüentemente manuseados de forma a que a qualidade dos mesmos seja mantida por todo o prazo de validade;
9. Haja procedimento de autoinspeção e/ou auditoria interna de qualidade que avalie regularmente a efetividade e a aplicação do sistema de Garantia da Qualidade.

3.3.3 Controlo de qualidade

O controlo de qualidade é a parte das GMP'S referente à amostragem, especificações, ensaios, procedimentos de organização, à documentação e aos procedimentos de libertação que devem assegurar que os ensaios necessários e relevantes sejam executados e que os materiais não sejam libertados para uso, nem os produtos libertados para venda ou fornecimento, até que a qualidade dos mesmos seja conforme.

O controlo de qualidade não se deve limitar às operações laboratoriais, deve estar envolvido em todas as decisões concernentes à qualidade do produto [10].

As exigências básicas do controlo de qualidade são [10]:

1. Os meios adequados, o pessoal treinado e os procedimentos aprovados estão disponíveis para amostrar e testar materiais, acondicionar materiais, intermediários volumosos e produtos finais, e são apropriados para monitorizar as condições ambientais para finalidades de GMP'S;
2. As amostragens das matérias-primas, dos materiais de embalagem, dos produtos intermediários, dos produtos a granel e dos produtos acabados devem ser realizadas por métodos aprovados e por pessoal qualificado;
3. As metodologias dos ensaios de controlo de qualidade devem ser validadas;
4. São feitos registos manualmente e/ou pelos equipamentos, que demonstram que todos os procedimentos requeridos, inspecionados e testados foram efetivamente realizados. Todos os desvios são inteiramente registados, investigados e justificados;
5. Os produtos acabados devem conter substâncias ativas, que atendam à composição quantitativa e qualitativa conforme registo do produto e devem apresentar a pureza exigida, estar embalados em material adequado e corretamente rotulados.
6. Os produtos são avaliados formalmente de acordo com a especificação. A avaliação do produto inclui uma revisão e uma avaliação da produção e uma avaliação dos desvios, caso estes existam, dos procedimentos especificados:

7. Nenhum grupo do produto é libertado para venda se não estiver de acordo com as exigências de autorização no mercado;
8. Devem ser retiradas amostras suficientes das matérias-primas e do produto acabado, a fim de que possam ser feitos, se necessário, exames futuros ao produto; as amostras de produto acabado retidas devem ser mantidas nas suas embalagens finais, a menos que as mesmas sejam excepcionalmente grandes.

3.3.4. Sistema de documentação

“ Uma boa documentação constitui uma parte essencial de um sistema de garantia de qualidade. Uma documentação escrita com clareza evita erros que podem advir de uma comunicação oral e permite que se estabeleça, com segurança, a história do lote. É fundamental que as especificações, a fórmula de fabrico, as instruções, os procedimentos e os registos sejam escritos e isentos de erros. Todos os documentos devem estar perfeitamente legíveis.” (Guia Europeu para as Boas Práticas de Fabrico)

O **Sistema de Documentação** inclui todo o tipo de documentos/registos que descrevem a forma como executar e registar as operações relacionadas com a atividade da empresa.

Na Generalidade, os documentos não são manuscritos, muito embora, quando sejam utilizados para entradas de dados (registos/impressos), estas devam ser manuscritas, preferencialmente com tinta azul, caligrafia clara, legível e indelével e conter a rubrica da pessoa autorizada para o efeito.

São datadas e assinadas quaisquer alterações/emendas a uma entrada no documento/registo; a alteração deve permitir a leitura da informação original. Se adequado, deve ser registado o motivo de alteração [5].

Os registos de fabricação e de embalagem são preenchidos no momento em que decorre cada uma das ações, para que possam ser reconstituídas todas as atividades significativas relativas à produção de produtos farmacêuticos e são conservados durante um mínimo de um ano após o fim do prazo de validade do produto acabado [5].

CAPITULO IV

4. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Como já referido anteriormente, neste EP, passei por dois sectores do LCQ da U4, nomeadamente, Microbiologia e Estabilidades, onde seguidamente irei descrever todas as atividades exercidas.

4.1 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

A **Microbiologia** é a ciência que estuda os seres vivos de dimensões microscópicas e outros seres que possuem durante a sua evolução alguma forma microscópica, como são ovos ou formas larvares [11].

Adquirindo igualmente uma grande importância a nível farmacêutico, uma vez que o prazo de validade, é o período durante o qual o medicamento apresenta estabilidade física, química, terapêutica, microbiológica e toxicológica, várias monografias de Farmacopeias obrigam a que a carga microbiana seja limitada para todas as preparações, sendo que em algumas delas é obrigatório que a mesma seja nula, para assim o produto estar conforme, e estar em condições de ser introduzido no mercado.

Posto isto, é de extrema importância o controlo microbiológico de(o):

- Todo o processo de produção
- Matérias-primas utilizadas
- Meio envolvente
- Analistas

Tudo isto, para que hajam garantias de que o produto apresente a qualidade desejada, sendo portanto, necessário garantir que quando um produto é colocado no mercado se encontra microbiologicamente conforme e isento, tendo em conta as exigências microbiológicas para cada um.

Os microrganismos com maior relevância na indústria são:

- **Bactérias:** células procariotas unicelulares com estrutura e morfologia específica, não apresentando membrana nuclear, mitocôndrias, e

complexo de Golgi ou retículo endoplasmático, e que se reproduzem assexuadamente e que não possuem núcleo.

- **Fungos:** organismos eucariotas não fotossintéticos, que se apresentam de duas formas: leveduras, quando constituídas por uma célula apenas e fungos filamentosos, quando apresenta esta forma (filamento).

Quando temos a presença de alguns destes microrganismos em alguma das etapas ou partes da produção, é necessário identifica-lo, e para que tal seja possível, precisamos de o isolar, depois destes se tornarem visíveis em colónias, por crescimento em meios de cultura apropriados.

Um meio de cultura é um meio que, dado o seu conteúdo nutricional, permite o crescimento microbiológico. Estes podem ser líquidos, ou sólidos pela adição de substâncias gelatinosas. Devem ter na sua composição nutrientes indispensáveis ao organismo em causa, não se apresentando em quantidades tóxicas. O meio de cultura deve ser também estéril. Dada a relevância do prazo de validade de qualquer produto, no caso dos meios de cultura, este apresenta um ponto fulcral na fidelidade dos resultados, visto que após o prazo de validade, a cultura e o valor nutricional do mesmo estejam comprometidos.

Na Labesfal são realizados testes aos meios de cultura armazenados e rececionados, a fim de garantir uma boa fertilidade das colónias. Dadas as condições a que o produto está sujeito durante o seu fabrico e durante o seu circuito dentro do laboratório de Microbiologia, a esterilização e desinfeção representam dois conceitos de elevada importância.

A esterilização compreende a destruição ou remoção completa de todas as formas de vida, sendo patogénicas ou não patogénicas, sendo que a desinfeção apenas consiste na remoção de parte ou da totalidade de microrganismos de um objeto ou superfície. Os meios de esterilização podem ser físicos ou químicos.

Na Labesfal, como meios de esterilização físicos utilizam-se:

- **Calor húmido (autoclaves):** Onde o material é descontaminado sempre antes de ser manipulado pelos analistas, e a sua execução envolve um posterior empacotamento do material, a fim de assegurar o isolamento do mesmo após o processo de esterilização.
- **Calor seco (estufas):** Onde o material é descontaminado a temperaturas mais elevadas, para despirogenar frascos de vidro, nomeadamente os que são utilizados no ensaio de quantificação de endotoxinas bacterianas

- **Radiações não-ionizantes (radiações ultravioleta (UV)):** Maioritariamente utilizadas nomeadamente na esterilização de material necessário para a realização de ensaios de esterilidade, em câmaras específicas de ligação a salas despirogenadas.

Já como meios químicos de esterilização utiliza-se principalmente:

- **Álcoois**, nomeadamente etanol a 70%, uma vez que este apresenta maior eficácia tanto antisséptica como desinfetante, pela sua alta solubilidade tanto em água como em lípidos, recorrendo-se também a outros álcoois.
- **Derivados halogéneos**, como o hipoclorito de sódio, utilizado principalmente como desinfetante, e peróxido de hidrogénio, um antisséptico de largo espectro em concentrações que o permitem ter também ação esporicida, e tem ainda aplicação na sua forma gasosa em esterilização de material a usar em ensaios de esterilidade, principalmente quando estes são realizados em isolador.

4.2 ENSAIOS REALIZADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

Os ensaios realizados no laboratório de Microbiologia, foram todos aqueles ensaios que de certo modo apresentassem um ponto de risco à carga microbiana dos produtos e/ou meios utilizados.

Nomeadamente:

- Monitorização microbiológica ambiental
- Análise e controlo microbiológico de águas
- Ensaio de bioburden
- Identificação de microrganismos

4.2.1 Monitorização microbiológica ambiental

A análise microbiológica ao ar e a tudo o que contacta permanentemente e diretamente com este, e como tal o seu controlo microbiológico é dos processos primordiais e mais importantes a realizar. [5]

O ar é definitivamente o meio onde ocorre melhor e maior dispersão dos microrganismos, sendo fácil a contaminação entre salas, e quando estes se encontram

num espaço, facilmente sedimentam em superfícies, e no produto que se encontra a ser fabricado, uma vez que é essencial garantir que o produto apresente uma carga microbiana muito reduzida, ou mesmo nula, tornando-se de extrema importância o controlo microbiológico contínuo dos espaços, desde as salas de classe B e A, onde ocorre a produção de produtos estéreis, até às de classe E, salas de passagem ou balneários, controlados, mas que não são tão exigentes em termos assépticos. [5]

Também as barreiras primárias entre o analista e o produto (fato e luvas) são monitorizadas, uma vez que é o analista a maior fonte de contaminação num ensaio.

Entre os vários tipos de salas existem evidentemente barreiras e medidas para diminuir a contaminação entre estas, começando pela troca de fardamento dos operadores, passando pelo uso de antissépticos, pelo sistema diferencial de pressão, pelas exigências específicas do fardamento e comportamento a adotar em certas áreas restritas, entre outras, que faz com que tudo remonte para uma diminuição do risco de contaminação cruzada.

A frequência da amostragem depende portanto do grau de assepsia/desinfecção exigido para o local, consoante as operações que ocorrem na mesma. Enquanto há salas que são verificadas diariamente, sempre que se encontram em produção, há outras que são verificadas semanalmente, mensalmente ou trimestralmente, isto nos diversos pontos previstos.

Todas as unidades de produção são sujeitas ao controlo ambiental sendo efetuadas amostragens de:

- Ar Sedimentado.
- Ar Centrifugado
- Contacto de superfícies através de placas próprias ou zaragatoas.
- Ao operador, sempre que aplicável é efetuada uma amostragem ao fato (em zonas críticas como luvas, capuz, cotovelos, nádegas, joelhos e sapatos).

As amostras de ar sedimentado e centrifugado são realizadas em meio de Tripticase de soja agar (TSA), para pesquisa de bactérias, e de Sabouraud Dextrose agar (SDA) para pesquisa de fungos, seja na forma de leveduras, ou na forma pluricelular. [5]

Em relação à monitorização de superfícies por contacto esta pode ser realizada com zaragatoas, que são inoculadas depois em meio de TSA.

Nas zonas de produção de antibióticos, as placas com meio de crescimento preferencialmente bacteriano têm adicionado no próprio meio um inibidor do efeito antibiótico.

Quando chegam ao laboratório de microbiologia, as placas encontram-se separadas por unidade, dia e turnos respetivos, e por tipo de meio em sacos com fecho.

Estas encontram-se devidamente identificadas com o lote de produção, a data e o operador, e em casos aplicáveis, o horário de exposição ao ar, o número do ponto de amostragem quando se trata de fatos, a identificação da mão, e o código do ponto de amostragem de cada sala.

Ao completar-se o tempo de incubação, os resultados são registados por observação das u.f.c. (unidade formadora de colónia) visíveis e registam-se no impresso próprio.

Quando se observa contaminação e a quantidade de u.f.c. é superior ao nível de alerta ou ação do determinado produto, é necessário efetuar identificação de microrganismos.

Ao efetuar a incubação e a leitura das placas é necessário ter em atenção o prazo de validade destas (como anteriormente referido), uma vez que é durante este período de tempo que se garante que o meio de cultura se encontra nas melhores condições físicas, químicas e bioquímicas para o crescimento microbiológico adequado. [5]

4.2.2 Análise e controlo microbiológico de águas

O controlo da qualidade da água na indústria farmacêutica representa um papel fundamental tanto no processo de produção de medicamentos como no meio ambiente onde a indústria está situada, uma vez que para além de fazer parte da formulação da grande maioria dos produtos, é utilizada também em lavagem de equipamentos, instalações críticas e em ensaios de controlo físico-químico e microbiológico.

A água torna-se um meio de fácil contaminação para microrganismos com necessidades nutritivas pouco exigentes.

Posto isto, é do interesse de toda a indústria farmacêutica que toda a água utilizada no fabrico de produtos e ensaios seja previamente tratada. Deste processo surgem dois tipos de águas que são utilizadas:

- Água purificada

- Água WFI (water for injection), descrita como água para preparações injetáveis.

Dadas as variáveis referidas, torna-se extremamente importante realizar um controlo microbiológico rigoroso. São assim colhidas amostras destas águas em diversos pontos do circuito de tratamento de águas, em frascos de vidro esterilizados e despirogenados (uma vez que as águas WFI sofrem também um ensaio de quantificação de endotoxinas), sendo esta colheita realizada com uma frequência previamente estabelecida, podendo ser diária, semanal, bi-semanal, dependendo do local de colheita.

Depois de devidamente colhidas as amostras, em que se separam tendo em conta o tipo de água e a quantidade a filtrar e atribui-se um número interno a estas, estas são então filtradas com recurso a funis adaptados às placas com o meio e uma bomba de vácuo, em que a membrana filtrante incorporada no funil é aplicada numa cassete com um meio apropriado para contagem de microrganismos (meio R2A). Estas vão a incubar a temperatura favorável controlada num período de cinco dias.

O ensaio é realizado em condições de assepsia, utilizando-se para garantir tal condição, peróxido de hidrogénio, álcool a 70%, bico de Bunsen, e barreiras físicas por parte do analista, como luvas estéreis e máscara.

Terminado o período de incubação, são então observados os resultados e faz-se a contagem de u.f.c. total, sendo que se não se observar crescimento microbiano o resultado é inferior a um (<1), e a amostra está conforme.

Quando se observa crescimento microbiano, procede-se obrigatoriamente à identificação de microrganismos, de modo a saber-se se são microorganismos comprometedores do produto.

4.2.3 Ensaio de Bioburden

O ensaio de Bioburden tem como objetivo a caracterização da carga microbiana presente nas preparações antes que estas sofram um processo de esterilização final, servindo assim de ponte para determinar fatores que podem influenciar a eficácia do processo de esterilização. [5]

Este ensaio é assim realizado a amostras de produtos injetáveis submetidos a um processo de esterilização final, em que a recolha das amostras é efetuada na fase de produção anterior à esterilização referida.

Durante o ensaio procede-se à filtração de uma quantidade definida no procedimento técnico da amostra através de uma bomba de vácuo, em condições de assepsia. [5]

A cada conjunto de ensaios há também a realização de um ensaio branco, usando apenas fluido de lavagem, funcionando como padrão do determinado conjunto de ensaios.

As amostras relativas a cada produto são incubadas em cassetes compatíveis com os funis que permitem a incorporação da membrana de filtração diretamente no meio, onde em alguns produtos previamente definidos a incubação é realizada também em anaerobiose, selando-se a placa a incubar num invólucro com um absorvente de oxigénio.

O resultado obtém-se após cinco dias de incubação, e quando existe crescimento microbiológico é obrigatório identificar os microrganismos. [5]

4.2.4 Identificação de microrganismos

Como já foi evidenciado anteriormente, a identificação de microrganismos é realizada sempre que se encontra crescimento microbiológico nos meios de cultura relativos aos ensaios realizados e à produção dos medicamentos, quando tal é definido em procedimento técnico, e quando os resultados ultrapassam os limites definidos.

O procedimento de identificação de microrganismos é demorado e dispendioso, tendo algumas limitações, nomeadamente relativas aos reagentes e material a utilizar, ao tempo de crescimento microbiano, e aos aparelhos a usar.

A referir ainda que a pesquisa de microrganismos no laboratório de microbiologia da Labesfal se baseia unicamente nas características fenotípicas dos mesmos, tendo em conta os seus aspetos macroscópicos e microscópicos e pelas propriedades metabólicas.

4.2.4.1 Repicagem e isolamento

Este é o primeiro passo relativo ao processo de identificação de microrganismos.

Neste procedimento há a transferência de microorganismos do meio de origem, podendo ser uma placa contaminada ou um meio líquido, utilizando-se para tal a técnica de espalhamento ou o método riscado. [12]

Retira-se assim um pouco de material de uma colónia, e transfere-se para uma placa com um meio de TSA quando se trata de bactérias, ou com meio de SDA quando se trata de fungos e leveduras. [5]

Este procedimento é realizado numa câmara de fluxo laminar vertical, e depois de efetuado, as placas repicadas vão a incubar durante o tempo necessário para se obter crescimento microbiano. Esta técnica realiza-se com o objetivo de isolar o microrganismo, obtendo culturas puras do mesmo, otimizando e facilitando assim a respetiva identificação. [5]

4.2.4.2 Testes de diferenciação macroscópica e microscópica e morfológicos

Para definir a que grupo pertencem os microrganismos em pesquisa são realizados alguns testes simples com o intuito de recolher a informação necessária para os equipamentos disponíveis.

O teste de coloração de Gram em bactérias é o mais relevante a realizar, já que permite a diferenciação entre as duas mais importantes classes de bactérias:

- Gram-negativo
- Gram-positivo.

Método:

1. Inicia-se o procedimento com a fixação, por contacto, das bactérias numa lâmina.
2. Posteriormente são coradas com violeta cristal, e espera-se cerca de 1 min.
3. Seguidamente, adicionando-se uma solução de Lugol que forma um complexo com o reagente anterior e fixa o corante.
4. Adiciona-se depois a solução de descoloração, álcool-cetona
5. Por fim adiciona-se outro corante, a safranina, que cora todas células que sofreram descoloração, atuando em cerca de 1 min.
6. Passa-se a lâmina por água.

Obtém-se assim resultados em que as células não descoram, e adquirem uma cor violeta, sendo estas Gram-positivo, e as células que descoram, e através do último corante adicionado adquirem uma tonalidade rosa, sendo Gram-negativo.

Tal acontece porque a solução descolorante adicionada destrói a membrana externa destas, e o complexo formado é removido através da camada de peptidoglicano,

que nas bactérias Gram-negativo é muito mais fina do que nas bactérias Gram-positivo, não tendo assim capacidade para reter o corante [13].

No fim do procedimento visualiza-se a lâmina ao microscópio.

Depois de realizado o teste de Coloração de Gram, são então realizados ensaios complementares, com base no resultado deste, através de um equipamento de identificação de microorganismos denominado de Vitek 2®. [5]

Realiza-se assim a observação microscópica da preparação realizada durante a coloração de Gram, como já referido, para a obtenção de resultados fiáveis, e analisa-se desta forma também a morfologia das bactérias em pesquisa, dada a sua aparência.

Classificando-se assim em três grandes grupos:

- Cocos;
- Bacilos;
- Cocobacilos;

4.2.4.3 Diferenciação Metabólica

Através do perfil metabólico e características bioquímicas dos microrganismos é possível identifica-los de forma mais rigorosa, e com uma taxa de incerteza baixa, nomeadamente no que respeita a bactérias, dado que a classificação dos microrganismos inclui principalmente a sua exigência perante nutrientes específicos, e a produção de metabolitos e enzimas específicas. [5]

Esta identificação é efetuada em equipamentos automatizados e específicos para tal, sendo apenas necessária a preparação do material biológico para colocar em microplacas compatíveis com os aparelhos, as quais possuem nos seus poços, nutrientes e substâncias específicas.

É para tal necessário aquando a preparação do material a utilizar, saber qual o tipo de microrganismo em questão (bactéria ou fungo), e qual a sua subdivisão no caso de se tratar da pesquisa de bactérias (Gram negativo, Gram positivo, cocos ou bacilos, de entre outras) para assim utilizar uma microplaca compatível com o microrganismo, uma vez que a utilização universal seria inexequível, dadas as diferentes exigências nutricionais dos vários tipos de microrganismos.

A preparação da solução a inserir na microplaca realiza-se na câmara de fluxo, inserindo-se o material biológico num tubo de Falcon com uma solução de Cloreto de

Sódio, agitando-se, e lendo-se a absorvância directa, tendo esta limites definidos consoante o procedimento técnico, que indica assim a quantidade de material viável para que a identificação do equipamento seja realizada com sucesso.

Para a posterior identificação, o equipamento pela qual tive oportunidade de trabalhar foi o Vitek 2®. [5]

O Vitek 2® é um equipamento com a tecnologia mais recente, utilizado para identificação de microrganismos que transferem a solução de material biológico para as microplacas, incubando-as, e rejeitando o material de preparação das mesmas.

Tem uma base de dados mais abrangente e completa, dando taxas de incerteza muito baixas, porém não sendo totalmente infalível, visto que por vezes não consegue identificar certos microrganismos, podendo a identificação apresentar mais que uma opção de resultado para a identificação em questão, sendo necessário realizar testes de natureza bioquímica ou morfológica indicados pelo programa para completar a identificação.

No final de todos os testes envolvidos neste processo de identificação de microrganismos, avaliam-se os resultados.

Nesta avaliação de resultados, o operador tem de ter em conta a incerteza indicada pelo equipamento na identificação pretendida, e a partir daí concluir se o microrganismo está identificado, ou se os resultados não garantem que se obtenha uma identificação fiável, avaliação esta que é confirmada por um segundo operador.

Quando tal incerteza acontece por parte do equipamento e não resolvida pelo operador, o microrganismo para o qual não é possível obter resultados fiáveis, é enviado para uma entidade exterior que realiza a identificação através de uma genotipagem própria e mais detalhada.

4.3 LCQ U4 – ESTABILIDADES FISICO-QUIMICAS

Na Labesfal, existem três tipos de estudos de estabilidade:

- **Estudos de estabilidade completos:** onde a frequência de análise é de 3 em 3 meses, no primeiro ano, de 6 em 6 meses, no segundo, e anualmente a partir daí, obedecendo à condição de longo termo. Nestes estudos os tempos de análise devem ser contados a partir da data de libertação do lote.
- **Estudos de stress ou estudos de estabilidade acelerada:** onde os produtos são submetidos a condições extremas ao longo de um determinado tempo, avaliando assim a sua estabilidade em condições de stress.
- **Estudos de Estabilidades “on-going”:** onde o número de pontos temporais a testar, tem de ser tal que permita pelo menos fazer uma análise de tendências, ou seja, pelo menos 3 pontos temporais têm de ser testados, incluindo o início e o fim do prazo de validade. Nestes estudos os tempos de análise devem ser contados a partir da data de fabrico e são normalmente feitas anualmente. [5]

A finalidade dos estudos sobre a estabilidade é proporcionar dados suficientes em como as características do medicamento ou dispositivo médico variam ao longo do tempo, sob a influência de determinados fatores ambientais, tais como, temperatura e humidade, de modo a estabelecer um período de validade e as condições de armazenamento recomendadas.

O planeamento de um estudo de estabilidade para um determinado produto, deve basear-se no conhecimento já adquirido para a matéria-prima e/ou estudos prévios em fases de desenvolvimento do produto.

As condições de armazenamento, a duração do estudo e a frequência de análise, devem ser suficientes para concluir sobre o comportamento do produto durante o seu período de validade em todos os mercados a que o produto se destina, e os testes, especificações e métodos de análise dos ensaios, bem como os estudos de stress, incluindo fotoestabilidade, são realizados de acordo com guidelines específicas. [5]

4.3.1 Seleção e estudo dos lotes

O número de lotes de estabilidades depende dos requisitos regulamentares dos países/regiões a que o produto se destina e do tipo de alteração que o estudo irá suportar.

O número de lotes a incluir no estudo deve ser indicado pelos responsáveis regulamentares da AIM.

Os lotes a considerar para estudo devem ser fabricados e embalados nas condições descritas pela AIM e no caso de haver novas submissões, devem seguir-se as condições propostas.

Os estudos de estabilidade completos devem ser efetuados em cada uma das dosagens/volume, e sempre que possível e justificável, pode ser aplicado um formato reduzido de bracktering e matrixing, que permite a redução do número de análises necessárias ao estudo, reduzindo assim os recursos sem comprometer a qualidade e a fiabilidade do estudo. [5]

4.4 ENSAIOS REALIZADOS NO LCQ U4 – ESTABILIDADES FISICO-QUIMICAS

Os ensaios realizados nos estudos de estabilidade foram todos aqueles suscetíveis de sofrer alteração ao longo do tempo e que correspondessem aos testes descritos para a AIM.

Nomeadamente:

- Descrição da aparência
- Desagregação
- Dissolução
- Espectofotometria
- Peso médio, diâmetro, dureza e espessura
- Titulometria
- Uniformidade de massa
- Uniformidade de conteúdo

4.4.1 Descrição da aparência

A aparência dos produtos é controlada quer pelo Laboratório de Controlo de Qualidade quer durante o processo de fabrico para que assim seja assegurada a qualidade do produto.

Nesta análise os parâmetros analisados são apenas os parâmetros visuais, e contam com:

- Análise da coloração
- Análise de características do produto.

Todos estes parâmetros estão descritos individualmente em cada tabela representativa e descritiva para cada produto, de modo a facilitar o analista. Contendo a análise feita em todos os tempos do determinado estudo.

4.4.2 Ensaio de Desagregação

Este ensaio é só feito para formas orais sólidas, e destina-se a determinar o grau de desagregação em meio líquido, no tempo definido. Utilizando o aparelho nas condições abaixo descritas, considera-se que a desagregação foi atingida quando:

- a) Não haja qualquer resíduo sobre a rede/cesto;
- b) Que se caso subsista um resíduo, este seja apenas constituído por uma massa mole que não inclua qualquer núcleo palpável, não embebido;
- c) Não subsistam sobre a rede mais do que fragmentos de revestimento.

Este ensaio não é só realizado pelo LCQ, mas também pela Produção e responsáveis do IPC.

Método: A parte principal do aparelho é constituída por uma estrutura metálica, contendo 2 copos cilíndricos e 2 conjuntos metálicos que suporta 6 tubos cilíndricos de vidro.

1. Em cada um dos 6 tubos, introduzir um comprimido e, seguidamente um disco de acrílico retentor (que impede a saída do comprimido quando mergulhado no meio)
2. Colocar o conjunto no braço metálico mecânico-movível.

3. Fazer funcionar o equipamento durante o tempo prescrito (máximo 15 minutos).
4. Controlar visualmente o estado de desagregação dos comprimidos e registar o tempo de desagregação quando todos os 6 comprimidos estiverem desagregados.

É necessário reforçar que após o término do ensaio e ao retirar o conjunto, verificar o estado dos comprimidos, pois o ensaio é só considerado satisfatório se todas as amostras tiverem sido totalmente desagregadas. [5]

4.4.3 Ensaio de Dissolução

A dissolução pode ser definida, de forma simplificada, como o processo pelo qual um fármaco é libertado da sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo.

As formas farmacêuticas sólidas devem passar por um processo de dissolução nos líquidos biológicos, nomeadamente do trato gastrointestinal e no meio estomacal, para que o fármaco possa ser absorvido e passe para a corrente sanguínea assegurando a sua eficácia terapêutica.

Durante muitos anos o teste realizado para verificar a libertação do fármaco da sua forma farmacêutica foi o de desagregação, mas com o passar do tempo, estudos revelaram que esse teste não era completamente adequado, uma vez que o comprimido pode ser facilmente fragmentado em partículas menores que, por sua vez, podem não libertar por completo o princípio ativo na velocidade adequada para exercer o efeito desejado. O teste de dissolução mostrou-se ser mais importante em estudos clínicos [14].

A absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas, administrados por via oral, depende da sua libertação dessa matriz, da dissolução ou solubilização dos mesmos em condições fisiológicas e da permeabilidade das membranas gastrointestinais [14].

Qualquer fator que altere os processos de desagregação e dissolução poderá afetar diretamente a biodisponibilidade, expressa em termos de quantidade de fármaco absorvido e velocidade do processo de absorção [14].

O ensaio de dissolução pretende determinar a velocidade de libertação dos princípios ativos das formas farmacêuticas sólidas, em meios específicos, tentando simular, na maior parte dos casos, condições fisiológicas [14].

O processo de dissolução consiste em quantificar a percentagem de princípio ativo que se liberta em solução, a partir de uma forma farmacêutica sólida intacta, grânulos ou pequenas partículas que se dissolvem durante o ensaio [14].

Para este tipo de ensaios utiliza-se, o aparelho com pá agitadora, ou com cestos de rede [16], dependendo do produto em análise.

Todas as partes do aparelho que estejam em contacto com a amostra ou com o meio de dissolução são quimicamente inertes e não devem nem adsorver, nem reagir com a amostra, nem ainda alterar o seu comportamento [15].

Todas as partes metálicas do aparelho que possam contactar com a amostra ou com o meio de dissolução devem ser feitas de aço inoxidável ou revestidas de modo a garantir que não haja interferências. É útil que se use um aparelho que permita a observação da amostra e do elemento de agitação durante o decorrer do ensaio [16].

Método: A parte principal do aparelho é constituída por uma estrutura metálica contendo água para facilitar o ajuste térmico do ensaio, e 7 copos cilíndricos de vidro (6 para ensaios e 1 que funciona como copo de controlo).

Cada copo com a capacidade máxima de 1 litro. E para a execução do ensaio é necessário:

1. Preparar o meio indicado para o ensaio e colocar no copo de vidro.
2. Ajustar a temperatura dos meios.
3. Colocar o acessório pretendido e específico para cada produto (cesto ou pá)
4. Definir o número de r.p.m. (rotações por minuto) e o tempo estabelecido para o ensaio.
5. Colocar todos os 6 produtos ao mesmo tempo e meter a funcionar o equipamento.

Ao contrário da desagregação, na dissolução o ensaio só acaba quando o tempo de ensaio chegar ao fim.

Após o término do ensaio, o analista retira cerca de 20 mL de cada solução e filtra para 6 recipientes distintos, com a ajuda de filtros específicos, onde

posteriormente vai diluir se necessário e determinar por espectrofotometria a absorvância de cada solução.

4.4.4 Determinação do peso médio, diâmetro, dureza e espessura

Os ensaios do peso médio, diâmetro, dureza e espessura, são ensaios que à semelhança dos ensaios de desagregação, também são feitos não só pelo LCQ mas também pelo IPC, através de um equipamento multifacetado.

. E o método do ensaio é baseado apenas na colocação de geralmente 20 comprimidos no tapete rolante do equipamento, estando o equipamento encarregue de fazer todas as determinações.

4.4.5 Ensaio de uniformidade de massa

Este ensaio é efetuado apenas pelo Laboratório de Controlo de Qualidade e consiste num ensaio onde é determinada, pela pesagem individual de 20 formas orais sólidas, a sua massa média.

O valor obtido não pode ter uma redução ou aumento superior a uma determinada percentagem inerente a cada produto.

4.4.6 Uniformidade de conteúdo

O ensaio de uniformidade de conteúdo das preparações apresentadas em formas farmacêuticas unitárias baseia-se na determinação do teor do princípio ativo das unidades que constituem a amostra, permitindo verificar se se encontram ou não dentro dos limites estabelecidos em relação ao teor médio da amostra.

Este ensaio faz-se com determinações baseadas em dois tipos de cromatografias:

- Cromatografia em camada fina
- Cromatografia líquida

4.4.6.1 Cromatografia

A cromatografia é essencialmente um método físico de separação em que os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma das quais estacionária e outra móvel que flui através da primeira.

A cromatografia ocorre como resultado de processos repetidos de adsorção durante o movimento dos componentes da amostra ao longo da fase estacionária, e a separação é devida à diferença de constantes de distribuição de cada um dos componentes da amostra. [19]

A cromatografia compreende um grupo diversificado e importante de métodos que permite separar componentes muito semelhantes de misturas complexas. Muitas dessas separações são impossíveis por outros meios. Em todas as separações cromatográficas, a amostra é transportada por uma fase móvel, que pode ser um gás, um líquido ou um fluido supercrítico.

Essa fase móvel é então forçada através de uma fase estacionária imiscível fixa, colocada na coluna ou em uma superfície sólida, sendo que as duas fases são escolhidas de modo que os componentes da amostra se distribuam entre as fases móvel e estacionária em vários graus.

Os componentes que são mais fortemente retidos na fase estacionária movem-se muito lentamente no fluxo de fase móvel, ao contrário dos componentes que se ligam mais fracamente à fase estacionária, que se movimentam muito mais rapidamente.

Como consequência dessas diferenças na mobilidade, os componentes da amostra separam-se em bandas que podem ser analisadas qualitativamente e/ou quantitativamente.

Os métodos cromatográficos podem ser classificados de dois modos. A primeira classificação está baseada no meio físico no qual as fases estacionárias e móvel entram em contacto.

Na **cromatografia por coluna / cromatografia líquida**, feita geralmente em HPLC ou UPLC, a fase estacionária é mantida dentro de um tubo estreito através do qual a fase móvel é forçada a passar sob pressão.

Na **cromatografia em camada fina**, a fase estacionária é suportada sobre uma superfície plana ou nos interstícios de um papel. [5]

4.4.6.1.1 HPLC (High Performance liquid chromatography)

A HPLC é uma técnica de separação baseada na diferença de distribuição das substâncias entre duas fases miscíveis, sendo a fase móvel líquida que passa através da fase estacionária contida numa coluna.

Este tipo de cromatografia baseia-se principalmente em mecanismos de absorção, distribuição de massa, troca iónica, exclusão de tamanho ou interação estereoquímica. [5]

4.4.6.1.2 UPLC (Ultra Performance liquid chromatography)

A UPLC é uma técnica de cromatografia líquida similar à HPLC, mas que permite tempos de análise mais curtos. [5]

4.4.6.2 Análise Qualitativa

Um cromatograma fornece apenas uma parte de informação qualitativa de cada espécie presente numa amostra, nomeadamente, o seu tempo de retenção ou a sua posição sobre a fase após um certo período de eluição.

Pode não levar à identificação positiva das espécies presentes na amostra mas fornece evidências seguras da ausência de certos compostos.

Assim, se a amostra não produz um pico no mesmo tempo de retenção de um determinado padrão usado em condições idênticas, pode-se considerar que o composto em questão está ausente ou a sua presença ocorre num nível de concentração abaixo do limite de deteção do procedimento. [5]

4.4.6.3 Análise Quantitativa

A cromatografia quantitativa em coluna está baseada na comparação da altura ou da área do pico do analito com a de um ou mais padrões de concentração.

Esta análise envolve a preparação de uma série de soluções padrão de composições próximas da solução desconhecida, e compara os valores médios dos picos finais das mesmas.

Após obtenção dos cromatogramas dos padrões e das amostras, são então comparados os valores médios da área e da altura do pico, onde através de uma folha de cálculo pré-definida, os analistas conseguem avaliar a estabilidade do produto.

A fonte de erro mais importante neste tipo de análise está geralmente associada à incerteza no volume colocado na amostra injetada. [5]

4.4.6.4 Fases Móveis

Na cromatografia de fase normal utilizam-se solventes menos polares. A quantidade de água na fase móvel deve ser medida com exatidão de modo a obter resultados reprodutíveis.

Na cromatografia de fase reversa são utilizadas fases móveis aquosas, com ou sem modificadores orgânicos.

Os componentes das fases móveis são normalmente filtrados para remover partículas de tamanho superior a 0,45 μm .

As fases móveis com vários componentes são preparadas medindo os volumes individuais de cada um dos componentes (ou pesando-os quando indicado) e fazendo depois a sua mistura. Como alternativa, os solventes separados podem ser controlados por diferentes válvulas da bomba e misturados na proporção desejada.

Na Labesfal, os solventes são normalmente desgaseificados, levando ao ultra-sons ou utilizando módulos de vácuo em linha que evitem a formação de bolhas no detetor.

Os solventes utilizados são normalmente isentos de estabilizadores e são transparentes no comprimento de onda utilizado, quando se utilizam detetores ultravioleta.

Se for necessário fazer o acerto de pH, este deve ser feito apenas na componente aquosa da fase móvel e não na mistura.

Se forem utilizados tampões, deve fazer-se a lavagem adequada do sistema com mistura de água e do componente orgânico numa proporção de 95:5 de modo a impedir a cristalização de sais após a realização do ensaio. [5]

4.4.6.5. Espectrofotometria

O conhecimento da absorção de luz pela matéria é a forma mais usual de determinar a concentração de compostos presentes numa determinada solução.

A maioria dos métodos utilizados na indústria farmacêutica para determinação do teor em substância ativa, envolve a determinação espectrofotométrica de compostos. [17].

A espectrofotometria, ou medida de absorção ou transmissão de luz, é uma das mais valiosas técnicas analíticas, e por meio dela, componentes desconhecidos de uma solução podem ser identificados por seus espectros característicos ao ultravioleta, visível, ou infravermelho.

Quando um feixe de luz monocromática atravessa uma solução com moléculas absorventes, parte da luz é absorvida pela solução e o restante é transmitido. A absorção de luz depende basicamente da concentração das moléculas absorventes e da espessura da solução. [17]

Método: Após a lavagem das duas células, o analista deve preencher ambas com a solução padrão e determinar a absorvância das mesmas, criando assim o seu 0 (zero), ou seja, a sua absorvância padrão/controlado.

Seguidamente, deverá voltar a lavar as duas células com a mesma solução padrão, e após uma boa lavagem, encher apenas uma das células com a solução pretendida, e medir então a absorvância da mesma.

Para cada solução, os GMP's obrigam a mais do que uma determinação, tendo então de se duplicar o processo para cada solução, afim de se criar uma média, média essa, que vai significar um valor mais fiável para cada valor de absorvância de cada solução.

4.4.6.6. Titulometria

A Titulação é uma técnica usada para determinar a concentração de um reagente conhecido de uma determinada solução. [18]

O método consiste em reagir completamente um volume conhecido de uma amostra com um volume determinado de um reagente de natureza e concentração conhecida.

A substância de interesse em qualquer determinação recebe o nome de analito.

A espécie química com a maior concentração definida recebe o nome de titulante, que é, em geral, uma solução obtida a partir de um padrão primário, sendo na maioria das vezes um sal.

A solução a ter sua concentração determinada recebe o nome de titulado.

Após terminada a titulação, ou seja, quando ocorre o ponto de viragem do analito, o analista faz os cálculos através do volume de titulante gasto, vendo assim se existe ou não alteração em relação ao tempo anterior.

CAPITULO V

5. CONCLUSÃO

Em jeito de conclusão e reflexão sobre o trabalho executado durante o estágio realizado, considero ter alcançado e superado todos os objetivos previstos para este, no âmbito em que o tal foi realizado.

Cumpri de forma autónoma e empenhada as tarefas que me foram atribuídas, procurei esclarecer dúvidas e aumentar o meu conhecimento na área da indústria farmacêutica na sua generalidade, integrei-me com bastante facilidade nas várias equipas de trabalho, e adquiri conhecimentos técnicos que vieram complementar os que já tinha, de forma a encaixar-me no perfil do Técnico de Farmácia.

Também o plano de estágio delineado, tendo em vista os objetivos gerais, foi cumprido na íntegra, tendo realizado muitos dos ensaios e procedimentos previstos no mesmo, além da observação de outros mais.

Tive ainda possibilidade de visualizar outros ensaios e procedimentos realizados nos dois laboratórios que não se encontravam descritos no plano de estágio, mas dadas várias condicionantes não os pude realizar como pretendia, estando de todo grato pela oportunidade que me forneceram de pelo menos observar e desta forma poder aumentar os meus conhecimentos.

Considero que o estágio de integração à vida profissional, componente da unidade curricular de Estágio Profissional II, apresenta uma grande vantagem em relação aos já realizados, uma vez que dá oportunidade aos alunos de escolherem a área científica que mais se adequa às suas perspetivas profissionais, “abrindo assim um vasto leque de portas futuras”.

Escolhi assim realizar este estágio em indústria farmacêutica, uma vez que é uma área na qual ainda não tinha qualquer experiência a nível técnico, e pouco a nível teórico, podendo assim aumentar os meus conhecimentos em relação ao funcionamento da indústria farmacêutica, principalmente a nível do controlo de qualidade.

Considero esta oportunidade bastante importante para o meu futuro, por toda a aprendizagem adquirida durante este processo a vários níveis, e por desta forma cumprir também um objetivo que tinha definido para o meu percurso académico desde o início, e ainda mais consolidado pela oportunidade que tive de estagiar tanto na microbiologia, como no sector das estabilidades, porque na minha opinião é importante procurar novas áreas de interesse, lutarmos pelos nossos objetivos, aumentarmos o nosso conhecimento, e sobretudo arriscar, saindo fora da nossa zona de conforto, mesmo quando não sabemos exatamente aquilo que iremos encontrar, mesmo existindo algumas dificuldades relativas a conhecimentos teóricos, mostrado assim, enquanto estudantes, que podemos ser, no futuro, profissionais mais irreverentes e com espírito de iniciativa.

Posto isto, as minhas expectativas foram totalmente alcançadas e até superadas, tendo sido como tal uma experiência extremamente importante, gratificante e interessante para o meu futuro a nível pessoal, profissional e académico.

BIBLIOGRAFIA

1. Regulamento específico de ESTÁGIO PROFISSIONAL, ESS – IPG;
2. Guia de Elaboração e Apresentação de Trabalhos Escritos de 2008 da ESS- IPG;
3. Manual de Acolhimento da Labesfal Genéricos –Fresenius Kabi Portugal
4. Sitio Oficial da Fersenius Kabi Portugal - <http://www.fresenius-kabi.pt>;
5. Procedimentos Técnicos da Labesfal Genéricos – Fresenius Kabi Portugal.
6. Sousa, Alberto; Abiko, Alex, “*Metodologia para desenvolvimento e implantação de Sistemas de Gestão da Qualidade em Empresas*”, São Paulo, 1997
7. Sitio Oficial da Ordem dos Farmacêuticos, www.ordemfarmaceuticos.com
8. European Commission - Enterprise and Industry Directorate General - Consumer goods – Pharmaceuticals, *Good Manufacturing Practice*, Volume 4, Basic Requirements for Medicinal Products, chapter 1, Quality Management.
Disponível em
<http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/homev4.htm>
9. European Commission - Enterprise and Industry Directorate General - Consumer goods – Pharmaceuticals, *Good Manufacturing Practice*, Volume 4, Basic Requirements for Medicinal Products, chapter 6, Quality Control.
Disponível em
<http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/homev4.htm>
10. Mass & Peither, *GMP Manual – Good Manufacturing Practice for Medicinal Products e Implementation*, GMP Publishing
11. Ferreira, W. F. C., Sousa, J. C. F. de (1998) *Microbiologia – volume 1*, Lidel – Edições Técnicas;
12. Ferreira, W. F. C., Sousa, J. C. F. de, Lima, N. (2010) *Microbiologia*, Lidel – Edições Técnicas;
13. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A., (2010) *Microbiologia Médica* (6ª edição), Elsevier Editora.
14. Marcolongo, Raquel, *Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica*, São Paulo, 2003.
15. Guidance for Industry , *Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*, Disponível em: www.fda.gov
16. Farmacopeia Portuguesa VII, 2002

17. Queenie S. H. Chui, Ricardo R. Zucchini, e Jaim Lichtig: “Qualidade de medições em química analítica. Estudo de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica com chama”, São Paulo, 2001
18. Descritores em Ciências da Saúde, Disponível em : http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&task=exact_term&previous_page=homepage&interface_language=p&search_language=p&search_exp=Titulometria&show_tree_number=T
19. Site informativo: <http://jacintocastanho.planetaclix.pt/cromatografia.htm>

ANEXOS

Anexo 1 – Capa da apresentação para o Centro de Estudos Ibéricos (CEI) sobre o “Desenvolvimento de Dermocosméticos com Água Termal”.



Anexo 2 – Capa da apresentação para o *Symposium* Ibérico sobre o “Desenvolvimento de Produtos Dermocosméticos com Águas Termais”.

The image shows the cover of a presentation. At the top, there are two logos for IPG (Instituto Politécnico de Guarda) featuring a stylized leaf and the text 'IPG' and 'Politécnico de Guarda'. Below these are the logos for IPGLABS and CPIRN, with IPGLABS in red and black and CPIRN in black. To the right, the text 'SYMPOSIUM IBÉRICO' is written in a large, bold, black font, with 'Água & Tecnologias' underneath it. The date '05.06.2015' is positioned at the bottom right. The main title, 'DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS DERMOCOSMÉTICOS COM ÁGUAS TERMAIS', is written in white, bold, uppercase letters on a dark purple background. Below the title, the names and contact information of the organizers are listed in white text.

**DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS DERMOCOSMÉTICOS
COM ÁGUAS TERMAIS**

Fábio Nunes (estudante do 4º ano de Farmácia 1º Ciclo – ESS/IPG)
Maximiano Ribeiro (mribeiro@ipg.pt)
Paula Coutinho (coutinho@ipg.pt)
André Araújo (andrearaujo@ipg.pt)

IPGLABS
CPIRN

SYMPOSIUM IBÉRICO
Água & Tecnologias

05.06.2015

Anexo 3 – Certificado de participação no Centro de Estudos Ibéricos (CEI).



Declaração

O Centro de Estudos Ibéricos declara que o aluno **Fábio Nunes**, do 4.º ano do curso de Farmácia da Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico da Guarda, apresentou uma comunicação no âmbito do Projeto de investigação "Desenvolvimento de dermocosméticos com água termal" na conferência " Termalismo e Saúde", inserida no 11.º Ciclo de Conferências " Saúde Sem Fronteiras", realizada dia 14 de Maio de 2015, na Sala Tempo e Poesia da Biblioteca Municipal da Guarda.

Guarda, 03 de Junho de 2015

A Coordenadora do Centro de Estudos Ibéricos

Alexandra Correia Isidro



Anexo 4 – Certificado de participação no *Symposium* Ibérico.



SYMPOSIUM IBÉRICO – ÁGUA & TECNOLOGIAS

DIPLOMA DE PARTICIPAÇÃO

Certifica-se, que o(a) Ex.mo(a) Sr.º(a) **FÁBIO NUNES (Estudante da Licenciatura em Farmácia)** esteve presente e participou no “SYMPOSIUM IBÉRICO – ÁGUA & TECNOLOGIAS”, que se realizou em Abrantes – Portugal, no dia 05 de junho de 2015, com a duração total de 8 horas.

Abrantes, 05 de Junho de 2015

A Organização

O-LOGOS

Associação de
Tecnologia e
Inovação

Tecnopolo Vale do Tejo
Rua José Dias Simão
2200-062 Alferrirede


Eng.º João Carlos Caseiro Gomes
(Presidente da Direcção do ALogos)

