



RELATÓRIO DE ESTÁGIO

REALIZADO NO ÂMBITO DO MESTRADO INTEGRADO
EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Beatriz Lima de Castro

M

2022-2023

Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Relatório de Estágio Curricular

Beatriz Lima de Castro

Erasmus Medical Center

janeiro de 2023 a abril de 2023

Farmácia Peninsular

maio de 2023 a agosto de 2023

Relatório apresentado para a obtenção do grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Professora Doutora Irene Jesus

Monitor Farmácia Hospitalar: Puck Van den Broek e Prof.^a Dr.^a Liesbeth Ruijgrok

Monitor Farmácia Comunitária: Dr.^a Sara Henriques

Outubro de 2023

Declaração de Integridade

Declaro que o presente relatório é de minha autoria, não foi total nem parcialmente utilizado previamente noutro curso ou unidade curricular, desta ou de outra instituição, e que a informação o nele contida é da minha inteira responsabilidade. As referências a outros autores (afirmações, ideias, pensamentos) respeitam escrupulosamente as regras da atribuição, e encontram-se devidamente indicadas no texto e nas referências bibliográficas, de acordo com as normas de referenciação. Tenho consciência de que a prática de plágio e auto-plágio constitui um ilícito académico.

Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, dia de 26 de abril de 2023

Beatriz Lima de Castro

Resumo

A elaboração do Relatório de Estágio, produto da unidade curricular "Estágio", representa uma das fases finais do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas pela Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. É um momento de transição para o mundo do trabalho. Para um estudante de Ciências Farmacêuticas, o semestre dedicado ao estágio curricular tem como objetivo principal a aplicação dos conhecimentos adquiridos ao longo dos cinco anos de percurso académico, entre licenciatura e mestrado. Além disso, oferece aos estudantes a oportunidade única de conhecerem as realidades concretas do papel fundamental que os farmacêuticos desempenham na comunidade.

O estágio curricular teve início em janeiro no Hospital Erasmus MC em Roterdão, Holanda, através do programa Erasmus+. Esta oportunidade de trabalhar no hospital por um período de três meses foi o culminar de uma extensa busca para explorar diversas culturas e realidades de cuidados de saúde diferentes. Sob a orientação de Puck van den Broek (MSc) e da Prof.^a Dr.^a Liesbeth Ruijgrok, participei ativamente em vários projetos em curso no hospital, orientados para a redução do desperdício diário de preparações intravenosas e para o estabelecimento de um ambiente mais sustentável, englobando as dimensões financeira e ambiental. Da minha experiência como farmacêutica estagiária no Erasmus MC, surgiram três atividades distintas, sendo que as duas primeiras resultaram diretamente da iniciativa global de sustentabilidade (Atividades 1 e 2) e a terceira teve origem na participação em reuniões semanais destinadas a facilitar discussões colaborativas entre os farmacêuticos para abordar os casos que surgiam no hospital. No dia 15 de maio, sob a orientação da Dra. Sara Henriques, iniciei o meu estágio em farmácia comunitária na Farmácia Peninsular. Durante este período, tive a oportunidade de melhorar as minhas capacidades de comunicação com os utentes e de colaborar eficazmente em equipa. Desenvolvi três atividades distintas com os objetivos principais de apoiar os meus colegas no seu trabalho e promover a educação e sensibilização para a saúde junto do público-alvo.

No que diz respeito à estrutura do relatório, este encontra-se dividido em duas partes: a primeira parte corresponde às atividades realizadas no âmbito da farmácia hospitalar e da farmácia comunitária, divididas nas secções A e B, respetivamente. A segunda parte diz respeito aos projetos científicos relevantes para o dia a dia da farmácia comunitária. O tema 1 diz respeito aos efeitos potenciais da administração de melatonina no início da puberdade nos jovens. O tema 2 aborda as diferentes propriedades da suplementação com Geleia Real nas doenças neurodegenerativas, nomeadamente a Doença de Alzheimer.

Agradecimentos

Chegámos ao fim de uma viagem que foi um misto de enriquecimento e desafios. Estes cinco anos foram repletos de ansiedades, medos, preocupações, mas também de momentos de bravura, de coragem, de felicidade, de intimidade, de amor e de pura alegria por termos finalmente chegado até aqui. Foi, sem dúvida, uma viagem marcada pelos seus desafios e pela montanha russa de emoções.

Quero expressar o meu agradecimento à Professora Doutora Irene Jesus pelo seu apoio e orientação incansáveis durante o meu estágio. Esteve sempre disponível para me ajudar, independentemente das circunstâncias.

Aos meus colegas do hospital, em especial à Prof.^a Dr.^a Liesbeth Ruijgrok e à Puck van den Broek, estou profundamente grata por me incentivarem a sair da minha zona de conforto e por me desafiarem diariamente a lutar por mais e melhor.

À equipa da Farmácia Peninsular, em particular à Dra. Sara Henriques e à Sofia, não há palavras para expressar a minha gratidão pelo vosso apoio inigualável e disponibilidade para investir tempo extra no meu percurso profissional. Levo comigo amizades para toda a vida.

À Tatiana, ao Belinha, à Bia, à Vera e à Sofia, o vosso apoio e amizade desde o primeiro dia de faculdade significam o mundo para mim. Sinto um orgulho imenso por cada um de vocês.

Às minhas queridas amigas Jacob, Mar e Sofs, a vossa presença e apoio incondicionais em todos os capítulos da minha vida fizeram-me chegar até aqui. Independentemente da distância, estão sempre comigo no meu coração.

Ao Bernardo, que tem sido o meu suporte emocional ao longo desta jornada. Não tenho palavras para te agradecer; sem ti, não estaria onde estou hoje.

Por último, mas certamente não menos importante, uma gratidão tão grande quanto o próprio mundo vai para a minha família. Eles foram, são e serão sempre o meu porto seguro.

Índice Geral

Declaração de Integridade	iii
Resumo	iv
Agradecimentos	v
Índice Geral	vi
Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas	viii
Índice de Anexos	ix
Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos	x
Parte 1: Atividades desenvolvidas no âmbito do Estágio Curricular	1
SECÇÃO A: Farmácia Hospitalar	1
A. 1 Contextualization of the Curricular Internship	1
A. 2 Timeline and explanation.....	2
A. 3 Activity 1: The impact of changing intravenous preparations every 24 hours	5
A. 4 Activity 2: Minimizing excess intravenous preparations in the Children's Hospital9	
A. 5 Activity 3: Fentanyl nasal spray for children in emergency wards	12
SECÇÃO B: Farmácia Comunitária.....	16
B. 1 Contextualização do Estágio Curricular	16
B. 2 Cronograma e sua explicação	17
B. 3 Atividade 1: Solução de Ácido Bórico à saturação.....	19
B. 4 Atividade 2: Disponibilidade de testes de gravidez na Farmácia Comunitária....	20
B. 5 Atividade 3: Análise nutricional das fórmulas infantis.....	24
PARTE 2: Temas de desenvolvimento	28
Tema 1: O impacto da administração de melatonina no início da puberdade	28
1.1 Contextualização	28
1.2 Desenvolvimento	28
1.2.1 A fisiologia da puberdade	28
1.2.2 Melatonina: funções e processo de biossíntese	30
1.2.3 As perturbações do sono mais associadas à infância e à adolescência	31
1.2.4 Kisspeptina, melatonina e a regulação dos processos de puberdade e reprodução.....	33
1.2.4.1 Estudos realizados em animais.....	33
1.2.4.2 O Papel da melatonina no ser Humano: O que se conhece até à data ..	37
1.2.5 Terapêutica não farmacológica	38
1.3 Considerações finais e conclusões	39

Tema 2: A ação neuroprotetora da Geleia Real na Doença de Alzheimer	40
2.1 Contextualização	40
2.2 Desenvolvimento	40
2.2.1 A Doença de Alzheimer	40
2.2.1.1 Principais características associadas à Doença de Alzheimer	40
2.2.1.2 As diferentes fases da Doença de Alzheimer	41
2.2.1.3 Fatores de risco não modificáveis da Doença de Alzheimer	41
2.2.1.4 Fatores de risco modificáveis e prevenção da Doença de Alzheimer	42
2.2.1.5 A relação existente entre a Síndrome Metabólica e a Doença de Alzheimer	43
2.2.2 A Geleia Real	44
2.2.2.1 A Composição da Geleia Real	44
2.2.2.2 As propriedades da Geleia Real	45
2.2.3 A ação neuroprotetora da Geleia Real	46
2.2.3.1 Os benefícios da administração de Geleia Real na Doença de Alzheimer	46
2.2.3.2 O potencial terapêutico do ácido 10-HDA na Doença de Alzheimer	50
2.3 Considerações finais e conclusões	51
Conclusão global	52
Bibliografia	53
Anexos	62

Índice de Figuras

Figura 1. Formatos disponíveis de um teste de gravidez	21
Figura 2. Processo biossintético da melatonina	31
Figura 3. Taxa de abertura vaginal aos 32, 37 e 42 dias de idade nos grupos NS e MLT	36
Figura 4. Peso corporal aos 32, 37 e 42 dias de idade nos grupos NS e MLT	36
Figura 5. Níveis plasmáticos de testosterona, FSH, prolactina e melatonina	38
Figura 6. Diferentes fases da Doença de Alzheimer	41
Figura 7. Interligação da Síndrome Metabólica com a DA	44
Figura 8. Níveis plasmáticos de glucose às 0, 1 e 2h depois da realização do primeiro e do segundo TOTG, uma semana mais tarde	47
Figura 9. Concentrações de MDA nos grupos controlo, "Sham", "A β ", "A β + RJ50" e "A β + RJ100"	49
Figura 10. Nível de TOS nos grupos controlo, "Sham", "A β ", "A β + RJ50" e "A β + RJ100"	49
Figura 11. TAC nos grupos controlo, "Sham", "A β ", "A β + RJ50" e "A β + RJ100"	50

Índice de Tabelas

Table 1. Scheduled activities during the Hospital internship.....	2
Table 2. Total amount of syringes discarded per week	6
Table 3. Number of administration days the syringes could have been used	7
Table 4. Discarded preparations both before and after the installation of the screens.....	10
Table 5. Fentanyl dose per weight	14
Tabela 6. Cronograma do estágio em Farmácia Comunitária	17
Tabela 7. Escala de Tanner: Desenvolvimento dos órgãos genitais masculinos e desenvolvimento mamário feminino	28
Tabela 8. Escala de Tanner: Desenvolvimento dos pelos púbicos masculinos e femininos	29
Tabela 9. Prevalência de distúrbios do sono em crianças e adolescentes com condições psiquiátricas	32
Tabela 10. Níveis séricos hormonais de GnRH, FSH e GnIH aos 10 dias	35

Tabela 11. Níveis séricos hormonais de GnRH, FSH e GnIH aos 15 dias	35
Tabela 12. Níveis séricos hormonais de GnRH, FSH e GnIH aos 20 dias	36

Índice de Anexos

Anexo A: Comparison of the results obtained before and after the implementation of the screens	62
Anexo B: Assessing the Feasibility of Implementing the Two-Batch per Day Procedure in Erasmus MC: Barriers and Benefits	64
Anexo C: Fentanyl nasal administration flyer	73
Anexo D: Solução Alcoólica de Ácido Bórico à saturação.....	75
Anexo E: Testes de gravidez disponíveis na farmácia	77
Anexo F: Panfleto a ser cedido aos utentes da farmácia	78
Anexo G: Disponibilidade de fórmulas infantis na farmácia (formação interna)	81

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

A β : Beta-amiloídes	IL: Interleucina
AGEs: Produtos finais de glicação avançada	IV: Intravenous
APP: Proteína Precursora Amiloide	LCR: Líquido Cefalorraquidiano
APVL: Alergia à Proteína do Leite de Vaca	LH: Hormona Luteinizante
ARA: Ácido Araquidónico	MAD: Mucosal Atomization Device
ARC: Núcleo Arqueado	MDA: Malondialdeído
BDNF: Fator Neurotrófico derivado do Cérebro	MRJPs: Proteínas Principais da Geleia Real
BHE: Barreira-Hemato-Encefálica	NF-H: Neurofilamento H
BO: Back Office	NGF: Fator de Crescimento dos Nervos
CDR: Clinical Drug Research	NO: Óxido Nítrico
CNS: Central Nervous System	NOR: Teste de Reconhecimento de Objetos
COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease	QMS: Quality Management System
DA: Doença de Alzheimer	ROS: Radicais livres de oxigénio
DHA: Ácido Docosa-hexaenoico	RP3V: Região periventricular rostral do terceiro ventrículo
DI: Índice de Discriminação	RTA: Ready-To-Administer
DM: Diabetes Mellitus	SAFS: Síndrome do Atraso das Fases do Sono
FO: Front Office	STZ: Streptozotocina
FSH: Hormona Folículo Estimulante	TCA: Capacidade Antioxidante Total
GDNF: Fator Derivado de Células Glia	TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa
GMPs: Good Manufacturing Practices	TOS: Estado Oxidante Total
HA: Hipoalergénico	TOTG: Teste Oral de Tolerância à Glucose
hCG: hormona Gonadotrofina Coriónica	TPN: Total Parenteral Nutrition
10-HDA: 10-hidroxi-2-decenóico	WHO: World Health Organization
HPGA: Eixo Hipotálamo-Pituitário-Gonadal	
ICU: Intensive Care Unit	
ICV: Intracerebroventricular	
IFN- γ : Interferão alfa	

Parte 1: Atividades desenvolvidas no âmbito do Estágio Curricular

SECÇÃO A: Farmácia Hospitalar

A. 1 Contextualization of the Curricular Internship

Through my participation in the Erasmus+ program in Erasmus Medical Central I had the opportunity to collaborate with the hospital team and obtain an in-depth understanding of the inner workings of a hospital pharmacy, as well as gaining an insight into the daily responsibilities and challenges of working as a hospital pharmacist in the Netherlands.

The establishment of a national health insurance program in the country traces back to 1941, where more than half of the population had access to public health insurance, with only the most prosperous able to opt for private insurance.¹ However, population growth over the years has led to longer hospital waiting lists, prompting major reforms to the Dutch National Health System. The implementation of the Health Insurance Act in 2006 paved the way for the integration of public and private sectors into a universal health care system.¹ Currently, all residents of the Netherlands are required to obtain a Statutory Health Insurance from private insurers, which covers essential services such as hospital care, home nursing care, and medication prescriptions. Many individuals also choose to purchase private complementary insurance to access a broader range of services like dental care, physiotherapy and alternative medicine.¹

Located at Doctor Molewaterplein 40, 3015 GD, Rotterdam, Netherlands, the Erasmus Medical Center is the largest hospital in Rotterdam and is home to a team of highly skilled and esteemed professionals. Presently has four distinct locations: Erasmus MC, the main location, Sophia Children's Hospital; the Cancer Institute; and the recent inaugurated Transplant Institute. Situated in a central location, the pharmacy (*depotheek*) supports all the Medical Centre's facilities and is equipped with designated medication rooms for drug storage and supply, as well as safety rooms containing laminar air flow units used for the preparation of medicines intended for administration. The pharmacy is divided into three different offices: Front Office (FO), Back Office (BO), and Research, Education, and Training office (R&E&T). The BO provides a variety of services, comprising the pharmacy laboratory, which is one of the largest Clinical and Toxicology laboratories in the Netherlands, the Logistics and Administration office, the preparation of intravenous (IV) and oral medication, Total Parenteral Nutrition (TPN), and cytostatic for the nursing wards and day treatment, and, last but not least, a specialized department dedicated to Clinical Drug Research (CDR). All these departments operate under the governance of a robust Quality Management System (QMS) that ensures the utmost quality and safety of all procedures carried out in the hospital pharmacy.

During my internship, I had the privilege of being supervised by Prof. Dr. Liesbeth Ruijgrok and Puck van den Broek (MSc), who not only helped me acclimate to the hospital environment but also provided guidance throughout my experience as a pharmacist intern.

A. 2 Timeline and explanation

Each day at the hospital, a handover (known as *overdracht* in Dutch) takes place, bringing together the entire team of pharmacists to discuss relevant cases that the on-call pharmacist has handled during the night, weekend or holiday. The meeting as the purpose to, not only enable the sharing of crucial information among team members about the cases that have been managed, but also provide them with an opportunity to offer their professional opinions and address any doubts or questions that may arise. To ensure the participation of international students and pharmacists, the *overdracht* is conducted in English on Tuesdays and Fridays. Additionally, clinical pharmacology meetings are held every Monday and Thursday, during which research projects on upcoming topics are presented and discussed by members of the hospital.

Throughout the stay at Erasmus MC hospital, I had the opportunity to go through different departments and familiarize myself with the multitude of tasks routinely undertaken by the team of professionals who operate within the BO (table 1).

Table 1. Scheduled activities during the Hospital internship

February 14 th	Procurement, logistics and administration department
February 16 th	Preparation unit of ready-to-administer drugs, Total Parenteral Nutrition (TPN) and cytostatics
February 28 th	Clinical-pharmaceutical and toxicological laboratory
March 3 th	Quality Management System Department
April 7 th	Day treatment care

A. 2.1 Procurement, Logistics and Administration Department

The team at the Purchasing and Logistics Office is responsible for acquiring medications at the most cost-effective yet safest possible manner. These medications are then distributed to all hospital wards, both by manual collection as well as dispensing via pillpick system (medication and unit-dose packing robot), ensuring that they are properly prepared and delivered to patients. Additionally, the team is responsible for managing the inventory levels accurately to ensure proper stock management. In cases where drug suppliers are unable to provide medications either temporarily or permanently withdrawn from the market, the department recommends alternative medications and consult with clinical hospital pharmacists for their professional opinions.

A. 2.2 Preparation unit of Ready-To-Administer drugs, TPN and Cytostatic

The preparation of medications is carried out in adherence to the European Guideline for Good Manufacturing Practices (GMP). A pharmacy assistant is responsible for administrative duties, such as printing preparation slips that contain essential information about the patient, medication name, and dosage to track medications that require preparation. The pharmacy

assistant also provides necessary materials to another pharmacy assistant responsible for medication preparation. If required, particularly during urgent situations or at night when pharmacy technicians are unavailable, nurses may assume responsibility for medication preparation. Nonetheless, compounding responsibilities generally lie with the pharmacy, and are performed in accordance with GMP. This process is carried out exclusively in designated laminar air flow units, after a physician correctly prescribes a medication order. Prior to each preparation, the laminar flow units undergo a thorough cleaning and disinfection process. Access to the area is limited to authorized personnel, who adhere to the proper clothing policy, ensuring cleanliness, tidiness, and disinfection. Only one person is allowed on a safety laminar flow unit during the compounding process. Personnel authorized to access the area are required to wear disposable gloves, replacing them every 30 minutes or sooner if any visible contamination or damage to the gloves occur. The release of the newly-prepared medication is, then, carried out by an authorized senior pharmacy assistant or pharmacist.

A. 2.3 Quality Management Department

The pharmacy's Quality Management department consists of pharmacists whose responsibilities include developing and implementing a long-term quality care system that aligns with the Erasmus MC Hospital policy. The QMS includes a Pharmacy Site Master File and a Pharmacy Quality manual and is digitally accessible to the pharmacy staff. The pharmacists on this department are tasked with ensuring the quality of every procedure within the hospital facilities. In the event of an incident, complaint, or abnormality in the hospital's normal functioning, such as a medication compounding error, a Medical Incident Procedure (MIP) must be reported, using the QMS to enable the implementation of appropriate security measures and improvements. The MIP procedure is assigned a risk score ranging from one to four, with four being the most severe and requiring in-depth investigation. Patients can also report MIPs when they have complaints about their treatment, such as incorrect medication dosage or a longer-than-maximum wait time for medication administration.

A. 2.4 Clinical-Pharmaceutical and Toxicological Laboratory

In the Clinical-Pharmaceutical and Toxicological Laboratory pharmacy technicians are responsible for routinely analyzing the presence of various drugs within the pharmacy (cannabinoids, benzodiazepines, opioids, barbiturates, antibiotics, anti-depressants, anti-epileptics, cardiac drugs, immunosuppressants, and caffeine) on biological samples like blood, urine, and cerebrospinal fluid using immunological and chromatographic methods. They also conduct postmortem drug analyzes on femoral blood. Further result verification, evaluation and advise is provided by the hospital pharmacists.

A. 2.5 Day Treatment Care

The Day Care department is divided into two sections: oncology and non-oncology. Patients come to receive their intravenous medication infusions as needed, depending on their disease type and characteristics. The non-oncology department primarily manages chronic diseases such

as Crohn's Disease or Lupus. The hospital pharmacists assigned to this department work with pharmacy technicians and nurses to resolve any medication order discrepancies and ensure they do not reoccur. Every two months, a meeting is held with all staff members to discuss potential issues and ways to improve the compounding, delivery, and administration process of these specific and costly medications, with a focus on efficiency, sustainability, cost-effectiveness, and pollution reduction.

A. 3 Activity 1: The impact of changing intravenous preparations every 24 hours

A. 3.1 Contextualization

The current Hospital Guideline stipulates that all IV medication must be substituted on a daily basis. As a result, the nursing staff in each ward undertake the task of replacing IV medication every 24 hours. For this reason, finding a way to mitigate the requirement for daily replacement of IV medication, not only would alleviate the excessive workload of the nursing staff in changing syringes, but could also have a substantial and positive effect on reducing the expenses associated with medication, in addition to being a more sustainable option.

In urgent situations, particularly during nighttime when pharmacy technicians are unavailable, nurses may have to prepare IV medications themselves before administration. However, as they are not provided with appropriate materials to work in sterile conditions, there is no guarantee of microbial contamination-free preparations during compounding. Therefore, these compounded medications must be changed every 24 hours to ensure patient safety. On the other hand, medications prepared under laminar flow conditions in the hospital pharmacy adhere to GMPs and pose little to no risk of contamination after production. As such, there is no critical need to change them every 24 hours. The matter of concern is the resemblance between medication compounded in the laminar flow units, under strict and specific conditions, and medication prepared by the nurses. Due to the lack of distinction among them, attempting to extend the administration times of pharmacy-produced drugs could pose a risk, as there is no guarantee that they were not produced by the nurses instead. Nonetheless, the hospital acquires *ready to administer* (RTA) sterilized syringes from the manufacturer A15 that are easily distinguishable from those prepared within the hospital, because they are made of transparent plastic material and have a white plunger, unlike the white plastic material used for the rest of the medications. As a result, since the possibility of confusion with other IV preparations is minimal, an investigation in the Pediatric Intensive Care Unit (ICU), focused primarily on these RTA syringes, was conducted. The purpose of the study was to collect and examine information on the impact of the daily discarded sterilized RTA syringes on the overall costs and workload of the hospital staff, in order to determine the potential outcomes of extending their administration time.

A. 3.2 Development

According to the World Health Organization (WHO), an RTA product is defined as «an injectable medicine that requires no further dilution or reconstitution and is presented in the final container or device, ready for administration or connection to a needle or administration set». ² The ideal RTA device must be manufactured in accordance with current GMP and eliminate the need for manual manipulation. The pre-printed label should adhere to the *Institute for Safe Medication Practices* (ISMP) labeling Guidelines and, along with the barcode, be clearly visible on the exterior of the syringe to eliminate any potential for confusion. In addition, these devices should be prefilled with a standardized single dose and specifically designed for individual utilization. As they are manufactured in advance, in a sterile environment, RTA syringes minimize the need for manipulation and have the potential to considerably reduce errors that arise from

manual medication preparation.² This feature makes them a secure and reliable intravenous drug delivery system, thus decreasing the probability of harm to patients.^{3,4}

Hence, to assess the effects of using RTA syringes on a daily basis, and in order to understand whether an increase in their hang time would impact the overall expenses within the Hospital, the nurses were asked to store all RTA syringes after a syringe change, and to complete the attached white labels, before putting them on the barrels in each department.

A. 3.2.1 Methods

The investigation was undertaken at the units 2 and 3 from the Pediatric ICU in the Sophia Children's Hospital, where children who need special medical care are admitted every day. The process of gathering data on patient number, discarding date, infusion rate, type of medication, amount of remaining fluid, and reason for discarding occurred over a period of two weeks (from January 30th to February 12th).

During the study, quantitative research was employed, and data was collected and managed using Excel. The first step in the data processing was to calculate the theoretical number of days for which the syringes could have been used, if not discarded within 24 hours. To do so, for the purpose of the study, two variables previously obtained were employed: the remaining volume of fluid in the syringe (measured in mL) and the infusion rate (measured in mL per hour). Subsequently, the cost reduction from the extended administration time was calculated and extrapolated to estimate the cost savings over a week. Further extrapolation was done to determine the total cost savings within a year, as well as the number of syringes saved, considering their possible usage for a maximum of seven days, instead of changing them daily.

A. 3.2.2. Results

The initial sample consisted of 157 discarded RTA syringes, out of which 18 were excluded, since they lacked vital information necessary for calculating the overall financial impact for the hospital, and 14 were disregarded, as the medication had been stopped, instead of changed. Therefore, in order to determine the total cost savings for the hospital, a total of 125 syringes was assessed as the study's sample. The table 2 below illustrates the total amount of wasted syringes per week.

Table 2. Total amount of syringes discarded per week

Week 1 (30/01-05/02)	76
Week 2 (06/02-12/02)	49
Total	125

The results revealed that over 66% (n=82) of the syringes were unsuitable for increased usage, as they did not have sufficient fluid to last for an entire administration day (18%, n=22) or only had enough for one full administration day (48%, n=60). These findings suggest that discarding them did not significantly affect the hospital's overall costs. However, approximately 14% (n=17)

of the syringes had enough fluid to be used for seven days or longer if the hospital policy did not require daily changes. Nonetheless, the team opted to establish a maximum limit of seven days for the syringe hang time. Table 3 displays the duration for which the syringes could have been used, if not discarded every 24h, based on their volume and infusion rate.

Table 3. Number of administration days the syringes could have been used

Number of administration days	% (n)
0	18 (22)
1	48 (60)
2	10 (12)
3	3 (4)
4	3 (4)
5	2 (3)
6	2 (3)
≥ 7	14 (17)
Total	125 (100)

The next section of the study was concerned with the financial outcomes for the Hospital over a year timeframe. The overall findings indicate that prolonging the syringe's hang time until the depletion of fluid within, with a maximum limit of seven days, could potentially generate cost savings of around 63700€ per year for the hospital, which could save approximately 6000 syringes annually.

A. 3.2.3 Discussion

A noteworthy proportion of data had to be omitted due to insufficient information. Our observations revealed that 11% of the total syringe labels lacked the infusion ratio, which was crucial for our calculations. Although the date, patient identification number, and reason for disposal were not essential for the hospital's overall cost calculation, some of the labels (approximately 10%, 15%, and 18%, respectively) lacked this information.

Surprisingly, it was observed that two syringes, closely resembling the RTA A15 from Erasmus MC, were, in reality, produced by another manufacturer and were not sterilized. These non-sterile syringes were, consequently, excluded from the analyzes, highlighting the possibility that, if not for the double-checking process, counting errors could have occurred, indicating that the RTA syringes may not be as easily distinguishable from other non-sterile syringes as previously assumed. However, despite the noted confusion, it is important to account that RTA syringes were easily distinguishable from the IV medications prepared by the nurses, which have a shelf life of only 24 hours.

The cost savings of approximately 63700€ and the potential annual reduction of 6000 syringes are significant benefits of the proposed procedure, despite any potential drawbacks. By adopting this procedure, the hospital can not only reduce plastic waste and promote sustainability but also decrease expenses and alleviate the workload of nursing staff. It is important to note that these numbers are based solely on the 13 beds included in the study, which means that if the practice is implemented throughout the entire hospital, even greater savings could be achieved.

A. 3.2.4 Limitations

There are some limitations to this study that need to be acknowledged. Firstly, during data retrieval, it was observed that the syringes were placed blindly in plastic bags before being stored in larger plastic containers. As a result, the majority of the syringes no longer had the tip on the top that prevents fluid leakage and were moist on the outside. This posed a challenge for the legibility of the labels and led to inaccuracies and uncertainties during volume readings. To address this challenge, extra precautions were taken to remove the syringes from the bags without spilling any liquid, and the labels were carefully cleaned to ensure that the volume scale was clearly visible. A suitable position was assumed to allow for accurate measurement of the fluid volume by reading the meniscus, with the aim of minimizing errors and improving the accuracy of the measured fluid volume inside the syringe. Secondly, the study's calculation method, which involved rounding the theoretical number of days the syringes could have been administered, may have had an impact on the accuracy and reliability of the potential cost savings and waste reduction. However, by consistently rounding down the number of administration days, the potential for significant discrepancies in the results was minimized.

A. 3.3 Conclusion

While medications prepared by the nurses require daily changes due to their lack of aseptic conditions, this does not necessarily apply to RTA syringes and medications prepared by the hospital pharmacy. With secure compounding conditions, it is safe and effective to extend the administration time of these medications. However, the hospital's green team only considered extending the administration time of RTA syringes, as they are easily distinguishable from nurse-prepared medications, unlike those prepared by the pharmacy. In summary, the investigation's findings support the idea that extending the hang time of RTA syringes at Erasmus MC can result in significant cost savings, reduce staff burden, and improve sustainability by reducing the amount of plastic waste generated. This justifies the need for a change in the current protocol which states that all IV medications regardless whether they are prepared by the manufacturer, the hospital pharmacy or the nurses, should be changed daily to ensure patient safety.

A. 4 Activity 2: Minimizing excess intravenous preparations in the Children's Hospital

A. 4.1 Contextualization

At Sophia Children's Hospital, the compounding of a majority of the medication is the responsibility of the hospital pharmacy. Pharmacy technicians are tasked with preparing all medications for a 24-hour timeframe. However, every day at 11am, the physicians conduct a round that may lead to a patient's discharge, transfer, or change in medication or dose. As the technicians begin compounding medications in advance, some IV preparations have already been made by the time the physician conducts his round. If there are any changes in a patient's condition, the newly prepared medication may no longer be suitable for use, resulting in increased medication and work wastage.

A. 4.2 Development

The inefficient use of IV medication is a widely recognized cause of expenses, waste and pollution for hospital pharmacies. Globally, most hospitals experience a waste rate of approximately 6% for total IV preparations. These high percentages of IV medications being wasted or returned to the pharmacy are largely attributed to medication discontinuation, changes in dose or route of administration, as well as patient transfer, discharge, or death.⁵

For patient-specific care, the majority of IV therapies are ordered and prepared in a compounding room located within the hospital pharmacy.⁶ The process of IV medication preparation is a time-consuming activity that demands precision and attention. As a consequence, pharmacy technicians must devise strategies to prioritize the timely production of medication, leading Sophia Children's Hospital to prepare medication 24 hours in advance. Nevertheless, changes in prescriptions can affect the amount of medication produced but not used, resulting in significant daily medication waste and increasing staff workload. To mitigate this issue, screens were installed in the compounding areas to promptly alert pharmacy technicians of any prescription's changes, in order to minimize the amount of waste during the compounding.

A. 4.2.1 Methods

As a part of the activity's development action plan, all pharmacy technicians were instructed to place discarded IV preparations, properly closed and labeled, in a blue medication barrel, on the pharmacies 2 and 3, at the Sophia Children's Hospital. These preparations were collected from different departments, including the Neonatal ICU, Pediatric ICU, Cardiology/Lung diseases, Oncology/Nephrology/Gastro-enterology, Surgery, Medium care and Neurology/Antibiotic. Additionally, they were instructed to attach color-coded stickers to the discarded products indicating the reason for discarding. Red stickers were associated with a change in prescription, green stickers indicated a patient leaving the hospital, and yellow stickers referred to discontinued medication. The effectiveness of the implementation was evaluated by assessing the amount of wastage before (24/10/22 until 6/11/22) and after (06/3/23 until 19/03/23) the installation of the screens.

A. 4.2.2 Results

Prior to the implementation of screens on the laminar air flows, a total of 651 IV preparations were disposed of over a two-week period due to reasons such as a prescription change, medication discontinuation, or patient discharge. Notably, one preparation was identified as having been doubly compounded and had to be discarded as well. The day with the highest wastage rate was found to be Friday, November 4th. Following the installation of the screens, the number of wasted preparations decreased to 570. Among the reasons previously mentioned, three preparations were mistakenly compounded and one was twice prepared. The day with the highest number of wasted IV preparations was Tuesday, March 7th. The most frequently discarded medication, both before and after the installation of the screens, was paracetamol. Prior to the implementation of the practice, paracetamol comprised 36% (n=232) of the total (n=651) discarded preparations, whereas after the practice was put in place, the pain relief medication accounted for 21% (n=120) of the total (n=570). The Pediatric ICU, specialized in the intensive medical care and close monitoring of children's vital signs, was responsible for the majority of waste both before and after the implementation of the practice. The primary reason for discarding IV preparations was “medication stop”, which remained consistent before and after the practice was put in place. The detailed results are presented in the attached Annex A.

To make more accurate result interpretations, it is essential to consider the total number of preparations compounded in the hospital pharmacy, in addition to the number of preparations discarded during the two-week period. Interestingly, the amount of medications prepared by the pharmacy in October/November, before the installation of the screens, was lower (3300) compared to the amount of preparations compounded in March, after the screens were positioned (3360), as represented in table 4. Prior to the installation of the screens, 20% of the total medications compounded were wasted, whereas, after the new practice, the medication waste decreased by 3%, with only 17% of the total being accounted for.

Table 4. Discarded preparations both before and after the installation of the screens

Screens	Amount of preparations discarded	Amount of preparations compounded	%
Before	651	3300	20
After	570	3360	17

A. 4.2.3 Discussion

As the first set of wasted preparations was gathered in early November, close to the holiday season, it is possible that the discrepancies in the amount of preparations compounded may have been attributed to a reduction in the number of available hospital staff during that time.

To account for the varying rates of medication waste observed on different weekdays, multiple factors may come into play. One possible explanation is the higher turnover of medication type or dosage due to patient discharges or changes in their health status. Moreover, factors related to

the compounding process, such as technician fatigue, distractions, or medication complexity, may have contributed to an increased error rate and subsequent disposal of preparations.

An additional complication arises in the case of pediatric patients, as medications must be customized according to their weight and cannot be reused for other children. This means that every medication order that is changed or discontinued for a pediatric patient must be discarded, leading to a significant amount of medication waste in the children's wards.

A. 4.3 Conclusion

While the implementation of screens in the workbenches did result in a reduction of overall IV medication waste, it has been determined that this measure alone may not be adequate for the creation of a sustainable hospital environment. Consequently, extensive research was conducted, followed by brainstorming sessions with the team, leading to the proposal of a new procedure at the hospital, referred to as the two-batch-per-day procedure. To further enhance this proposal, a survey was conducted to retrieve the pharmacy technician's opinions. Both the explanation and the survey's results are presented in the Annex B.

A. 5 Activity 3: Fentanyl nasal spray for children in emergency wards

A. 5.1 Contextualization

During the previously discussed handover a case was conducted, involving the advantages of fentanyl intranasal administration in comparison to intravenous administration route, in children at the Sophia Children's Hospital. The focus of the discussion also involved the availability of devices for administering fentanyl spray, and recommendations that could be provided to the nurses responsible for the administration. Therefore, I took the initiative to conduct further research on the subject.

A. 5.2 Development

As a result of diagnostic or therapeutic procedures, children in the emergency departments often experience moderate to severe pain, which may occasionally be inadequately treated. The insufficient management of pain in pediatric patients can lead to adverse long-term consequences.⁷ The primary and essential step in achieving effective pain relief is intravenous administration of morphine. However, the insertion of an intravenous line requires personnel with specialized training and expertise, as well as the allocation of additional material resources, and can be uncomfortable for many patients.^{7, 8} A topical local anesthetic may be administered prior to intravenous insertion as a means of mitigating pain and discomfort. Nonetheless, this approach has some drawbacks, because of the delayed onset of action associated with topical anesthetics, which typically require a minimum of 30 minutes to achieve adequate anesthesia.⁹ As an alternative, fentanyl nasal spray, a potent opioid analgesic, can provide a quicker and less invasive method of pain relief, eliminating the need for intravenous access.⁸

A. 5.2.1 Fentanyl Pharmacokinetics and Pharmacodynamics

Fentanyl is a synthetic pure opioid with analgesic, sedative and anesthetic properties through its actions on both μ - and κ -opioid receptors. It has been demonstrated that fentanyl is 50 to 100 times more potent than morphine, exhibiting a significant shorter onset of action, and thus alleviating the pain within a few minutes.¹⁰

Fentanyl exhibits a rapid distribution pattern, with over 80% of the drug exiting the plasma into the brain, heart, and lungs within approximately five minutes. Subsequently, within a time span of 30 minutes, redistribution to other organs such as muscle and fat occurs.^{11, 12} The redistribution behavior of fentanyl results in a short duration of analgesic effect, causing a single intravenous dose of 100 μ g to provide an analgesia effect of approximately 30-60 minutes. In addition, fentanyl's lipophilic nature and tendency to accumulate in adipose tissue lead to a slow release from this organ, potentially affecting its half-life, ranging from 2 to 8 hours.¹² In plasma, at physiologic pH, 8.5% of the compound remains unionized, while 84% is bound to erythrocytes, glycoproteins, and plasma albumin. Compared to morphine's (1.4), fentanyl has a higher octanol-water partition coefficient of 8.16, at physiologic pH, making it, consequently, more likely to enter the Central Nervous System (CNS).¹³ In the liver, fentanyl suffers a *N*-dealkylation by Cytochrome P450 iso-enzyme CYP3A4, as its main metabolic pathway, resulting in the inactive metabolite

norfentanyl. Following metabolism, approximately 10% of the unchanged drug and norfentanyl are mainly eliminated by the kidneys.^{11, 14}

A. 5.2.2 Nasal cavity features for drug administration

The main functions of the nasal cavity include warming and humidifying inhaled air, which requires a highly vascularized area supplied by both the internal and external carotid arteries.^{13, 15} This feature leads to a greater blood supply per cubic centimeter in the nasal cavity than in the muscle, brain, and liver, increasing the potential for high absorption levels through the vascular wall.¹⁵ By providing a direct pathway into the bloodstream and being minimally invasive, the intranasal administration offers several advantages over other administration routes, such as reducing the time for drug action onset, improving patient adherence and bypassing first-pass metabolism that is typically associated with oral administration, since only a small and insignificant proportion of intranasal administered fentanyl is subsequently swallowed, due to minimal drainage into the pharynx.^{11, 13, 16}

Lipophilicity and molecular weight are the primary determinants of intranasal drug absorption. Therefore, fentanyl, with its high lipophilicity and low molecular weight, is a suitable candidate for intranasal administration, since it would be rapidly absorbed through the nasal epithelium due to its favorable transport rate over this tissue.¹³

The olfactory epithelium, a slim membrane located in the nasal cavity and responsible for the sense of smell, appears to be a crucial pathway for intranasal drug delivery, directly into the cerebrospinal fluid, without the restrictions required to cross the blood-brain barrier.¹³ This pathway is notably important for drugs with action in the CNS, such as fentanyl, as it allows the drug to access the brain directly, resulting in nearly instantaneous anesthetic action. This unique feature further enhances the interest of the intranasal route for drug administration in a manner that reduces the time required for the drug to exert its effects, leading to quicker and more effective pain relief.^{11, 13}

A. 5.2.3 Intranasal Fentanyl administration

At the Erasmus MC hospital, the Mucosal Atomization Device (MAD) is the standard equipment employed for the safe and painless delivery of medication via intranasal route. This device is also used for the administration of intranasal fentanyl. The MAD features a conical plug on its tip that seals off the nostril, preventing fluid expulsion.¹⁷ Using atomization, the device produces a fine mist of medication particles that range in size from 30 to 100 microns and are easily absorbed. In addition to its delivery simplicity, the device is non-invasive and eliminates the risk of injury, since a needle is not needed for administration, but only for the aspiration of the appropriate amount of fentanyl solution.¹⁷ To ensure proper and precise administration of intranasal fentanyl, the following items are required: a MAD, a 1 or 3 mL syringe, a needle, a vial of fentanyl (50 µ/mL), alcohol, and a sharps container.¹⁸

Customizing the administration of intranasal fentanyl according to the children's weight (table 5) is of extreme importance to ensure the proper dosage is given to achieve the desired effect, and to avoid the risk of potential adverse effects from overdosing (maximum concentration: 2.0

µ/Kg, 1mL per nostril).^{19, 20} After the MAD is attached to the syringe, the administration is carried out with the appropriate dose accordingly to the child's weight plus an extra 0.1mL to account for the empty space.^{21, 22} In addition, the patient's position is an important consideration, as they should be seated in a 45 degree angle, or with their head to one side during the administration of intranasal fentanyl.²² The device should be inserted softly into the nostril and pressed quickly in order to deliver all medication. The analgesia typically manifests within 5 to 10 minutes after administration. However, if the initial effect is insufficient, a second administration may be repeated after 10 minutes.^{21, 22} The instructions on how to use the MAD to facilitate the intranasal fentanyl administration by the nurses can be found on the flyer in Annex C.

Table 5. Fentanyl dose per weight

<i>Weight</i>	<i>Dose</i>	<i>Volume fentanyl 50 µ/mL</i>
10 to 15 Kg	20 µg	0.4 mL
15 to 20 Kg	30 µg	0.6 mL
20 to 25 Kg	40 µg	0.8 mL
25 to 30 Kg	50 µg	1.0 mL
30 to 35 Kg	60 µg	1.2 mL (divided by 2 nostrils)
35 to 40 Kg	70 µg	1.6 mL (divided by 2 nostrils)
40 to 45 Kg	80 µg	1.8 mL (divided by 2 nostrils)
45 to 50 Kg	90 µg	1.8 mL (divided by 2 nostrils)
> 50 Kg	100 µg	2.0 mL (divided by 2 nostrils)

A. 5.2.4 Recommendations, contraindications and complications

Intranasal administration of fentanyl is recommended for acute, non-invasive anesthesia, particularly in children experiencing sudden pain exacerbation (breakthrough pain), as a result of chronic pain from diseases such as cancer, arthritis, or fibromyalgia. It is also useful in cases of inflammation, infection, and traumatic injury from thoracic drainage, as well as for pre and postoperative pain control, anesthesia adjunct, or general anesthesia.^{23, 24} However, it should be noted that fentanyl nasal spray is contradicted in cases of hypersensitivity to opioids or in children with respiratory depression or obstructive airway diseases like asthma, obstructive sleep apnea, or Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD).²⁴

Although not frequently observed, complications associated with intranasal fentanyl administration may include respiratory depression, rhinorrhea, hypotension, nausea, vomiting, confusion, nasal hemorrhage, and throat irritation. Under these circumstances, is crucial to perform regular monitoring of patients during and after administration to ensure their safety.²⁵

A. 5.3 Conclusion

In conclusion, intranasal administration of fentanyl via MAD is a recommended approach for acute non-invasive anesthesia in children. Its high lipophilicity and optimal molecular weight make it ideal for this route of administration, providing a faster and less invasive method of pain relief

without the need for intravenous access. However, it is important to consider the child's weight and not exceed the maximum fentanyl concentration of 2.0 µ/Kg.

SECÇÃO B: Farmácia Comunitária

B. 1 Contextualização do Estágio Curricular

O meu estágio curricular em farmácia comunitária decorreu, durante os meses de Maio a Agosto de 2023, na farmácia Peninsular, localizada na Avenida da República, número 685, 4450-242, em Matosinhos. A proximidade estratégica da farmácia à estação de metro Matosinhos Sul torna-a um local muito frequentado, atraindo indivíduos de diversas faixas etárias e estratos sociais.

A equipa colaborativa, competente e afável da farmácia é composta por quatro farmacêuticos, com a direção técnica pertencente à Dra. Ana Loureiro, três técnicos de farmácia e um pessoal exclusivamente responsável pelo *BackOffice*.

Com um horário de funcionamento das 9h às 20h de segunda a sábado, a farmácia peninsular presta um vasto leque de serviços à comunidade, abrangendo tarefas como a dispensa de receitas manuais e eletrónicas, o aconselhamento e venda de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e de produtos cosméticos, o fornecimento de fórmulas infantis e de alimentos para bebés, a realização de medições de parâmetros bioquímicos, incluindo os níveis de colesterol total, triglicéridos, tensão arterial e glicemia, a administração de injeções, como vacinas ou medicamentos intramusculares, a realização de testagem ao SAR-SCoV-2, através de testes rápidos de antigénio, bem como a realização de curativos, pesagem de bebés, furação de orelhas, consultas de nutrição e podologia. Adicionalmente, a farmácia possui um laboratório de desenvolvimento de medicamentos manipulados e preparação de antibióticos e está equipada com um aparelho de autoavaliação que permite a medição do peso e da altura.

Sob orientação da Dra. Sara Henriques e a experiência coletiva dos meus colegas da farmácia, distinguidos pela sua rigorosa metodologia de trabalho, foi-me dado o privilégio de contribuir ativamente para a comunidade. Este envolvimento contribuiu para a minha formação, bem como para o meu percurso profissional como futura farmacêutica.

B. 2 Cronograma e sua explicação

Tabela 6. Cronograma do estágio em Farmácia Comunitária

Atividades		Maio	Junho	Julho	Agosto
BackOffice	Armazenamento de medicação	X	X	X	X
	Receção e conferência de encomendas	X	X	X	
	Gestão de reservas	X	X	X	X
	Prazos de validade e devolução de medicamentos	X	X	X	X
Atendimento ao público	Observação de atendimentos		X		
	Atendimento e aconselhamento farmacêutico		X	X	X
Gestão na Farmácia	Processamento do receituário e faturação				X
Outras atividades desenvolvidas no âmbito da saúde	Formações: • Proteção Solar; • Agendamento de exames a partir do site da <i>Unilabs</i>, • Infecções Fúngicas; • “Tratamento de Infecções Vulvovaginais. Novas abordagens terapêuticas”.		X	X	
	Medição de parâmetros bioquímicos		X	X	X
	Preparação de manipulados		X	X	
	Desenvolvimento de atividades e projetos		X	X	X

Durante o mês inicial do estágio na Farmácia Peninsular, o meu foco foi direcionado para as operações de BackOffice. Esta fase proporcionou-me a familiarização com as diversas funcionalidades do sistema informático *Sifarma*. Aprendi a rececionar encomendas nos turnos

da manhã e da tarde, bem como os procedimentos de validação e fecho para garantir o registo correto dos produtos farmacêuticos no sistema da farmácia.

Simultaneamente, no mês de Maio, com a orientação da minha colega de BackOffice, assumi gradualmente a responsabilidade pela gestão das encomendas. Esta responsabilidade englobava o tratamento e processamento sistemático de reservas pagas e não pagas, agilizando o processo de dispensa ao pessoal do balcão.

Desde os primeiros dias do meu estágio, a tarefa de organizar os medicamentos por ordem alfabética e de os categorizar com base na classe terapêutica deu-me a conhecer os medicamentos disponíveis para dispensa, aconselhamento e venda ao público.

Até meados de Junho, tive o privilégio de observar e acompanhar os meus colegas no atendimento ao cliente, adquirindo assim uma compreensão abrangente da dinâmica operacional da farmácia. Esta experiência permitiu-me, de junho a agosto, prestar assistência e orientação aos utentes de forma autónoma, sempre sob a supervisão e tutela da minha orientadora.

Em Agosto contactei, pela primeira vez, com o processamento do receituário e faturação da farmácia, onde pude observar e realizar, sob supervisão dos meus colegas farmacêuticos, a validação de todas as receitas médicas do mês anterior.

Participei também noutras atividades relacionadas com a saúde, como a realização de medições de parâmetros bioquímicos (colesterol total, triglicéridos, tensão arterial e glicemia), a aplicação de sensores de monitorização do nível de glicose sanguínea e a preparação e manuseamento de medicamentos manipulados. Além disso, foi-me dada a oportunidade de assistir a sessões de formação ministradas por representantes comerciais das diferentes marcas na farmácia, estar presente nas sessões de formação sobre proteção solar e tratamento de infeções vulvovaginais (“Tratamento de Infeções Vulvovaginais. Novas abordagens terapêuticas”) e receber uma visão geral e concisa do processo de agendamento dos exames realizados nos laboratórios da *Unilabs*.

B. 3 Atividade 1: Solução de Ácido Bórico à saturação

B. 3.1 Contextualização

No decorrer do meu estágio curricular realizado na farmácia Peninsular, surgiu a oportunidade de preparar uma solução de Ácido Bórico saturado no laboratório da farmácia. Este medicamento é utilizado para o tratamento das otites externas e, em certos casos, nas otites médias e ouvido já operado. Insere-se na categoria dos medicamentos manipulados, que, por sua vez, podem ser classificados como fórmulas magistrais, preparadas com base numa prescrição específica que indica o utente pretendido, ou preparações medicinais, formuladas de acordo com as diretrizes estabelecidas por uma Farmacopeia ou Formulário.²⁶

B. 3.2 Desenvolvimento

A maioria das bactérias patogénicas responsáveis por infeções no ser humano necessita de um nível de pH superior a 6 para se desenvolver. Consequentemente, numerosos estudos microbiológicos evidenciaram que a aplicação de agentes ácidos nos locais de infeção leva a uma redução do pH, criando um ambiente desfavorável ao crescimento bacteriano. O ácido bórico, originalmente empregue como agente antisséptico, exibiu propriedades bacteriostáticas e bactericidas contra bactérias específicas, incluindo *P. aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* e *Streptococci* do grupo B, quando administrado em concentrações que variam entre 10 e 20mg/L.²⁷ A sua origem do boro confere-lhe uma forte afinidade para o monossacarídeo ribose, um componente vital de moléculas biológicas essenciais como a Adenosina trifosfato (ATP) ou o Ácido ribonucleico (RNA). Embora o boro seja necessário para a manutenção e funcionalidade das membranas celulares, quantidades excessivas podem impedir a funcionalidade, a integridade e a capacidade de transporte da membrana microbiana, para além de interferirem com a síntese e a atividade de proteínas essenciais para a bactéria, como a serina protéase, provocando uma redução da toxicidade dos subprodutos bacterianos.²⁷ Um ambiente ácido influencia também a libertação de oxigénio, que desempenha um papel crítico na sobrevivência das células humanas no local da infeção. Este fenómeno, conhecido como efeito de Boro, revela que uma redução do pH de 0,9 unidades leva a um aumento de cinco vezes na libertação de oxigénio. A oxigenação adequada dos tecidos é fundamental para aumentar a resistência à infeção e promover a cicatrização da ferida, através da síntese de colagénio e da consequente epitelização.²⁷

B. 3.3 Conclusão

No processo de preparação de medicamentos manipulados, é fundamental que o farmacêutico assegure a adesão às boas práticas laboratoriais para garantia da sua qualidade, estabilidade e segurança. São necessários, para isso, a documentação e os registos do procedimento associado à sua formulação, bem como os respetivos ensaios de validação. Esta documentação de apoio pode ser consultada no anexo D. Igualmente importante é a dispensação correta do medicamento manipulado, o que implica o fornecimento de todas as informações relevantes ao utente, tais como o prazo de validade, as condições de armazenamento adequadas, contraindicações e precauções e modo de administração.²⁶

B. 4 Atividade 2: Disponibilidade de testes de gravidez na Farmácia Comunitária

B. 4.1 Contextualização

A atividade que se segue surgiu no decurso de um atendimento, no qual a utente manifestou preocupações sobre a sensibilidade de um teste de gravidez de urina. Decidi, então, realizar uma investigação mais aprofundada do tema, explorando também os mecanismos subjacentes aos testes de gravidez e os fatores que poderiam conduzir a resultados falsos negativos ou falsos positivos. Ao alargar o âmbito da minha investigação, pretendi fornecer uma compreensão mais abrangente da exatidão dos testes de gravidez e das potenciais fontes de discrepâncias nos resultados.

Desde a sua introdução, em 1976, o teste de urina tornou-se o método mais comum de autodiagnóstico da gravidez. Estes testes utilizam anticorpos para detetar a hormona gonadotrofina coriónica (hCG), uma glicoproteína produzida pelas células embrionárias que constituem a placenta humana, os sinciotrofoblastos. A hormona hCG tem como principais funções a estimulação da produção de progesterona pelo corpo lúteo e o aumento da secreção de testosterona pelas células de Leydig fetais. É composta por duas subunidades: a α , que é comum às hormonas Luteinizante (LH), Folículo estimulante (FSH) e estimulante da Tireoide (TSH) e a β , que é característica da hCG e detetada nos testes de gravidez.^{28, 29}

B, 4.2 Desenvolvimento

B 4.2.1 Mecanismo de ação de um teste de gravidez

O mecanismo de ação do teste de gravidez recorre a um imunoensaio em “sanduíche” com dois anticorpos que reconhecem diferentes epítomos da hCG. Um dos anticorpos está imobilizado numa tira de nitrocelulose, formando a linha de teste. O outro, para além de permanecer livre e ser marcado de forma colorida, está localizado a montante da zona do resultado. Este anticorpo móvel que reveste partículas de sílica é usualmente caracterizado como fase móvel.³⁰ A amostra de urina aplicada contacta, primeiramente, com um conjunto de reagentes (tampões e detergentes) para normalização do seu pH e otimização das condições para que a reação com os anticorpos ocorra. Na presença da hCG, quando a amostra encontra a fase móvel, os anticorpos que revestem as partículas de sílica ligam-se à hormona, formando a primeira metade do imunoensaio em sanduíche. Ao atingir a linha de teste, a hCG é imobilizada juntamente com o anticorpo ligado à partícula. A segunda metade do imunoensaio em sanduíche fica, então, completa, levando ao aparecimento de uma linha visível. Em caso de ausência da hCG, as partículas deslocam-se através da linha de teste até ao fim da tira, pelo que não se forma qualquer linha.³⁰

Os testes feitos em casa dispõem, ainda, de uma linha de controlo que é visível separadamente na tira de nitrocelulose. É constituída por um anticorpo que deve permitir sempre a ligação das partículas se a amostra for aplicada corretamente e se o teste não tiver sido desnaturado.³⁰

B. 4.2.2 Precisão dos testes de gravidez realizados em casa

Muitos testes de gravidez, apesar de afirmarem apresentar uma precisão superior a 99% (quando utilizados a partir do dia esperado do período), estes valores são determinados com base em análises laboratoriais de amostras de urina efetuadas em condições específicas por técnicos de laboratório qualificados. Várias investigações demonstram que a sensibilidade dos testes de gravidez realizados em casa diminui, comparativamente com a análise de amostras de urina efetuada em laboratório. Relativamente aos testes de gravidez em que o utilizador tem de avaliar o aparecimento das linhas de teste para determinar o resultado, estudos demonstraram que uma em cada quatro mulheres interpreta o resultado de forma errónea, levando ao surgimento de resultados falsos-negativos por dificuldade de compreensão das instruções de utilização. Alguns destes erros de interpretação dos resultados podem ser ultrapassados através da utilização de testes digitais em que o resultado é apresentado através dos sinais “+” ou “-“, ou através das palavras “grávida” ou “não grávida”.^{28, 30}

Outro fator que afeta a precisão do procedimento é o formato do teste de gravidez. Tiras, varetas e cassetes são os três formatos disponíveis ²⁸ e estão representados na figura 1.



Figura 1. Formatos disponíveis de um teste de gravidez

Apesar de terem sido concebidos principalmente para serem utilizados por profissionais de saúde num contexto clínico, os formatos de tira e cassete podem também ser utilizados em casa. Os testes em tira não têm invólucro ou local para aplicação da amostra, pelo que as utilizadoras necessitam de, primeiramente, recolher uma amostra de urina e em seguida mergulhar a tira na amostra até ao limite máximo visível no dispositivo. Também o formato em cassete requer que as mulheres recolham uma amostra de urina, após o que têm de adicionar uma determinada quantidade de amostra ao dispositivo de teste de cassete, recorrendo a uma pipeta de plástico fornecida.²⁸ Em contrapartida, o formato de vareta de teste a jato médio foi especificamente desenvolvido para permitir que as mulheres efetuem facilmente testes de gravidez em casa. As varetas são constituídas por uma ponta absorvente na extremidade que é colocada no jato ou mergulhada na amostra de urina colhida.^{28, 30}

Resultados recentes demonstraram que, de cerca de 100 mulheres que utilizaram diferentes formatos de testes de gravidez, 95% afirmaram preferir o formato de vareta de teste a jato médio por ser mais higiénico e não ter tantos passos associados à sua utilização. Relativamente ao formato de cassete, cerca de 23% destas 100 mulheres referiram erros no aparecimento do resultado e apenas 31% tinham a certeza do resultado que aparecia. Em contrapartida, tanto a tira como a vareta apresentaram resultados visíveis em 95% das vezes e as utilizadoras puderam ler os valores com confiança (56% e 70% para o formato de tira e de vareta, respetivamente).²⁸

Tipicamente, a ovulação ocorre 14 dias após o começo de um ciclo menstrual, sendo a partir deste dia que, se houver possibilidade de gravidez, a hCG começa a surgir na circulação sanguínea e na urina. Com base em observações científicas verificou-se que 9 a 10 dias após a ovulação, a concentração sanguínea de hCG é de aproximadamente 10 mIU/ml, com uma tendência crescente de cerca de 50% por dia. Por volta da décima semana, esta concentração atinge o seu auge (100000 mIU/ml), após o que diminui gradualmente e mantém a estabilidade nos 20000 mIU/ml ao longo do desenvolvimento da gravidez.²⁸

O padrão da hormona na urina é semelhante. Cerca de nove dias após a ovulação, a concentração de hCG na urina é de aproximadamente 0,93 mIU/ml. Sofre, depois, um aumento diário significativo até atingimento do seu pico, 45 dias após a libertação do ócito.²⁸

Para as mulheres que realizam regularmente testes de ovulação, a obtenção de resultados fiáveis subsequente à realização de um teste de gravidez pode ser conseguida testando cerca de 15 dias após a ovulação, quando já é possível a deteção da hormona na urina. No entanto, se apenas se souber a data do último período menstrual, a previsão do momento ideal para a realização do teste torna-se mais complexa devido à variação dos ciclos menstruais, sendo que mais de 50% das mulheres têm ciclos com 5 ou mais dias num período de 6 meses.³⁰ Em situações em que o ciclo menstrual é irregular e o dia exato da ovulação é desconhecido, é aconselhável realizar o teste de gravidez apenas depois de faltar o período menstrual previsto para a garantia de resultados mais fiáveis.^{28, 30}

B. 4.2.3 Execução de um teste de gravidez: aconselhamento farmacêutico

Um aconselhamento farmacêutico vantajoso passa pelo fornecimento inicial de informações à utilizadora sobre o momento ideal para a realização do teste de gravidez. A maioria dos testes disponíveis no mercado assegura uma sensibilidade superior a 99% quando realizados a partir do dia esperado para a menstruação.^{28, 30, 31} É importante informar a utilizadora de que mesmo os testes de gravidez antecipados apresentam um certo grau de imprecisão associado e que um resultado negativo nos dias que antecedem a data prevista para a menstruação não exclui definitivamente a possibilidade de gravidez. Este facto deve-se principalmente aos níveis relativamente baixos de hCG durante as primeiras fases da gravidez, que podem ficar abaixo do limiar necessário para a deteção pelo teste. Por conseguinte é aconselhável a realização de uma nova testagem a partir do dia correspondente ao início previsto do ciclo menstrual.^{28, 30}

Antes da realização do teste é fundamental perceber corretamente as instruções fornecidas para evitar erros de utilização e/ou interpretação dos resultados. Os testes de vareta a jato médio (anexo E), são os mais comuns e vendidos na farmácia, pelo que é necessário ter em conta algumas considerações associadas ao seu uso. Estas considerações estão representadas no panfleto cedido aos utentes da farmácia que está presente no anexo F.

Para um atendimento mais completo, é essencial informar o utente em relação aos potenciais fatores que possam contribuir para resultados falsos positivos ou negativos. Certos medicamentos indutores da fertilidade que incorporem a hormona hCG na sua constituição (ex: Ovitrelle® ou Pregnyl®) podem levar a resultados falsos positivos, se o teste for efetuado na

proximidade da sua administração. Neoplasias malignas raras, como o coriocarcinoma (que envolve as células placentárias e da membrana coriônica) ou a neoplasia do ovário podem levar a concentrações de hCG mais elevadas, influenciando positivamente os resultados.^{28, 31}

O fenómeno conhecido como efeito de Hook é um exemplo de um fator precipitante de resultados falsos negativos. Ocorre quando existem outras variantes da hormona hCG durante a gravidez (hCG clivada, a hCG hiperglicosilada e o fragmento do núcleo beta), para além da forma intacta. Os kits de teste de gravidez disponíveis no mercado são concebidos para detetar especificamente a variante mais comum, a hCG intacta. No entanto, em certos casos, pode haver uma maior prevalência de fragmentos alternativos da hormona em comparação com a forma intacta. Como resultado, os anticorpos no kit do teste tendem a ligar-se mais proeminentemente às restantes variantes da hormona, o que impede a formação do complexo necessário para a apresentação da segunda linha de teste para além do controlo, conduzindo a um resultado falsamente negativo.²⁸ O efeito de Hook pode, ainda, manifestar-se de outra forma. Com o aumento da idade gestacional, as concentrações da hCG tendem a atingir valores significativos. Em alguns casos, se o teste de gravidez for realizado numa fase posterior, os níveis de hCG podem tornar-se excessivamente elevados, levando à ocorrência do efeito prozona, em que há um excesso de antígeno hCG em comparação com a quantidade limitada de anticorpos presentes no kit do teste. Consequentemente, a formação do complexo sanduíche é dificultada, originando um resultado falso negativo.²⁸

B. 4.3 Conclusão

A grande variedade de testes de gravidez existentes no mercado pode complicar o processo de tomada de decisão. Determinar o momento ideal para a realização do teste pode ser desafiante, sobretudo tendo em conta a variabilidade dos ciclos menstruais. No entanto, quando cuidadosamente concebidos e utilizados, com instruções claras, os testes de gravidez realizados em casa oferecem resultados precisos em momentos de grande importância.

B. 5 Atividade 3: Análise nutricional das fórmulas infantis

B. 5.1 Contextualização

As fórmulas infantis são recomendadas para responder a necessidades médicas e nutricionais específicas, normalmente por um período de tempo restrito. São concebidas de forma a aproximarem-se do perfil nutricional do leite materno. No entanto, embora estas fórmulas constituam a melhor alternativa para a alimentação dos lactentes na ausência de leite materno, não conseguem reproduzir completamente a composição exata do leite humano.³²

1. O leite materno é constituído por hormonas, fatores de crescimento, anticorpos, enzimas, neutrófilos, macrófagos, linfócitos B e T, prostaglandinas, frações do complemento, que não são passíveis de serem adicionados às fórmulas infantis;³²
2. O leite materno, ao contrário das fórmulas infantis, contém o fator bifidus, composto por proteínas do soro de leite, fragmentos de caseína, ácidos gordos de cadeia curta e lactose, capaz de favorecer o crescimento da microbiota intestinal;³²
3. O leite materno é consumido depois de ser sintetizado, ao contrário das fórmulas infantis que necessitam de tratamento para garantia da sua viabilidade;³²
4. As fórmulas infantis provenientes do leite de vaca possuem proteínas com propriedades distintas das encontradas no leite materno, juntamente com uma composição de aminoácidos diferente.³²

B. 5.2 Desenvolvimento

Existe uma ampla gama de fórmulas infantis que conseguem suprir as necessidades nutricionais de cada bebé ao longo de todas as fases do seu desenvolvimento e crescimento.

As **Fórmulas para Lactentes** ou **Leites 1** são adequadas para a alimentação dos lactentes até aos doze meses de idade e concebidas para colmatar as necessidades nutricionais até à introdução dos alimentos diversificados.^{32, 33} Os leites para lactentes do tipo 1 contêm predominantemente proteínas do soro de leite em detrimento da caseína, com uma relação caseína/proteínas do soro do leite inferior a 1, similar à observada no leite materno.^{33, 34} Esta proporção confere a estas fórmulas melhor digestibilidade e menor carga renal, porque as proteínas do soro do leite, ao serem mais rapidamente digeríveis, apresentam um melhor perfil de excreção renal.³⁴ Além disso, apresentam também um menor risco de desenvolvimento de alergias e um perfil de aminoácidos adequado para o correto desenvolvimento do lactente.^{33, 34}

As **Fórmulas de Transição** ou **Leites 2** são concebidas especificamente para lactentes dos seis aos doze meses, como forma de complementar a alimentação diversificada. Diferem do leite de vaca essencialmente pelo facto de serem enriquecidas em proteína e em ferro. Atualmente, também inseridas nas fórmulas de transição, existem os leites 3, especificamente desenvolvidos para lactentes a partir dos 9 meses de idade.^{33, 35} De forma geral, as fórmulas de transição apresentam uma composição semelhante às fórmulas para lactentes, com níveis superiores dos minerais cálcio, fósforo e ferro.³⁵ Ao contrário das fórmulas para lactentes, as fórmulas de transição têm um rácio de caseína/proteína de soro de leite superior a 1, próximo do leite de

vaca. Portanto, ao apresentarem uma concentração mais elevada de caseína, promovem um esvaziamento gástrico mais lento e levam a uma maior sensação de saciedade.³³

As **Fórmulas de Crescimento** ou **Leites 3** são especialmente desenvolvidas para lactentes a partir dos 12 meses de idade.³⁵ Diferem do leite de vaca essencialmente por possuírem uma menor concentração de proteínas e um maior valor de ferro, zinco e algumas vitaminas, nomeadamente a vitamina D.^{33, 35} Nesta fase de vida do bebé, a velocidade de maturação fisiológica e neurológica é menor, sendo, desta forma, necessário adequar a alimentação às suas necessidades nutricionais. É por isso recomendado que estas fórmulas representem cerca de 1/3 da alimentação do bebé, correspondendo a aproximadamente 300-500ml de produtos lácteos por dia. Para além dos leites 3, algumas empresas começam também a comercializar os leites 4 e 5, adequados para bebés com mais de 12 e 24 meses, respetivamente. Os Leites de Crescimento são normalmente aditivados com outros ingredientes, nomeadamente pré e probióticos ou nucleótidos.³³

As **Fórmulas à base de Proteína de Soja** não contêm lactose, sendo formuladas com uma mistura de açúcares que derivam da glucose.³³ Devido ao valor nutricional comparativamente mais baixo da proteína de soja em relação à proteína do leite de vaca e à menor biodisponibilidade de zinco, fósforo, cálcio e ferro, estas fórmulas são normalmente suplementadas com metionina (aminoácido essencial), para além de taurina, L-carnitina, ferro e fósforo.^{33, 35} Apesar da utilização generalizada destas fórmulas em casos de alergia à proteína do leite de vaca, estudos recentes indicam que a soja é também um alérgeno frequente.^{33, 35} Além disso, contêm fitatos, que podem interferir com a absorção de certas vitaminas e minerais como o zinco, o ferro e o iodo, este último crucial para a produção das hormonas tiroideias e bom funcionamento da tiroide.³⁶ Acresce que estas fórmulas apresentam determinadas concentrações de fitoestrogénios com o potencial de mimetizar e alterar as funções da hormona estradiol, podendo afetar os processos de crescimento e saúde futura.³⁶ Devido a estas preocupações e à disponibilidade de fórmulas especificamente concebidas para gerir a alergia à proteína do leite de vaca (APLV), os especialistas não recomendam a utilização de fórmulas à base de soja para gerir a APLV.³³

A nível dos **Leites Hidrolisados**, no geral, são isentos de lactose ou sacarose, possuindo, em alternativa, uma mistura de maltodextrina e amidos complexos modificados. Podem ser divididos em leites parcialmente e extensamente hidrolisados. Os leites parcialmente hidrolisados, designados de Hipoalergénicos (HA), contêm seroproteínas parcialmente hidrolisadas de forma a reduzir os elementos alérgicos. São destinados a lactentes com maior predisposição de desenvolverem alergias às proteínas do leite de vaca ou da soja.³⁵ Os leites extensamente hidrolisados são cuidadosamente compostos por péptidos suficientemente curtos, o que resulta numa alergenidade reduzida, tornando-os ideais para crianças com diagnóstico de APLV.³⁵ Adicionalmente, demonstram potencial na prevenção de doenças do tipo alérgico, como a asma, a dermatite atópica ou o eczema. Foram também concebidas para beneficiar lactentes que sofrem de alergias alimentares e síndromes de má absorção, proporcionando uma opção nutricional adequada às suas necessidades.³³

Concebidos para tratar as manifestações gastrointestinais do refluxo, os **Leites Anti-regurgitação (AR)** são enriquecidos com agentes espessantes nutricionalmente inertes, como amido de trigo, amido de arroz, amido de batata ou sementes de alfarroba.³³ Estes agentes tornam-se mais espessos quando em contacto com o pH ácido do estômago, aumentando a viscosidade do conteúdo gástrico e impedindo a sua regurgitação para a faringe e boca.^{33, 37} É fundamental que estas fórmulas sejam utilizadas sob supervisão médica adequada e não devem ser administradas durante um período prolongado. Não são adequadas para bebés saudáveis ou com regurgitação ligeira, uma vez que podem impedir a absorção de nutrientes e minerais essenciais.³⁵

Os **Leites para Recém-nascidos de Pré-termo (PT) ou de Baixo-peso (BP)** são destinados a bebés prematuros ou com baixo peso à nascença, que apresentam um perfil de crescimento diferente dos recém-nascidos a termo, necessitando de uma suplementação mais reforçada para a sua recuperação e desenvolvimento adequados.³⁸ Para isso, estes leites são enriquecidos, entre outras vitaminas e minerais, como o cálcio e o fósforo, com um maior teor proteico e energético, para além de apresentarem maiores concentrações dos ácidos gordos docosa-hexaenoico (DHA) e araquidónico (ARA) para um correto desenvolvimento cognitivo e imunológico. A adição destes ácidos gordos insaturados de cadeia longa em concentrações superiores pode aumentar o risco oxidativo e consequente dano celular. É necessário, desta forma, que este tipo de fórmulas tenha um teor adequado de vitamina E que atua como um potente antioxidante biológico.³³ Adicionalmente, a atividade limitada da lactase leva à sua substituição por polímeros de glucose, hidrolisados pela maltase ou glucoamilase, esta última com uma considerada atividade às 28 semanas de gestação.^{33, 35}

As opções de **Leites Especializados** para lactentes incluem leites Anti-Cólicas (AC), que apresentam um teor reduzido de lactose para atenuar a sua fermentação no cólon e aliviar os sintomas de flatulência e cólicas. Os leites Anti-Obstipação (AO), por outro lado, apresentam um baixo teor de caseína e são enriquecidas com triglicéridos de cadeia média para acelerar o esvaziamento gástrico. Por último, os leites Anti-Diarreicos (AD) apresentam níveis elevados de proteínas e eletrólitos, juntamente com uma osmolaridade reduzida, para resolver os problemas relacionados com a diarreia.³⁵

Existem, adicionalmente, os **Leites Isentos de Lactose**. A lactose, composta por galactose e glucose, é o hidrato de carbono predominante nas fórmulas para lactentes. A sua presença é vital para a absorção correta do cálcio e para o bom funcionamento da microbiota intestinal.³³ A hidrólise e a subsequente absorção da lactose requerem a atividade de dissacaridases específicas e de enzimas lactase.^{33, 37} Sendo assim, para lactentes com intolerância à lactose ou galactosemia (incapacidade de hidrólise da lactose e utilização da galactose, respetivamente), recomenda-se a utilização destas fórmulas em que há substituição da lactose por maltodextrose ou polímeros de glucose, com uma melhor digestibilidade.³³ São também utilizadas em situações de diarreia ou de gastroenterite aguda, em que pode ocorrer uma intolerância temporária à lactose.^{33, 37}

B. 5.3 Conclusão

Embora o leite materno continue a ser a melhor fonte de alimentação para os bebés, existem circunstâncias em que a sua administração se torna inviável. Nestes casos, as fórmulas para lactentes surgem como a alternativa mais adequada, já que são enriquecidas com nutrientes essenciais e cuidadosamente adaptadas às fases de crescimento do bebé. O anexo G, que serviu de base para a formação ministrada à equipa da farmácia, apresenta uma contextualização global dos diversos tipos de fórmulas infantis disponíveis, bem como uma descrição dos seus componentes e indicações. Além disso, este anexo inclui uma compilação das diferentes variedades de leite existentes na farmácia e as suas respetivas designações comerciais.

PARTE 2: Temas de desenvolvimento

Tema 1: O impacto da administração de melatonina no início da puberdade

1.1 Contextualização

No âmbito da farmácia comunitária e ao longo do meu estágio, deparei-me com inúmeras situações em que os pais procuravam a nossa orientação relativamente à variedade de suplementos de melatonina disponíveis na farmácia, devido às dificuldades persistentes de sono dos seus filhos pequenos. De facto, a administração de suplementação de melatonina às crianças é uma forma de facilitar um sono mais repousante, tanto para a criança como para os seus cuidadores. Como pude observar, algumas crianças utilizavam a melatonina há muito tempo, incorporando-a nas suas rotinas diárias. Este facto despertou a minha curiosidade, levando-me a investigar os potenciais efeitos a médio e longo prazo do consumo de melatonina em crianças e adolescentes, com o objetivo de desvendar o seu impacto nos indivíduos mais jovens da sociedade. Na minha pesquisa bibliográfica deparei-me com artigos que levantavam a hipótese de que a administração prolongada de melatonina poderia potencialmente influenciar o momento do início da puberdade, bem como o desenvolvimento e a maturação sexual das crianças. Consequentemente, o seguinte tema de desenvolvimento tem como objetivo abordar estas preocupações.

1.2 Desenvolvimento

1.2.1 A fisiologia da puberdade

A puberdade é um período caracterizado por uma série de transformações psicológicas, hormonais e fisiológicas que conduzem à maturação sexual e à fertilidade.³⁹ Estas mudanças englobam o desenvolvimento de características sexuais secundárias, como o crescimento dos seios nas mulheres (telarca), o desenvolvimento dos pelos púbicos (pubarca), alterações genitais nos homens, alterações da voz, aumento da altura, juntamente com a maturação das gónadas, o início da menstruação (menarca) e a aquisição de capacidades reprodutivas.^{39, 40} A avaliação dos caracteres sexuais secundários masculinos e femininos permite classificar o desenvolvimento pubertário em cinco estádios diferentes, que vão desde a pré-puberdade até à maturidade completa, denominados de estádios de Tanner (tabela 7 e 8).³⁹

Tabela 7. Escala de Tanner: Desenvolvimento dos órgãos genitais masculinos e desenvolvimento mamário feminino ⁴¹

Escala de Tanner	Desenvolvimento dos órgãos genitais externos masculinos	Desenvolvimento mamário feminino
I	Sem pelos púbicos e com pénis e testículos ainda em desenvolvimento.	Ausência de tecido mamário glandular palpável
II	Pelos castanhos mínimos na região púbica, crescimento dos testículos e alteração da textura escrotal.	Botão mamário sob a aréola sensível à palpação. Este é o primeiro sinal de início da puberdade.

III	Pelos mais escuros e grossos na região púbica, aumento do comprimento do pénis e crescimento dos testículos.	Desenvolvimento de tecido mamário fora da aréola.
IV	Pelos distribuídos pela região púbica, aumento do comprimento do pénis e continuação do crescimento dos testículos com escurecimento do escroto.	Elevação da aréola acima do contorno da mama.
V	Pelos até à face das coxas e do umbigo e pénis e testículos de tamanho adulto.	Hiperpigmentação areolar, desenvolvimento de papilas e projeção do mamilo. O tecido mamário começa a adquirir um contorno único.

Tabela 8. Escala de Tanner: Desenvolvimento dos pelos púbicos masculinos e femininos ⁴¹

Escala de Tanner Desenvolvimento dos pelos púbicos masculino e feminino

I	Ausência de pelos púbicos.
II	Início do crescimento do pelo com textura felpuda.
III	Continuação do seu crescimento. Ainda pouco pelo.
IV	Pelo terminal que preenche todo o triângulo sobre a região púbica.
V	Pelo terminal que se estende para além da prega da virilha até à coxa.

Os processos da puberdade e da reprodução são regulados pelo Eixo Hipotálamo-Pituitário-Gonadal (HPGA), que estão sob a influência de uma complexa rede de fatores estimulantes e inibitórios. Durante o período fetal e o primeiro ano de vida do bebé, o HPGA encontra-se ativo, entrando numa fase de quiescência até cerca dos 10 anos de idade, quando se observa, em média, o início da puberdade.³⁹ O início da puberdade é caracterizado por um aumento da produção da hormona GnRH no hipotálamo, seguido da sua libertação pulsátil que estimula, por sua vez, a secreção da LH e da FSH pela hipófise. Estas hormonas desempenham um papel crucial na síntese dos esteroides sexuais e na promoção da gametogénese.³⁹

Nos homens, a hormona LH regula a síntese de testosterona nas células intersticiais dos testículos, as células de Leydig.⁴² Em contrapartida, a hormona FSH é responsável pelo crescimento testicular e por um aumento da produção da proteína de ligação aos androgénios pelas células de Sertoli, que desempenha um papel crucial no desenvolvimento da espermatogénese. As células de Sertoli, constituintes do túbulo testicular, são necessárias para a nutrição dos espermatozoides em desenvolvimento e, sob a influência dos androgénios, têm também a capacidade de libertar o polipéptido inibina, que regula localmente os mecanismos de espermatogénese.^{39, 42}

Nas mulheres, estas hormonas assumem um papel fundamental na orquestração do ciclo menstrual. A FSH é crucial para o crescimento dos folículos ovários. A secreção de estrogénio e progesterona a partir destes folículos, essencial para o desenvolvimento embrionário, também depende da presença das hormonas FSH e LH. Consequentemente, à medida que a fase folicular avança, um folículo específico - o folículo de Graaf - amadurece, culminando na libertação do ócito e no início da ovulação. Este processo ocorre normalmente por volta do meio do ciclo menstrual, facilitado pela ocorrência de um pico nos níveis de LH.^{39, 42}

Para além disso, o momento de início da puberdade nos seres humanos varia de forma considerável e está dependente de vários fatores, tais como: género, fatores epigenéticos, condições intrauterinas, ciclos circadianos, condições climáticas, nutrição, determinadas hormonas (leptina, grelina, kisspeptina, hormonas sexuais, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 - IGF-1) e exposição a substâncias químicas desreguladoras do sistema endócrino.⁴³ Adicionalmente, a hormona inibidora da gonadotrofina (GnIH) representa um neuropeptídeo hipotalâmico responsável pela supressão da produção de GnRH no hipotálamo. Consequentemente, o HPGA é intrinsecamente regulado pela interação entre a GnRH e a GnIH, sendo que o controlo que exercem sobre a secreção de gonadotrofinas assume um papel fundamental no sistema reprodutor dos mamíferos.⁴⁴

1.2.2 Melatonina: funções e processo de biossíntese

A melatonina, farmacologicamente conhecida como 5-metoxi-N-acetiltryptamina, é uma hormona sintetizada endogenamente pela glândula pineal a partir do aminoácido triptofano.⁴⁵ A sua síntese, nos mamíferos, está dependente da perceção de informação fotoperiódica que ocorre na retina. A informação correspondente à duração relativa dos períodos de luz e escuridão é transmitida através de uma complexa via multissináptica até ao núcleo supraquiasmático no hipotálamo que, funcionando como o nosso relógio biológico, regula vários processos fisiológicos, incluindo a secreção de melatonina pela glândula pineal.⁴⁵ A melatonina assume um papel crítico na regulação do ritmo circadiano através da ativação de dois recetores acoplados à proteína G, nomeadamente MT1 e MT2. Adicionalmente, a melatonina apresenta uma multiplicidade de propriedades biológicas dignas de nota. Foi observado que reduz eficazmente a pigmentação da pele em vertebrados, demonstra efeitos antioxidantes potentes, modula o sistema imunitário, apresenta propriedades antitumorais, regula os processos de termorregulação e participa ativamente na regulação intrínseca do HPGA.^{45, 46}

As concentrações de melatonina nos recém-nascidos são muito baixas durante os primeiros três meses de vida, após o que aumentam abruptamente. Este aumento é atribuído à maturação do seu sistema circadiano e pode ainda ser influenciado por fatores externos, como a exposição à luz solar e os padrões de alimentação. Foi demonstrado que o leite materno contém quantidades vestigiais de melatonina e outros compostos indutores do sono, que podem contribuir para a consolidação do ciclo sono-vigília nos bebés.⁴⁵

A produção de melatonina inicia-se na presença de condições de fraca luminosidade, variando tipicamente entre as 19h30 e as 21h30 nos adultos e entre as 19h00 e as 21h00 nas crianças. A sua secreção é máxima durante a noite, diminuindo progressivamente ao longo do

dia.^{43, 47} Como consequência, o momento e a duração da secreção de melatonina podem variar em resposta a flutuações sazonais, com a secreção prolongada a ocorrer durante os meses de Inverno, quando as noites são mais longas e os dias mais curtos.⁴⁵

Tal como acontece nas plantas, as mitocôndrias são o principal local de biossíntese de melatonina nos seres humanos, bem como noutros mamíferos e insetos.⁴⁸ O processo biossintético (figura 2) é constituído por cinco etapas enzimáticas. A enzima triptofano hidroxilase (TPH) hidroxila o triptofano, adquirido através da alimentação, em 5-hidroxitriptofano, que é depois descarboxilado pela descarboxilase de aminoácidos aromáticos (AADC) para formar serotonina. A N-acetiltransferase de alquilamina (AANAT) converte depois a serotonina em N-acetil-serotonina, que é, por sua vez, convertida em melatonina através da enzima acetilserotonina O-metil transferase (ASMT). A produção de melatonina não se limita apenas à glândula pineal, ocorrendo também em vários tecidos periféricos, como a retina, a glândula de Harderian, o ovário, o testículo, a medula óssea, os linfócitos, os colangiócitos hepáticos, o intestino e a pele.⁴⁸



Figura 2. Processo biossintético da melatonina ⁴⁸

1.2.3 As perturbações do sono mais associadas à infância e à adolescência

Os problemas de sono na infância e na adolescência estão a tornar-se cada vez mais prevalentes na sociedade e podem ter um impacto substancial em vários aspetos do funcionamento diário, incluindo capacidades cognitivas como a atenção, a aprendizagem e a memória. De acordo com a Classificação Internacional das Perturbações do Sono-2, as duas perturbações do sono mais comuns associadas à infância são a **Insónia Comportamental da Infância**, que é categorizada em três tipos: distúrbio de associação de início do sono, distúrbio por falta de estabelecimento de limites e do tipo combinada e a **Síndrome do Atraso das Fases do Sono (SAFS)**.^{49, 50}

De acordo com Moturi *et al.* (2010) a insónia infantil é caracterizada como uma condição em que uma criança tem dificuldade persistente em iniciar, manter, consolidar ou obter um sono reparador, mesmo com uma quantidade de tempo apropriada para a idade e condições adequadas para dormir. A Insónia Comportamental da Infância manifesta-se normalmente como uma resistência da criança ao sono, levando a um atraso no início do sono e/ou a despertares noturnos frequentes que requerem a intervenção dos pais. No distúrbio de associação do início do sono, a criança tem dificuldade em iniciar o sono de forma autónoma e associa o ato de "adormecer" a circunstâncias específicas. Estas circunstâncias podem incluir um local específico, como o sofá ou a cama dos pais, a preferência por uma pessoa específica ou a participação em determinadas atividades como dar o biberão, ser embalada ou ver televisão.⁵⁰ No distúrbio da falta de estabelecimento de limites, a criança prolonga o início do sono através de múltiplos pedidos ou da recusa em adormecer, enquanto os pais se deparam com dificuldades em

estabelecer e impor limites. Pode observar-se, ainda, uma combinação de ambos os tipos, em que a criança depende de circunstâncias específicas para adormecer, enquanto os pais têm dificuldade em estabelecer limites e regras consistentes.⁵⁰

De acordo com os pareceres dos especialistas, a SFAS, mais prevalente em adolescentes, é uma perturbação do sono relacionada com o ritmo circadiano e caracteriza-se por um atraso notável no início desejado do sono.^{49, 51} No contexto desta perturbação, verifica-se um prolongamento notável do período de latência do sono, referente ao tempo decorrido entre o momento em que a criança se deita na cama e o início efetivo do sono, para além dos 30 minutos habituais. Consequentemente, como a criança tem um início de sono prolongado, é frequente ter mais dificuldade em acordar na manhã seguinte.⁴⁹ Na SFAS, verifica-se um atraso no ritmo endógeno da melatonina, causando um desalinhamento com o horário de sono desejado. Esta discrepância é a causa subjacente das dificuldades em iniciar o sono e em acordar de manhã, podendo resultar em sonolência diurna, desempenho escolar prejudicado, ansiedade e problemas comportamentais. É igualmente importante referir que esta perturbação pode afetar as crianças independentemente da presença ou ausência de condições mentais ou neurológicas associadas.⁵²

Atualmente, estima-se que as perturbações relacionadas com o sono afetem cerca de 15% a 25% das crianças e adolescentes. De acordo com Boafó *et al.* (2019), a maior prevalência de distúrbios do sono é observada principalmente em crianças e adolescentes com condições psiquiátricas, conforme descrito na tabela 9.⁴³

Tabela 9. Prevalência de distúrbios do sono em crianças e adolescentes com condições psiquiátricas ⁴³

	% crianças e adolescentes com distúrbios no sono
Transtorno do Espectro do Autismo	30% a 53%
Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade	70%
Depressão Major	72,7%
Perturbações de Ansiedade	80% a 90%

Existe, atualmente, uma forma de libertação prolongada de melatonina com o potencial de mimetizar o seu perfil fisiológico de secreção, assegurando níveis ótimos de melatonina de 8 a 10 horas. Um comprimido revestido por película, incolor e inodoro com um diâmetro de 3 mm foi especificamente desenvolvido para manter a integridade do medicamento, preservando assim as suas propriedades de libertação prolongada. O principal objetivo desta formulação é melhorar a tolerabilidade do comprimido, em particular nas crianças.⁵³ De facto, embora a Agência Europeia do Medicamento (EMA) tenha aprovado a sua utilização em populações pediátricas com perturbações do Espectro do Autismo e Síndrome de Smith-Magenis (doença genética complexa caracterizada por défice cognitivo variável), a administração de melatonina em crianças sem perturbações neurológicas diagnosticadas continua a não ser autorizada (uso *off-label*), razão pela qual foram levantadas preocupações relativamente à sua utilização continuada.^{43, 53}

Embora a melatonina esteja também disponível em determinados medicamentos sujeitos a receita médica, é predominantemente utilizada sob a forma de suplemento alimentar devido à sua grande disponibilidade e facilidade de aquisição nas farmácias. Esta acessibilidade torna-a uma escolha popular para muitos pais quando os seus filhos têm dificuldades em dormir. O principal objetivo é melhorar a qualidade do sono, tanto para as crianças como para os pais, resultando num melhor desempenho físico e psicológico ao longo do dia. Nas últimas décadas, registou-se um aumento substancial na utilização de suplementação de melatonina, tornando-a o segundo produto "natural" mais utilizado pelos pais para os seus filhos, a seguir às multivitaminas.⁵⁴ A tendência crescente para a administração de melatonina na população mais jovem, independentemente da presença ou ausência de doenças mentais ou neurológicas associadas, suscitou preocupações quanto ao seu potencial impacto no início da puberdade.

1.2.4 Kisspeptina, melatonina e a regulação dos processos de puberdade e reprodução

Nos humanos, a kisspeptina diz respeito a uma família de neuropéptidos resultantes da clivagem de um péptido precursor, constituído por 145 aminoácidos e codificado pelo gene KISS1.^{43, 55} A kisspeptina foi descoberta no interior dos neurónios do hipotálamo de roedores, especificamente no núcleo arqueado (ARC) e na região periventricular rostral do terceiro ventrículo (RP3V).⁵⁵ Este péptido apresenta um recetor acoplado à proteína G, Kiss1r, ao qual se liga com grande afinidade. O recetor Kiss1 parece estar presente na maioria dos neurónios da hormona GnRH no hipotálamo, para além de se encontrar na zona do hipocampo e na hipófise anterior e fora do cérebro, no pâncreas, no fígado e no tecido adiposo.^{55, 56} Numerosos estudos forneceram provas substanciais que indicam que o gene KISS1 está sujeito a regulação fotoperiódica, resultando em níveis elevados de mRNA do KISS1 durante períodos caracterizados por mais horas de luz do dia do que da noite. Nestes períodos de maior exposição à luz do dia, o aumento da secreção de kisspeptina é o estímulo para a libertação de GnRH pelo hipotálamo e subsequente secreção das gonadotrofinas hipofisárias.⁵⁵ Esta variação temporal coincide com a diminuição dos níveis plasmáticos de melatonina, uma vez que a sua síntese se processa principalmente durante as fases noturnas mais longas.^{43, 55} Como tal, os investigadores levantaram a hipótese de a melatonina não afetar diretamente os neurónios GnRH, mas exercer os seus efeitos sobre a kisspeptina, um potente estimulador da excitabilidade neuronal da GnRH.⁴³

1.2.4.1 Estudos realizados em animais

Na tentativa de elucidação desta hipótese, é fundamental a realização de uma análise abrangente dos padrões reprodutivos sazonais em mamíferos, já que a transição da fase não-reprodutiva para a fase reprodutiva assemelha-se muito ao processo de puberdade.⁴³ Tanto na fase pré-puberdade como no anestro sazonal, fase em que os animais se encontram sexualmente inativos, a ausência de picos pré-ovulatórios da hormona LH, essencial para a ovulação, sugere uma supressão das vias neurais responsáveis pelo desencadeamento dos picos de LH. Em ambos os períodos, a secreção de LH segue um padrão pulsátil, mas a frequência desses impulsos é marcadamente diminuída.⁴³

Estudo 1

O estudo realizado por Simonneaux *et al.* (2009) com hamsters sírios procurou avaliar as potenciais repercussões da administração de melatonina na reprodução e na puberdade.⁵⁷ Para examinar se a melatonina poderia ser responsável por variações nos níveis de kisspeptina, um subconjunto dos hamsters foi submetido a pinealectomia, um procedimento que envolve a remoção da sua fonte endógena de melatonina. Em seguida, todos os animais foram submetidos a condições de luz diurna reduzida em relação ao período noturno. Nestas circunstâncias, os hamsters submetidos à intervenção cirúrgica mantiveram-se sexualmente ativos e apresentaram níveis significativamente mais elevados de mRNA KISS1. Por outro lado, os hamsters que mantiveram certas concentrações plasmáticas de melatonina sofreram uma inativação sexual e entraram na fase de anestro. Além disso, este último grupo apresentou níveis reduzidos de mRNA KISS1.⁵⁷

Adicionalmente, para confirmação dos resultados experimentais, um grupo de hamsters sírios foi submetido a um tratamento com 50µg de melatonina sob a forma injetável (mimetizando o período de maior luminosidade noturna) durante 8 semanas. O tratamento provocou uma redução marcada dos testículos, bem como dos níveis de testosterona, comparativamente com o grupo controlo. Estes resultados foram acompanhados de uma redução do mRNA neuronal do KISS1 na zona do ARC.⁵⁷ Um tratamento curto de melatonina (1-3 semanas) não é suficiente para provocar alterações aos padrões de reprodução.⁵⁸ Por outro lado, com um tratamento superior a 25 semanas, os hamsters tornam-se resistentes ao efeito inibitório da melatonina, sofrendo uma reativação reprodutiva.^{43, 57}

Esta investigação propõe que o aumento da produção de melatonina durante um período de iluminação noturna elevada suprime a expressão de kisspeptina e, assim, a atividade reprodutiva durante um período de tempo específico. Curiosamente, durante um período prolongado, o impacto inibitório da melatonina parece diminuir, levando novamente à elevação dos níveis de mRNA KISS1 e à reativação da atividade sexual nos animais.⁵⁷ Parece haver um sinal ainda não determinado que restabelece estes mecanismos.

Estudo 2

Também a investigação realizada por Chen *et al.* (2022) procurou efetuar avanços em relação aos potenciais efeitos da melatonina na kisspeptina, nas hormonas GnRH e GnIH e, consequentemente nos processos de puberdade e maturação sexual. O estudo selecionou uma coorte de 78 ratinhos fêmea, num ambiente laboratorial controlado, mantida a uma temperatura de 24°C, seguindo um ritmo circadiano de 12 horas. Estes ratinhos foram divididos aleatoriamente em dois grupos: o grupo controlo (NS), que não recebeu qualquer administração subcutânea de melatonina, e o grupo experimental (MLT), que recebeu uma injeção subcutânea diária de 1 mg/kg de melatonina, a partir dos 22 dias de idade. Em intervalos de 10, 15 e 20 dias, correspondentes às idades de 32 (puberdade precoce), 37 (puberdade tardia) e 42 dias (maturação sexual) respetivamente, foram avaliados vários parâmetros-chave para investigar os efeitos da administração de melatonina no desenvolvimento sexual dos ratinhos fêmea.⁴⁴ Estes parâmetros incluíram, entre outras determinações, um *RT-PCR* para determinação dos níveis de

mRNA da Kisspeptina, GnRH e GnIH, bem como um *Western Blot* para avaliação dos títulos proteicos de kisspeptina, GnRH e GnIH, no hipotálamo dos ratinhos. O estudo consistiu, ainda, num exame dos níveis hormonais séricos de GnRH, FSH e GnIH, na medição do diâmetro do canal vaginal (um marcador extrínseco do início da puberdade), na pesagem dos ratinhos fêmea e na avaliação do seu desenvolvimento ovárico e uterino.⁴⁴

Os resultados do *RT-PCR* revelaram que, aos 32 dias de idade, os ratinhos do grupo MLT apresentaram níveis significativamente mais baixos de mRNA da Kisspeptina e GnRH, e níveis mais elevados de mRNA da GnIH, comparativamente ao grupo NS. Aos 37 dias de idade, o grupo MLT exibiu uma expressão dos genes correspondentes à Kisspeptina, GnRH e GnIH mais baixa, em comparação com o grupo NS. Aos 42 dias de idade, os níveis de mRNA de ambos os grupos não obtiveram diferenças significativas. De acordo com estes resultados, a injeção subcutânea de melatonina reduz os níveis de expressão de mRNA da kisspeptina, e GnRH, aumentando os níveis de expressão de mRNA da GnIH, no hipotálamo dos ratinhos.⁴⁴

O *Western Blot* aferiu que os níveis de kisspeptina no grupo MLT foram significativamente mais baixos, em comparação com o grupo NS. Tanto aos 32, como aos 37 dias de idade, os níveis de GnRH no hipotálamo foram consideravelmente menores no grupo MLT. Em contrapartida, aos 42 dias de idade, os níveis de GnRH tornaram-se mais elevados no grupo MLT.⁴⁴

A aferição dos níveis séricos hormonais demonstrou que, tanto aos 32 (tabela 10) como as 37 dias de idade (tabela 11), as concentrações séricas de GnRH e FSH foram consideravelmente menores no grupo MLT, comparativamente ao grupo NS. Aos 42 dias de idade (tabela 12), os resultados foram semelhantes. Relativamente às concentrações séricas de GnIH, estas demonstraram ser significativamente mais elevadas no grupo MLT aos 37 dias de idade (tabela 11), no entanto, aos 32 e 42 dias de idade, não se registaram diferenças substanciais entre os grupos (tabelas 10 e 12, respetivamente).⁴⁴

Tabela 10. Níveis séricos hormonais de GnRH, FSH e GnIH aos 10 dias ⁴⁴

Níveis séricos hormonais	MLT (pg/ml)	NS (pg/ml)
GnRH	69.08 ± 11.83	97.32 ± 7.00
FSH	3.64 ± 1.38	7.55 ± 1.18
GnIH	54.78 ± 8.13	54.60 ± 6.66

Tabela 11. Níveis séricos hormonais de GnRH, FSH e GnIH aos 15 dias ⁴⁴

Níveis séricos hormonais	MLT (pg/ml)	NS (pg/ml)
GnRH	51.79 ± 4.79	75.47 ± 10.76
FSH	1.71 ± 0.62	4.04 ± 1.21
GnIH	58.72 ± 4.91	48.33 ± 1.10

Tabela 12. Níveis séricos hormonais de GnRH, FSH e GnIH aos 20 dias ⁴⁴

Níveis séricos hormonais	MLT (pg/ml)	NS (pg/ml)
GnRH	56.65 ± 5.95	55.37 ± 2.14
FSH	2.32 ± 1.62	2.73 ± 1.75
GnIH	56.10 ± 6.49	56.16 ± 5.58

A medição do diâmetro da vagina revelou uma redução significativa na taxa de abertura do canal vaginal em ratinhos fêmea no grupo MLT, quando comparado com o grupo NS, tanto aos 32 como aos 37 dias de idade. Especificamente, aos 32 dias de idade, o grupo MLT apresentou uma taxa de abertura vaginal de 7,69%, contrastando com o grupo NS, que registou uma taxa de 53,85%. Posteriormente, aos 37 dias de idade, o grupo MLT demonstrou uma taxa de abertura vaginal de 53,85%, enquanto o grupo NS alcançou uma taxa de 100%. Aos 42 dias de idade, ambos os grupos apresentaram taxas de abertura vaginal similares (figura 3).⁴⁴

Adicionalmente, a medição do peso corporal dos ratinhos fêmea foi realizada, revelando uma disparidade notável aos 37 e 42 dias de idade, em que o grupo MLT exibiu um peso corporal inferior em comparação com o grupo NS (figura 4).⁴⁴

Para além disso, em comparação com o NS, o grupo MLT apresentou graus de desenvolvimento ovário e uterino menores: os ovários dos ratinhos MLT incluíam muitos folículos primordiais e primários, ao contrário dos ovários dos ratinhos NS, constituídos, em grande parte, por folículos terciários, maduros e alguns folículos secundários. A parede uterina dos ratinhos do grupo MLT era visivelmente mais fina do que a do grupo NS.⁴⁴

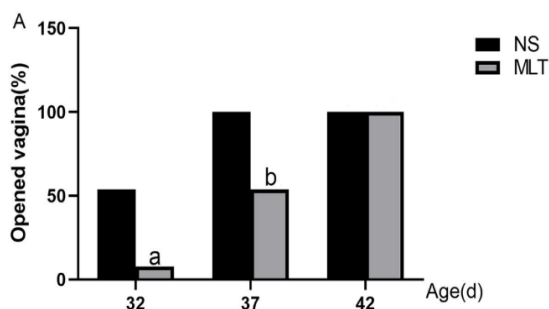


Figura 3. Taxa de abertura vaginal aos 32, 37 e 42 dias de idade nos grupos NS e MLT ⁴⁴

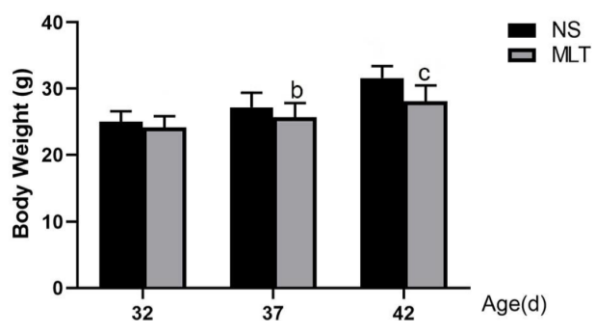


Figura 4. Peso corporal aos 32, 37 e 42 dias de idade nos grupos NS e MLT ⁴⁴

Com base nos resultados do estudo, a administração subcutânea de melatonina resultou numa redução dos níveis de expressão do mRNA da kisspeptina e da GnRH no hipotálamo, acompanhada por um aumento da expressão do mRNA da GnIH nos ratinhos. Durante as fases iniciais do desenvolvimento sexual, especificamente aos 32 e 37 dias de idade, a administração de melatonina foi associada a uma diminuição dos níveis das proteínas kisspeptina e GnRH no hipotálamo. Para além disso, as concentrações plasmáticas de GnRH e FSH diminuíram, em contraste com o aumento das concentrações de GnIH observadas com o aumento dos níveis de melatonina. Por último, a melatonina parece influenciar o diâmetro do canal vaginal dos ratinhos e o seu crescimento e desenvolvimento global, conduzindo a um atraso no desenvolvimento dos ovários e do útero e afetando subsequentemente o início da puberdade.⁴⁴

1.2.4.2 O Papel da melatonina no ser Humano: O que se conhece até à data

De facto, ainda que existam provas que indicam que a administração exógena de melatonina pode potencialmente alterar o momento do início da puberdade em animais com reprodução sazonal, os resultados observados até à data parecem ser contraditórios, sugerindo que a influência da melatonina na maturação sexual depende essencialmente da espécie animal em estudo. Em hamsters *Djungarian* machos, caracterizados pelo seu início habitual da puberdade aos 25 dias após o nascimento, observou-se que um tratamento de dez dias com injeções de melatonina durante a fase pré-púbere causava um atraso no início da puberdade. Para validar estes resultados, uma experiência separada envolvendo borregas pré-púberes tratadas com implantes de melatonina também demonstrou um atraso no início da puberdade. Pelo contrário, um estudo alternativo que envolveu borregas *Suffolk* pré-púberes revelou que a administração oral de melatonina a partir das 10 semanas de idade acelerou o início da puberdade em três semanas, em comparação com o grupo controlo. Estes resultados foram observados em condições idênticas de fotoperíodo natural.^{43, 44} No entanto, estas descobertas e os dados de estudos realizados em mamíferos até à data suscitaram a investigação do potencial envolvimento da glândula pineal e da melatonina na maturação sexual humana, especificamente durante a fase da puberdade, bem como em vários processos reprodutivos.

Uma investigação conduzida por Waldhauser *et al.* explorou os níveis de melatonina plasmática noturna em 367 indivíduos com idades compreendidas entre os 3 e os 90 anos. Os resultados revelaram que os níveis mais elevados de melatonina sérica noturna foram observados no grupo etário mais jovem (1-3 anos). Posteriormente, verificou-se uma diminuição gradual dos níveis de melatonina ao longo da infância e da adolescência, período que coincide com o início da puberdade.⁴³ Além disso, existem evidências que indicam que esta diminuição da concentração plasmática de melatonina abaixo do seu valor linear, por volta dos 9 ou 10 anos, constitui o sinal para a produção da hormona GnRH, desencadeando o início das alterações relacionadas com a puberdade.⁵⁸ Para apoiar estas conclusões, vários estudos provaram que o declínio dos níveis de melatonina está associado à progressão dos estádios de Tanner e desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários.⁴³

No estudo conduzido por Attia *et al.* (2019) um total de 50 rapazes com idades compreendidas entre 14 e 18 anos foram selecionados e divididos em dois grupos: o grupo

experimental, composto por 25 rapazes com Atraso Constitucional da Puberdade (CPD), classificados nos estágios I, II e III de Tanner, e o grupo controlo, composto pelos restantes 25 rapazes no estágio V de Tanner, o que indicava puberdade completa. O principal objetivo desta investigação foi analisar as amostras de sangue recolhidas de cada participante, com vista a identificar potenciais diferenças entre os dois grupos.⁴⁶ Os resultados do estudo (figura 5) revelaram uma disparidade notável entre as duas coortes: o grupo experimental apresentou níveis séricos de testosterona reduzidos, em contraste com o grupo controlo. Para além disso, o grupo experimental apresentou medidas médias de peso corporal e altura comparativamente mais baixas. Depois de analisadas as amostras de sangue de cada grupo de participantes, concluiu-se que os níveis de melatonina sérica no grupo de rapazes com desenvolvimento pubertário tardio eram significativamente mais altos, quando comparados com o grupo controlo.⁴⁶

	Groups (mean±SD)		Mann-Whitney test	P
	Controls (n=25)	Patients (n=25)		
Total testosterone	465.16±146.605	118.32±22.366	6.064	0.0001*
FSH	7.24±3.620	0.98±0.447	6.07	0.0001*
Prolactin	11.0818±2.19277	11.1455±2.49909	0.153	0.879
Melatonin	42.76±19.923	196.60±9.730	6.066	0.0001*

Figura 5. Níveis plasmáticos de testosterona, FSH, prolactina e melatonina ⁴⁶

Pode-se então aferir que as concentrações de melatonina estão negativamente correlacionadas com as principais hormonas da maturação sexual e da reprodução, nomeadamente a testosterona e a FSH. Isto significa que a sua elevação pode ser uma causa e não um resultado do atraso do início da puberdade.⁴⁶

1.2.5 Terapêutica não farmacológica

Para além da suplementação com melatonina, os farmacêuticos estão devidamente qualificados para fornecer orientações sobre intervenções não farmacológicas que podem ser benéficas na gestão das perturbações do sono em crianças e adolescentes. O estabelecimento de uma **boa higiene de sono** é fundamental para a criação de práticas noturnas e diurnas coerentes que incentivem comportamentos de sono não problemáticos. O objetivo principal será exercer estas práticas de forma rotineira para que estas se tornem num hábito tanto para os pais, como para os filhos.⁵⁹ Estas práticas incluem:

- Preparação para a cama de forma consistente: a preparação para o sono deve começar à mesma hora e ter a mesma duração todas as noites. Crianças mais pequenas devem ter uma preparação trinta minutos antes da sua hora de dormir, sendo que este tempo pode ser estendido para sessenta minutos quando as crianças são mais velhas. O curto intervalo de tempo de preparação, tem como objetivo evitar o surgimento de comportamentos problemáticos se a criança não estiver pronta para dormir. ^{59, 60}
- Ambiente físico calmo para dormir: é essencial que o local onde a criança durma seja calmo, quente, mas não em demasia (<24°C), e escuro. ^{59, 60} Como forma de associar o ciclo natural de luz ao ciclo sono/vigília, o ato de deitar deve ser sempre acompanhado de "luzes apagadas", tal como a hora de acordar deve ser associada a "luzes acesas".⁵⁹

- Hora de acordar consistente: tão importante como estabelecer uma hora de deitar regular é habituar as crianças a acordar a uma hora consistente todos os dias, atenuando potenciais perturbações dos seus ritmos circadianos.^{59, 60}
- Alimentação: bebidas e alimentos ricos em cafeína são desaconselhados pelo menos quatro horas antes da hora de dormir.^{59, 60} Alimentos ricos em triptofano (precursor das hormonas serotonina e melatonina), se administrados 45-60 minutos antes de dormir podem ajudar a adormecer. Exemplos desses alimentos são: laticínios e produtos à base de soja. Também os alimentos ricos em hidratos de carbono e cálcio, com um médio a baixo teor em proteínas são recomendados para ajudar a dormir, como por exemplo uma bolacha de aveia e um copo de leite.⁵⁹
- Exercício-físico: a incorporação da atividade física no seu dia a dia demonstra ser uma boa prática de higiene do sono. Não está recomendado nas três horas anteriores a deitar.^{59, 60}

1.3 Considerações finais e conclusões

De facto, foram postuladas várias teorias na tentativa de elucidar a influência da melatonina no sistema reprodutor e no início da puberdade nos adolescentes. No entanto, esta temática não foi, ainda, amplamente investigada em estudos humanos. Os atuais esforços de investigação têm examinado esta hipótese em grupos limitados de crianças e adolescentes, restringindo assim a aplicabilidade dos resultados a uma população mais alargada e não fundamentando suficientemente a formulação de conclusões definitivas. A fase subsequente implicará a realização de estudos longitudinais envolvendo crianças de idade tão jovem quanto possível que recebam tratamento contínuo com melatonina. É fundamental aprofundar a análise das variações na administração de melatonina em diferentes espécies e compreender a influência inibitória da melatonina na kisspeptina durante as fases pré-púbere e reprodutiva.⁴³ Além disso, a investigação visa esclarecer o fenómeno de desaparecimento deste efeito inibitório a longo prazo em determinadas espécies animais de reprodução sazonal e perceber se este mecanismo pode também ocorrer no ser humano.

Tema 2: A ação neuroprotetora da Geleia Real na Doença de Alzheimer

2.1 Contextualização

Melhorar o sistema imunitário, os níveis de energia e a vitalidade geral é um pedido comum na farmácia. Tendo em conta este facto, a suplementação com Geleia Real surge como uma escolha viável para responder a estas exigências. Da minha extensa pesquisa sobre o produto surgiram vários estudos que destacam as propriedades neuroprotetoras da Geleia Real, particularmente no contexto de doenças como a Doença de Alzheimer (DA). Sendo assim, estas propriedades foram o ponto central do tema de desenvolvimento.

A demência é a segunda doença neurológica mais prevalente a nível mundial, a seguir a vários tipos de cefaleias, com um registo de 55 milhões de casos em todo o mundo, 60% dos quais vivem em países de baixo/médio rendimento. Anualmente, registam-se cerca de 10 milhões de novos casos.^{61, 62} Uma maioria significativa dos casos de demência (cerca de 70-80%) é atribuída à DA, sendo, por isso, fundamental compreender os mecanismos subjacentes que contribuem para o aparecimento desta doença para facilitar a sua deteção precoce e estabelecer estratégias de tratamento específicas e eficazes.⁶²

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 A Doença de Alzheimer

Embora a etiologia exata da DA permaneça incerta, têm sido feitos progressos significativos na compreensão das suas principais características que levam não só à deterioração gradual dos neurónios, como adicionalmente a perturbações da linguagem, deficiências nas atividades essenciais de autocuidado (tomar banho, vestir-se, pentear-se e ir à casa de banho), manifestações de depressão, irritabilidade, ansiedade, apatia e alucinações.⁶¹

2.2.1.1 Principais características associadas à Doença de Alzheimer

Uma característica proeminente na DA é a acumulação progressiva de polipéptidos beta-amiloides (A β) hidrofóbicos e neurotóxicos, que resultam da clivagem da proteína precursora amiloide (APP) pelas enzimas beta e gama-secretase. Esta acumulação leva à formação de placas senis insolúveis no exterior dos neurónios (placas amiloides), causando gradualmente a sua deterioração.⁶³ De uma forma mais detalhada, o desenvolvimento e deposição da A β segue os seguintes passos: A β é produzida pela APP através da via amiloidogénica. Numa fase inicial, a APP é clivada pela β -secretase (BACE1), levando à produção do péptido β da APP parcialmente solúvel (sAPP β) e do fragmento C-terminal- β (CTF β). Estes, por sua vez, através da ação da γ -secretase, originam fragmentos A β hidrofóbicos (A β 40 e A β 42) que são, posteriormente depositados no exterior dos neurónios.⁶⁴ Existem, no entanto, enzimas, nomeadamente a enzima de degradação da insulina (IDE) e neprilisina (NEP), com a capacidade de clivagem e conversão do polipéptido A β em formas benignas, contribuindo para a sua degradação. Por conseguinte, é amplamente aceite que a deposição excessiva de A β pode ser explicada pelo desequilíbrio entre a sua formação e degradação.^{64, 65} A formação de emaranhados neurofibrilares nos neurónios, resultantes da acumulação da proteína Tau hiperfosforilada, é também considerada uma das principais características da DA. Numa situação

normal, a proteína Tau está normalmente associada aos microtúbulos no interior dos neurónios, que são estruturas responsáveis pela manutenção da rede neuronal e facilitação do transporte intracelular. No entanto, na DA, a proteína Tau desprende-se dos microtúbulos e agrega-se em emaranhados insolúveis. Esta situação perturba o normal funcionamento dos neurónios, ao interferir com o seu sistema de transporte, resultando numa comunicação deficiente entre neurónios adjacentes.⁶³

2.2.1.2 As diferentes fases da Doença de Alzheimer



Figura 6. Diferentes fases da Doença de Alzheimer

Numa fase precoce, **pré-clínica**, o cérebro começa a sofrer alterações complexas, associadas à formação de emaranhados neurofibrilares e placas amiloides senis e insolúveis à superfície dos neurónios. Esta fase inicia-se bastante antes do começo dos primeiros sintomas associados com a doença e pode durar até 10 anos. A **fase ligeira** da DA é marcada por um défice cognitivo ligeiro, o que significa o início dos primeiros sintomas associados à doença. As manifestações mais comuns durante esta fase incluem perda de memória, dificuldades de planeamento e de resolução de problemas, repetição de perguntas, esquecimento de informações recentemente adquiridas, alterações do humor ou da personalidade, aumento da ansiedade e/ou agressividade. É frequentemente durante esta fase que é feito o diagnóstico da DA.^{61, 66} A **fase moderada** da doença é tipicamente o período mais longo, durante o qual o indivíduo necessita de um nível mais elevado de cuidados. Os sintomas incluem uma perda mais acentuada da memória e da perceção da realidade, dificuldades com a linguagem e dificuldades em ler, escrever e trabalhar com números. Pode haver dificuldade em organizar pensamentos e ideias, alterações nos padrões de sono, alucinações, delírios e paranoia, afirmações ou movimentos repetitivos, bem como contrações musculares ocasionais.⁶⁶ Na fase final da doença, conhecida como **fase severa**, os sintomas de demência são graves. Os indivíduos perdem a capacidade de reagir ao ambiente, de manter uma conversa e, eventualmente, de controlar os seus movimentos. Esta fase está frequentemente associada à perda de peso e ao declínio físico geral, resultando em dificuldades para andar, sentar-se e engolir. Pode também haver uma maior vulnerabilidade a infeções, em particular a pneumonia.^{66, 67}

2.2.1.3 Fatores de risco não modificáveis da Doença de Alzheimer

Um dos principais fatores de risco da DA e de outras formas de demência é o avanço da idade. A genética também desempenha um papel importante como fator de risco não modificável. Atualmente, existem mais de 20 genes identificados como capazes de elevar o risco de demência, sendo o gene da apolipoproteína E (APOE) um dos genes mais relevantes e de alto risco nesse sentido. Além disso, existem determinados genes associados a uma predisposição direta para a doença, embora a sua prevalência na sociedade seja rara (1%), resultando

normalmente num início mais precoce dos sintomas, muitas vezes antes dos 60 anos. Adicionalmente, foi estabelecido que as mulheres correm um risco acrescido de desenvolver a DA em comparação com os homens, embora os mecanismos subjacentes a esta discrepância ainda não estejam totalmente elucidados.⁶⁸

2.2.1.4 Fatores de risco modificáveis e prevenção da Doença de Alzheimer

Condições médicas como a **Diabetes**, a **Obesidade** e a **Hipertensão** parecem estar associadas a uma maior suscetibilidade à DA.^{69, 70} A investigação atual revelou que os indivíduos com Diabetes não tratada apresentam níveis mais elevados de proteína Tau hiperfosforilada no líquido cefalorraquidiano (LCR) em comparação com os que recebem medicação adequada. Além disso, os indivíduos caracterizados por flutuações significativas da pressão arterial têm um risco duas vezes superior de desenvolver a doença, o que sugere um potencial papel contributivo nas complicações associadas à DA.⁶⁹ O estilo de vida do utente é também algo a considerar. Os **distúrbios do sono**, incluindo a insónia e os distúrbios respiratórios do sono, constituem fatores de risco significativos para a DA. Aparentemente, estão ligados a uma taxa elevada de acumulação de placas beta-amiloides e de proteínas tau no cérebro, tanto nos indivíduos que têm um sono noturno insuficiente como nos que têm uma duração de sono excessiva.⁶⁸ Também o stress oxidativo cerebral provocado pelo **fumo do tabaco** pode facilitar uma deposição da placa beta-amiloide e proteína Tau.^{69, 70} Não fumadores apresentam uma redução em 18% do risco de desenvolvimento de DA. Já os efeitos da ingestão de **álcool** na função cognitiva permanecem incertos. Vários estudos comprovam que a ingestão de grandes quantidades de bebidas alcoólicas promove um aumento da fosforilação da proteína Tau, mas também existem evidências que sugerem que o álcool associado ao vinho parece promover efeitos protetores contra a neurodegeneração, devido aos seus constituintes polifenólicos e antioxidantes.⁶⁹

Em contrapartida, os **fatores psicossociais** como a educação contínua e a longo prazo e o envolvimento ativo em atividades cognitivas permitem uma redução da incidência de Alzheimer, ao estimularem a eficiência dos neurónios.⁶⁹ Também a socialização frequente promove uma diminuição do risco de demência e apresenta efeitos benéficos sobre a função cognitiva.^{68, 71} Adicionalmente, o **exercício** aeróbico parece apresentar efeitos benéficos em alguns domínios cognitivos, devido ao seu efeito protetor no volume do hipocampo, bem como na saúde dos neurónios. Para além disso, exercício regular de resistência e exercício de coreografia atrasam o processo neurodegenerativo.⁶⁹ A **dieta** mediterrânea, a dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) especificamente destinada para a hipertensão arterial, e a dieta MIND (*Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay*), capaz de proteger o cérebro do declínio cognitivo, estão inversamente relacionadas com o risco de desenvolvimento de DA. Os efeitos protetores destas dietas parecem estar relacionados com o seu elevado conteúdo de alimentos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antidiabéticas, bem como a uma predominância de gorduras mono e poli-insaturadas.⁶⁹ Igualmente, o consumo moderado de **caféina**, tipicamente definido como 1-2 chávenas por dia, parece estar associado a uma diminuição de aproximadamente 18% no risco de DA, com uma redução mais pronunciada observada nas mulheres. Além disso, o chá apresenta propriedades protetoras, com um efeito

mais substancial observado nos homens. A investigação indica que tanto o chá como o café contêm componentes com propriedades neuroprotetoras, incluindo a cafeína e a L-teanina.⁶⁹

2.2.1.5 A relação existente entre a Síndrome Metabólica e a Doença de Alzheimer

Para além das características primárias associadas à DA, que englobam a deposição/acumulação de péptidos β -amiloides e emaranhados neurofibrilares, desencadeando mecanismos de stress oxidativo e inflamação e culminando na degeneração neuronal e no declínio cognitivo, investigações recentes revelaram novos conhecimentos sobre a sua patogénese. A diminuição da utilização da glucose no cérebro, a detioração da função mitocondrial, a redução da produção de ATP e a desregulação energética poderão também constituir potenciais fatores de risco para o início e a progressão da DA. Os resultados decorrentes das investigações apoiam a hipótese de estas anomalias serem causadas pela dessensibilização dos recetores de insulina neuronais que estão presentes nas membranas sinápticas do hipocampo e que parecem estar associados à função cognitiva. Como resultado, a perturbação da insulina e dos seus recetores parece provocar uma deterioração das funções cognitivas, em particular da memória espacial.⁷¹ Estas conclusões foram comprovadas através de estudos realizados em ratos submetidos a injeções intracerebroventriculares (ICV) de streptozotocina (STZ) durante 12 semanas. A STZ é um fármaco utilizado como modelo experimental para indução da resistência à insulina no cérebro, com o objetivo de compreender o seu impacto nas funções cerebrais. De facto, os mecanismos de resistência à insulina em cérebros de ratos tratados com ICV-STZ demonstraram uma redução do metabolismo da glucose, deficiências colinérgicas, stress oxidativo, fosforilação da proteína Tau, acumulação do peptídeo A β , juntamente com défices nas capacidades de memória e aprendizagem.⁷¹

Estas descobertas levaram os especialistas da área a chegar a uma conclusão importante: a Síndrome Metabólica, que engloba doenças como a Diabetes Mellitus (DM) e a Obesidade, que se caracterizam por múltiplos fatores subjacentes, incluindo a disfunção mitocondrial, o stress oxidativo e a resistência à insulina, potencia os fatores que desencadeiam o desenvolvimento da DA. Curiosamente, o risco de desenvolver a DA parece aumentar substancialmente (50 a 70%) em indivíduos com DM, particularmente aqueles com DM tipo II.⁷²

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Síndrome Metabólica é definida como um estado geral de resistência à insulina, em que e os seus tecidos alvo, como o fígado, o tecido adiposo e o músculo esquelético, não respondem eficazmente à estimulação da insulina.⁷² A inflamação e hipertrofia dos adipócitos criam condições de hipoxia que levam à sua morte. Consequentemente, são libertadas moléculas que chamam os macrófagos ao local. Estes, juntamente com os adipócitos, levam à libertação de moléculas promotoras da resistência à insulina. Adicionalmente, os adipócitos insulino-resistentes libertam ácidos gordos e adipocinas pro-inflamatórias (adipocitocinas) na corrente sanguínea, como o Fator de necrose tumoral α (TNF- α), a interleucina 6 (IL-6), a interleucina 8 (IL-8), e diminuem a síntese de adipocinas anti-inflamatórias (adiponectina).^{72, 73}

O início dos mecanismos de resistência à insulina promove um estado hiperglicémico generalizado, dando subsequente origem à geração de "produtos finais de glicação

avançada" (AGEs) e à disfunção mitocondrial, com a liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS).⁷² Estes processos, juntamente com a liberação de citocinas pro-inflamatórias pelos adipócitos, têm o potencial de induzir o comprometimento da Barreira Hemato-Encefálica (BHE), facilitando a sua rutura e consequente lesão neuronal, através da ativação do subtipo pro-inflamatório das células microgliais, M1, capaz de promover a liberação de TNF α , IL-1 β , IL-18, IL-6, radicais livres de oxigênio (ROS) e óxido nítrico (NO), moléculas com a capacidade de destruição dos neurónios.^{72, 73} Adicionalmente, as células da microglia fagocitam os neurónios lesados. No entanto, nestas circunstâncias, a ocorrência de fagocitose excessiva leva a uma desregulação das sinapses saudáveis, contribuindo para a degeneração cerebral.⁷²

O resumo destes processos está exemplificado na figura 7.

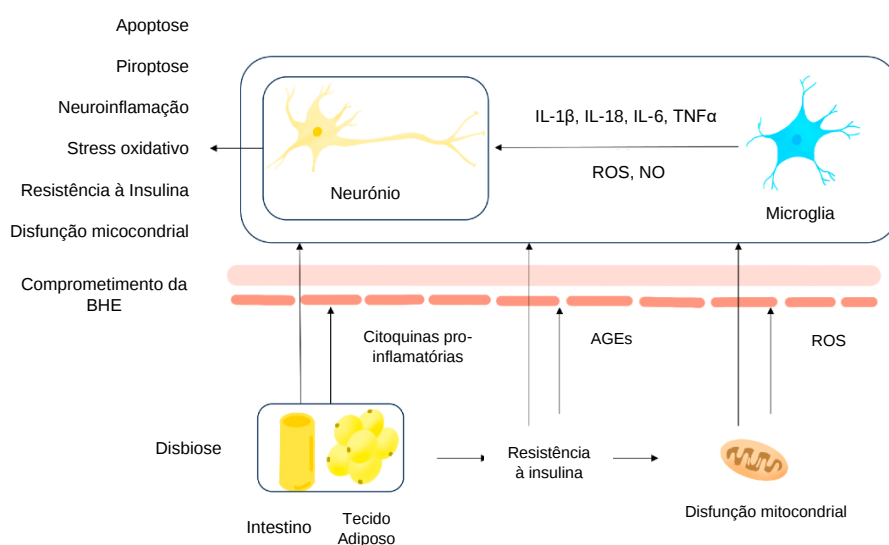


Figura 7. Interligação da Síndrome Metabólica com a DA ⁷²

2.2.2 A Geleia Real

A Geleia Real é uma substância branca-amarelada e ácida produzida pelas glândulas hipofaríngeas das abelhas operárias *Apis mellifera*. É especificamente concebida para nutrir as abelhas rainhas, que têm um tempo de vida de aproximadamente um a cinco anos. Em contrapartida, as abelhas operárias, que derivam do mesmo genoma diploide mas recebem este alimento apenas durante a fase larvar, vivem cerca de três a seis semanas. Para além de viverem mais tempo, as abelhas rainhas são duas vezes maiores, têm uma anatomia especializada para a reprodução e desenvolvem-se mais rapidamente entre a fase de ovo e a fase adulta. Estas diferenças levam os especialistas a acreditar que a alimentação pode desempenhar um papel crucial na longevidade da abelha-rainha⁷³ e, por conseguinte, apresentar vantagens na saúde humana.

2.2.2.1 A Composição da Geleia Real

A Geleia Real, considerada como um “superalimento”, é composta essencialmente por água (50-60%), proteínas (18%), açúcares (15%) e lípidos (3-6%).⁷⁴ As proteínas são os principais constituintes da Geleia Real, representando aproximadamente 50% do seu peso seco.⁷⁵ São denominadas de “Proteínas Principais da Geleia Real” (MRJP-1 a MRJP-9) e apresentam

inúmeros efeitos benéficos para o ser humano. Adicionalmente, assim como as proteínas, os péptidos da Geleia Real apresentam sequências específicas de aminoácidos e potenciais aplicações e benefícios. Existem vários: a apidaecina, a defensina, a himenoptaecina e as jelinas I-IV. Também os lípidos representam uma parte importante da composição da Geleia Real. A maioria destes lípidos (80-85%) são ácidos gordos livres não esterificados, como o ácido 10-hidroxi-2-decenóico (10-HDA), o ácido 10-hidroxidecenóico (10-HDDA) e o ácido sebáico (SEA), que apresentam propriedades dignas de nota. Contém também outros componentes em menores concentrações, nomeadamente minerais (ferro, sódio, cálcio, potássio, zinco, magnésio e cobre), aminoácidos, alguns deles essenciais (valina, leucina, isoleucina, treonina, metionina, lisina, triptofano e fenilalanina), vitaminas (A, complexo B, C e E), enzimas, hormonas, nucleótidos, polifenóis e compostos heterocíclicos.^{75, 76}

2.2.2.2 As propriedades da Geleia Real

Devido à presença de péptidos e proteínas, bem como à ocorrência do ácido 10-HDA, a Geleia Real apresenta propriedades antimicrobianas significativas. Nomeadamente, as proteínas MRJP-2, MRJP-3, MRJP-4, MRJP-5 e MRJP-7 demonstram efeitos antibacterianos contra *E. coli* Gram-negativa. Além disso, as proteínas MRJP-2 e MRJP-4 manifestam ações antifúngicas e antiparasitárias. A natureza positivamente carregada dos péptidos constituintes da Geleia Real, atribuída a resíduos de lisina, arginina e histidina, permite a sua interação com fosfolípidos aniônicos na membrana celular das bactérias, induzindo a sua rutura. Exemplos ilustrativos destes péptidos são as jelinas I, II, III e IV. Embora a sua sequência varie apenas num único resíduo, as jelinas I-III promovem a inibição tanto de bactérias Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Paenibacillus larvae*) como de bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), enquanto as jelinas IV não o fazem.⁷⁵

Estudos recentes exploraram o papel da Geleia Real no processo de cicatrização de feridas.⁷⁷ Pasupuleti *et al.* (2017) descobriram que as proteínas da Geleia Real MRJP2, MRJP3 e MRJP7 tinham a capacidade de acelerar a cicatrização de feridas num modelo in vitro de ferida por raspagem em queratinócitos epidérmicos humanos.⁷⁴ No entanto, os mecanismos subjacentes a este processo não são totalmente conhecidos.⁷⁷

Adicionalmente, o “superalimento” produzido pelas abelhas demonstrou apresentar propriedades anti-inflamatórias surpreendentes. Esta revelação vem na sequência da descoberta de que a proteína MRJP-3 é capaz de impedir a produção das IL 4 e 2, bem como de interferência alfa (IFN- γ) pelas células T, associada à supressão da proliferação celular.⁷⁷ O estudo realizado por Kohno *et al.* (2004) analisou detalhadamente as propriedades redutoras da inflamação e concluiu que a Geleia Real reduz significativamente os níveis de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF- α , IL-1 e IL-6 em macrófagos peritoneais de murinos in vitro e que este efeito, para além de ser dose-dependente, não exerce qualquer citotoxicidade sobre as células.⁷⁸ No que diz respeito à investigação realizada em seres humanos, um estudo recente envolveu uma coorte de indivíduos com excesso de peso que receberam um tratamento diário de 333mg de Geleia Real. Verificou-se que, ao fim de oito semanas, o tratamento administrado produziu uma diminuição dos níveis de IL-6, bem como da proteína C reativa, um importante marcador

inflamatório produzido pelo fígado. Adicionalmente, foi observada uma elevação dos níveis de adiponectina e dos seus respectivos recetores.⁷⁷ A adiponectina, como fator homeostático, regula os níveis de glucose, o metabolismo lipídico e a sensibilidade à insulina, exercendo a sua influência através de mecanismos anti-inflamatórios, anti fibróticos e antioxidantes. Desempenha, desta forma, funções protetoras em condições como a Diabetes e a Aterosclerose.⁷⁹

A capacidade antioxidante demonstrada pela Geleia Real é também um dos seus principais benefícios. Esta propriedade contribui ativamente para a prevenção de certas doenças, como o cancro, as doenças autoimunes e cardiovasculares, o envelhecimento, a artrite reumatoide, as doenças neurodegenerativas, protegendo as células dos danos causados pelos agentes oxidativos.⁸⁰ De facto, o papel potencial da Geleia Real na eliminação dos radicais livres foi sugerido num grande número de estudos.⁷⁷ Em particular, o estudo de Liu *et al.* (2008) demonstrou o seu papel na eliminação do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), bem como a sua capacidade de inibir a formação de radicais superóxido e hidroxilo. Determinaram também que a eficácia antioxidante da Geleia Real dependia tanto do estágio de desenvolvimento das larvas como do momento da recolha da amostra. Estes atributos foram mais proeminentes no caso de larvas jovens, especificamente aquelas com apenas um dia de idade, quando a amostra foi obtida 24 horas após o enxerto larvar.^{77, 81}

2.2.3 A ação neuroprotetora da Geleia Real

2.2.3.1 Os benefícios da administração de Geleia Real na Doença de Alzheimer

Vários estudos têm vindo a concluir que existem semelhanças funcionais entre a Geleia Real e a insulina, levando os especialistas a especular sobre o seu potencial benefício na Síndrome Metabólica e, conseqüentemente, na fisiopatologia da DA.⁷¹ O estudo realizado por Münstedt *et al.* (2009) veio comprovar esta descoberta. Foram recrutados vinte voluntários do género masculino, com idades compreendidas entre os 21 e os 27 anos, com um índice de massa corporal de 21–27 kg/m² sem distúrbios metabólicos ou medicação concomitante. De seguida foram submetidos a um teste oral de tolerância à glucose (TOTG). Uma semana mais tarde, após a exclusão dos indivíduos com tolerância patológica à glucose, os participantes foram novamente submetidos ao TOTG. No entanto, antes do teste, consumiram 20 g de Geleia Real. Foram recolhidas três amostras de sangue distintas: a primeira antes do consumo oral de glucose, a segunda e a terceira, uma e duas horas após a sua ingestão, respetivamente. Os níveis de glucose plasmática do primeiro e do segundo teste de tolerância à glucose foram comparados, após uma e duas horas (figura 8).⁸²

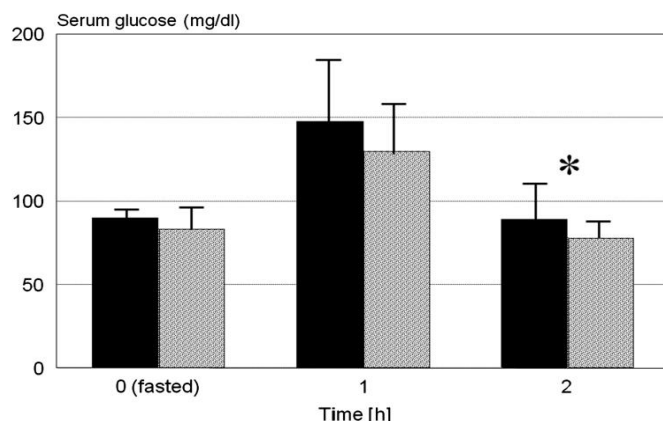


Figura 8. Níveis plasmáticos de glucose às 0, 1 e 2h depois da realização do primeiro e do segundo TOTG, uma semana mais tarde ⁸²

Em comparação com os resultados obtidos no primeiro teste de tolerância à glucose, a administração de Geleia Real levou a uma redução de 11,9% dos níveis séricos de glucose dos indivíduos em estudo.⁸² Esta descoberta leva à conclusão de que o “superalimento” produzido pelas abelhas exibe potencialmente efeitos semelhantes aos da insulina e tem uma habilidade para melhorar, de forma significativa, a resistência à insulina. Propriedades vantajosas para impedir os processos de neurodegeneração associados à DA.^{71, 82} Inclusivamente, existem estudos que demonstram que a suplementação de ratos idosos com MRJPs, componentes fundamentais da Geleia Real, promovem o *uptake* de glucose para o cérebro, o que resulta num aumento dos níveis do ácido fosfoenolpirúvico, um intermediário importante para os processos de gliconeogénese e glicogenólise, levando à melhoria dos processos metabólicos cerebrais.⁸³

Adicionalmente os resultados de investigações realizadas até à data demonstraram que, quando administrada por via oral, a Geleia Real apresenta funções neuroprotetoras benéficas na zona cerebral do hipocampo de ratos adultos, facilitando seletivamente a expressão de determinadas neurotrofinas endógenas, como o Fator Neurotrófico Derivado de Células Glia (GDNF), o Neurofilamento H (NF-H) e o Fator de Crescimento dos Nervos (NGF). O GDNF é um péptido responsável pela diferenciação e sobrevivência dos neurónios, que contribui para a reparação dos tecidos cerebrais danificados.^{83, 84} Juntamente com as restantes subunidades (NF-L e NF-M), o NF-H é essencial para o estabelecimento de uma matriz flexível e reversivelmente interligada que suporta o crescimento dos axónios,⁸⁵ para além de estimular a diferenciação das células estaminais neurais em neurónios plenamente maduros, essenciais para os processos relacionados com a aprendizagem e a memória.⁸³ O NGF, por outro lado, apresenta as suas funções direcionadas para a sobrevivência e atividade dos neurónios colinérgicos, que sofrem uma degeneração acentuada na DA.⁸³ É capaz de promover a síntese de acetilcolina (ACh) por estes neurónios, através da libertação da enzima Colina Acetiltransferase (ChAT). Para além disso, o NGF também promove a reparação de astrócitos em diversas áreas do cérebro, as células com maior abundância no Sistema Nervoso Central (SNC). A utilização de NGF exógeno tem sido considerada como uma abordagem terapêutica no tratamento da DA. No entanto, devido à dificuldade do NGF em atravessar a BHE, esta opção terapêutica torna-se praticamente

inviável, já que está dependente da administração de injeções intracerebrais dolorosas. Sendo assim, a utilização da Geleia Real, capaz de promover a produção endógena de NGF, poderá ser uma opção mais viável e promissora.⁸³

Um outro estudo, conduzido por Raoufi *et al.* (2023), avaliou a administração de Geleia Real como potencial candidata para a terapia da DA, considerando os seus efeitos antioxidantes. O estudo foi realizado num modelo de quarenta ratos machos adultos *Wistar*, através da injeção ICV de A β , divididos aleatoriamente por cinco grupos: o grupo controlo, tratado com o veículo, o grupo “Sham”, que apenas recebia uma injeção ICV de salina fosfatada tamponada (usado como solvente dos péptidos β -amiloides), o grupo “A β ” que recebia injeções ICV dos péptidos β -amiloides indutores da DA, o grupo “A β +RJ50” e “A β +RJ100” que, para além da administração dos péptidos β -amiloides, recebia 50 e 100 mg/kg de Geleia Real, respetivamente, uma vez por dia, durante 28 dias. O estudo foi dividido em duas fases distintas: uma fase inicial centrada predominantemente em aspetos comportamentais e cognitivos e uma fase subsequente mais focada na realização de análises bioquímicas.⁸⁶

A capacidade cognitiva e de memória dos ratos foi avaliada, através do teste de reconhecimento de objetos (*Novel Object Recognition* – NOR) que teve como principal objetivo a avaliação da memória de reconhecimento, com base na capacidade inerente que os roedores têm para explorar novos objetos, em detrimento dos que já conhecem.⁸⁷ O procedimento do teste consistiu em três fases distintas: habituação, aquisição e retenção. Na fase de habituação, os ratos foram colocados numa caixa de madeira preta na ausência dos objetos, durante vinte minutos. Um dia depois realizou-se a fase de aquisição, em que os animais foram colocados na caixa contendo dois objetos similares e foram autorizados a explora-los (cheirar, mastigar, lambear, tocar, ou aproximar o nariz) durante dez minutos. 24 horas mais tarde realizou-se o teste de retenção, em que um dos objetos foi substituído por um novo. Os ratos foram autorizados a explorar durante dez minutos. O comportamento dos roedores perante os objetos foi avaliado através do Índice de Discriminação (DI), um indicador do teste de NOR que determina o tempo de exploração do novo objeto, considerando o tempo total de exploração.⁸⁶

A análise bioquímica consistiu na realização de três testes diferentes: a medição dos níveis de malondialdeído (MDA), como um marcador do índice de peroxidação lipídica; a medição da Capacidade Antioxidante Total (TAC), através do ensaio antioxidante de redução de ferro (FRAP), que mede a capacidade que os antioxidantes presentes na amostra têm para reduzir a tripiridil triazina férrica (Fe³⁺-TPTZ) para a forma ferrosa (Fe²⁺), com a formação de uma cor azul intensa; e a medição do Estado Oxidante Total (TOS), através da taxa de oxidação de íons ferrosos para íons férricos, determinada pelo aparecimento de uma cor laranja de xilenol.⁸⁶

Os resultados inerentes à primeira fase de investigação demonstraram que a administração ICV de peptídeos “A β ” em ratos adultos *Wistar* levou a uma alteração na sua capacidade de reconhecimento de objetos, notavelmente marcada por uma diminuição significativa no DI. Esta diminuição indicou uma capacidade diminuída dos ratos para discernir os objetos que tinham sido substituídos por novos, dos que anteriormente tinham sido explorados. Em contrapartida, a administração de duas concentrações distintas de Geleia Real revelou melhorar a capacidade

cognitiva e de memória dos roedores tratados com “A β ”, evidenciando-se uma melhoria significativa na habilidade de discriminação dos objetos provocada por um aumento do DI.⁸⁶

Relativamente à análise bioquímica, os resultados revelaram uma diferença notável nas concentrações de MDA entre os grupos examinados. Especificamente, o grupo “A β ” obteve os níveis mais altos, em contraste com os restantes grupos. Em comparação, os grupos “A β + RJ50” e “A β + RJ100” apresentaram níveis significativamente reduzidos de MDA, indicando um menor grau de peroxidação lipídica (figura 9). Como seria de esperar, o grupo “A β ” obteve os níveis mais elevados de TOS, em comparação com os restantes. O estado oxidante nos grupos “A β + RJ50” e “A β + RJ100” foi significativamente menor em comparação com o grupo “A β ” (figura 10). Em contrapartida, a TAC foi baixa no grupo “A β ”, comparativamente aos grupos controlo e “Sham”, mas significativamente mais elevada nos grupos “A β + RJ50” e “A β + RJ100” (figura 11).⁸⁶

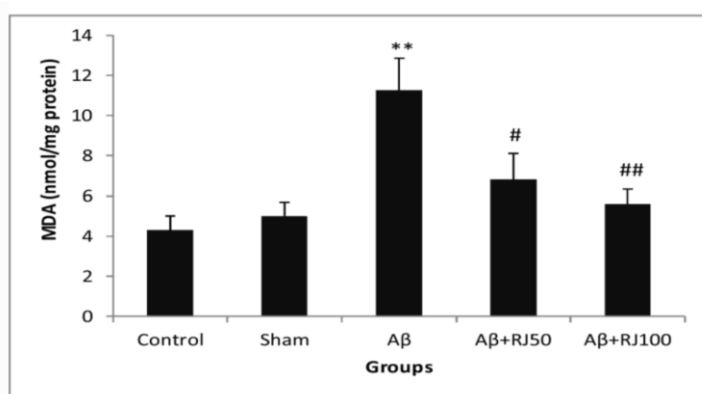


Figura 9. Concentrações de MDA nos grupos controlo, “Sham”, “A β ”, “A β + RJ50” e “A β + RJ100”⁸⁶

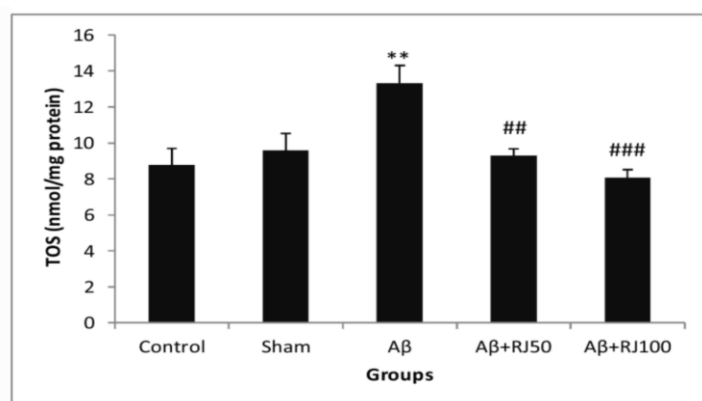


Figura 10. Nível de TOS nos grupos controlo, “Sham”, “A β ”, “A β + RJ50” e “A β + RJ100”⁸⁶

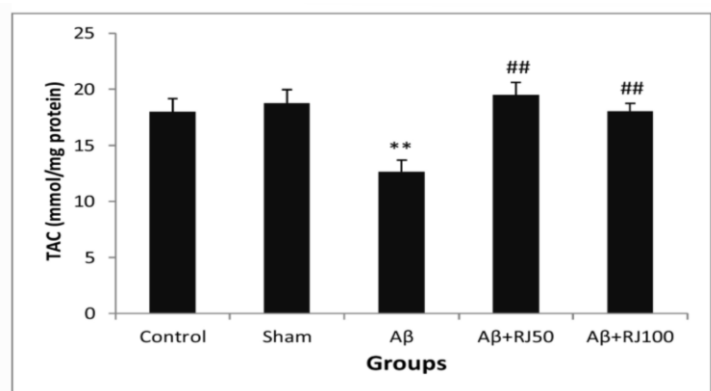


Figura 11. TAC nos grupos controlo, “Sham”, “Aβ”, “Aβ + RJ50” e “Aβ + RJ100”⁸⁶

De facto, o desenvolvimento da placa β-amiloide no cérebro e a diminuição dos níveis de TAC, que é o sistema antioxidante responsável pela remoção do excesso de radicais livres no hipocampo, conduzem à acumulação de radicais livres com efeitos oxidativos e progressivamente mais tóxicos que levam, subsequentemente, ao aparecimento de sintomas clínicos e patológicos da DA, tais como défices cognitivos e comportamentais.^{71, 86} Como uma perspetiva promissora em meio às adversidades, a administração de concentrações específicas de Geleia Real mostrou resultados promissores na progressão da doença. A melhoria dos danos oxidativos, alcançado pela redução de ROS e espécies de nitrogênio reativo (RNS), juntamente com uma elevação na capacidade antioxidante através da indução da TAC, são alguns mecanismos subjacentes à melhoria da função cognitiva subsequente ao tratamento com este “superalimento”.⁸⁶

2.2.3.2 O potencial terapêutico do ácido 10-HDA na Doença de Alzheimer

O processo de piroptose, um tipo de morte celular ligado à inflamação, tem sido implicado na DA e na Síndrome Metabólica. O inflamassoma NLRP3 desempenha um papel fundamental na iniciação da via piroptótica nas células. Este inflamassoma é um constituinte do sistema imunitário inato e a sua ativação resulta de processos inflamatórios prolongados. Consequentemente, é despoletado como resultado dos mecanismos patológicos subjacentes à Síndrome Metabólica e à DA.⁷² Quando o inflamassoma NLRP3 é ativado, catalisa a conversão da pró-caspase 1 em caspase-1 clivada, um marcador pró-apoptótico importante na indução de mecanismos de morte celular neuronal. Além disso, O NLRP3 assume a responsabilidade pela conversão da IL-1β e da IL-18 nas suas formas maduras, contribuindo assim para a resposta inflamatória.⁸⁷

Considerado como um indicador de qualidade da Geleia Real, o ácido gordo insaturado 10-HDA é um dos seus constituintes mais significativos devido à sua notável capacidade de inibir a via celular apoptótica mediada pelo inflamassoma NLRP3, seguida de uma diminuição dos níveis de caspase-1 clivada, IL-1β e IL-18 maduras.^{72, 87} Além disso, várias investigações demonstraram que o 10-HDA possui a capacidade de atravessar a BHE, apresentando efeitos semelhantes aos do Fator Neurotrófico derivado do Cérebro (BDNF).⁷² O BDNF tem uma

importância fundamental no sistema nervoso central, desempenhando um papel fulcral na neurogênese, no estabelecimento de redes neurais e na plasticidade neural.⁸⁸ Adicionalmente, o estudo realizado por You *et al.* (2019) evidenciou os efeitos protetores do 10-HDA, ao demonstrar que este composto tem a capacidade de inibir a degradação de proteínas de junção estreita (*Tight Junctions*), diminuindo, por isso, a permeabilidade da BHE e protegendo a sua integridade contra compostos potencialmente tóxicos e indutores de desregulação.⁸⁷ Além disso, este estudo revelou que o 10-HDA pode atenuar a inflamação nas células BV2, um modelo celular amplamente utilizado como alternativa às células da microglia.^{87, 89} Este efeito anti-inflamatório é conseguido através da regulação positiva da expressão do fator FOXO1, um contribuinte crucial para o desenvolvimento da autofagia. Esta característica facilita a remoção e eliminação de componentes celulares danificados, preservando assim a viabilidade das células.⁸⁷

2.3 Considerações finais e conclusões

A Geleia Real tem sido amplamente utilizada nos domínios comercial, médico e cosmético devido à sua rica gama de compostos biológicos, que incluem proteínas, péptidos, lípidos, compostos fenólicos, entre outros.^{75, 90} Este produto ganhou a alcunha de "superalimento" devido ao seu profundo impacto no crescimento, desenvolvimento e longevidade das abelhas rainhas. Para os seres humanos, apresenta um espectro de propriedades benéficas, incluindo atributos imunomoduladores, anti-inflamatórios, antioxidantes, anti-hipertensivos, antienvelhecimento, neurotróficos, estrogénicos e anticancerígenos. Para além das suas contribuições para a saúde do cérebro, a Geleia Real pode também assumir um papel protetor para órgãos vitais como o fígado, os rins e o sistema reprodutor. Nomeadamente, a sua capacidade para reduzir a peroxidação lipídica e aumentar a atividade das enzimas antioxidantes é promissora no domínio das doenças gastrointestinais.⁷⁵

Embora numerosos estudos tenham investigado o potencial terapêutico dos constituintes da Geleia Real, investigações abrangentes relativas à segurança e eficácia são pré-requisitos essenciais antes de se considerar a utilização destes compostos no tratamento de doenças como a doença de Alzheimer.^{75, 90} A determinação de uma dosagem ótima para garantir a segurança e a eficácia está atualmente por resolver.⁷⁶ Como consequência, é imperativo o desenvolvimento de mais esforços de investigação nesta direção específica.

Conclusão global

Os seis meses como estagiária foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e profissional. Fizem-me sair da minha zona de conforto, confrontaram-me com diversos setores de saúde e realçaram o papel fundamental que os farmacêuticos desempenham na sociedade.

Os farmacêuticos são membros integrantes de equipas multidisciplinares e estão numa posição única para ter um impacto significativo na vida dos utentes.

As suas responsabilidades na farmácia comunitária incluem o aconselhamento e/ou dispensa da medicação, assegurando a prestação de orientações claras e precisas que promovam a adesão à terapêutica. Cabe ao farmacêutico informar o utente sobre o modo de administração e utilização do medicamento, bem como as suas condições de conservação. A importância da leitura do folheto informativo e o alerta para potenciais reações adversas de média a elevada frequência são também aspetos integrantes das funções diárias do farmacêutico comunitário. Na sua qualidade de profissionais de saúde, os farmacêuticos têm, ainda, as tarefas de monitorização de indicadores bioquímicos, identificação de doentes de risco e promoção de estilos de vida mais saudáveis.

Atualmente, muitas farmácias oferecem serviços de cuidados personalizados aos doentes, como a Preparação Individualizada da Medicação (PIM) para mitigar erros e lapsos na adesão à medicação. Estão a ser desenvolvidos esforços para implementar práticas que envolvam um acompanhamento e monitorização mais próximos e personalizados dos utentes. No entanto, na minha opinião, a maior aceitação e o desenvolvimento destas práticas nas farmácias são importantes para prestar um apoio mais abrangente e essencial à população.

No âmbito da Farmácia Hospitalar, o farmacêutico participa na gestão e implementação de estratégias para garantia contínua de um sistema de cuidados de saúde de qualidade a longo prazo. Assume um papel central na aquisição de medicamentos de forma rentável, segura e eficiente, ao mesmo tempo que supervisiona os níveis de inventário de forma a garantir a constante atualização do stock do hospital. Além disso, contribui para a distribuição, armazenamento e dispensa dos medicamentos a todos os departamentos, para além de desempenhar um papel crucial na garantia de conformidade de todos os procedimentos farmacêuticos praticados nas instalações do hospital. Como mestre do medicamento, seleciona e adapta a terapêutica medicamentosa de acordo com as características individuais do doente, avaliando e comunicando atentamente as reações adversas associadas.

Nós, farmacêuticos, temos a chave para otimizar os cuidados de saúde e é o nosso dever dar prioridade ao bem-estar e segurança do utente.

Bibliografia

- [1] Tikkanen, R., Osborn, R., Mossialos, E., Djordjevic, A., & Wharton, G. (2020, June 5). *Netherlands* | *Commonwealth Fund*. [Www.commonwealthfund.org. https://www.commonwealthfund.org/international-health-policy-center/countries/netherlands](https://www.commonwealthfund.org/international-health-policy-center/countries/netherlands)
- [2] Degnan, D. D., Bullard, T. N., & Davis, M. B. H. (2020). Risk of Patient Harm Related to Unnecessary Dilution of Ready-to-Administer Prefilled Syringes. *Journal of Infusion Nursing*, 43(3), 146–154. <https://doi.org/10.1097/nan.0000000000000366>
- [3] Gabay, M., Hertig, J. B., Degnan, D., Burger, M., Yaniv, A., McLaughlin, M., & Lynn Moody, M. (2019). Third Consensus Development Conference on the Safety of Intravenous Drug Delivery Systems—2018. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 77(3), 215–220. <https://doi.org/10.1093/ajhp/zxz277>
- [4] Drost-Wijnne, A., Van Wezel, R., Deenen, M., Van Doornmalen Gomez Hoyos, J. & Grouls, R. (2018). A Proof of Principle Study of the Terminal Sterilization of Prefilled Syringes Using A Water Cascade Process . *Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy*, 3(4), 191-198. <https://doi.org/10.1515/pthp-2018-0020>
- [5] Alrashed, A. A., Ali Mohzari, Y., & Asdaq, S. M. B. (2021). Evaluation and implementation of strategies to reduce the intravenous admixture returns. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 770–774. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.009>
- [6] *Pharmacy's Critical Role in the IV Medication Therapy Process*. (2018, June 25). [Www.cerner.com. https://www.cerner.com/perspectives/pharmacy-role-in-the-iv-medication-therapy-process](https://www.cerner.com/perspectives/pharmacy-role-in-the-iv-medication-therapy-process)
- [7] Saunders, M., Adelgais, K., & Nelson, D. (2010). Use of Intranasal Fentanyl for the Relief of Pediatric Orthopedic Trauma Pain. *Academic Emergency Medicine*, 17(11), 1155–1161. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2010.00905.x>
- [8] Borland, M., Jacobs, I., King, B., & O'Brien, D. (2007). A Randomized Controlled Trial Comparing Intranasal Fentanyl to Intravenous Morphine for Managing Acute Pain in Children in the Emergency Department. *Annals of Emergency Medicine*, 49(3), 335–340. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2006.06.016>
- [9] Cole, J., Shepherd, M., & Young, P. (2009). Intranasal fentanyl in 1-3-year-olds: A prospective study of the effectiveness of intranasal fentanyl as acute analgesia. *Emergency Medicine Australasia*, 21(5), 395–400. <https://doi.org/10.1111/j.1742-6723.2009.01216.x>
- [10] Thigpen, J. C., Odle, B. L., & Hariforoosh, S. (2019). Opioids: A Review of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Neonates, Infants, and Children. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 44(5), 591–609. <https://doi.org/10.1007/s13318-019-00552-0>

- [11] ANNEX I SUMMARY OF PRODUCT CHARACTERISTICS. (2009). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/instanyl-epar-product-information_en.pdf
- [12] Watts, P., Smith, A., & Perelman, M. (2012). Nasal delivery of fentanyl. *Drug Delivery and Translational Research*, 3(1), 75–83. <https://doi.org/10.1007/s13346-012-0078-y>
- [13] Panagiotou, I., & Mystakidou, K. (2010). Intranasal fentanyl: from pharmacokinetics and bioavailability to current treatment applications. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 10(7), 1009–1021. <https://doi.org/10.1586/era.10.77>
- [14] Kuip, E. J. M., Zandvliet, M. L., Koolen, S. L. W., Mathijssen, R. H. J., & van der Rijt, C. C. D. (2016). A review of factors explaining variability in fentanyl pharmacokinetics; focus on implications for cancer patients. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 83(2), 294–313. <https://doi.org/10.1111/bcp.13129>
- [15] Sobiesk, J. L., & Munakomi, S. (2020). *Anatomy, Head and Neck, Nasal Cavity*. PubMed; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544232/>
- [16] Ruigrok, M. J. R., & de Lange, E. C. M. (2015). Emerging Insights for Translational Pharmacokinetic and Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Studies: Towards Prediction of Nose-to-Brain Transport in Humans. *The AAPS Journal*, 17(3), 493–505. <https://doi.org/10.1208/s12248-015-9724-x>
- [17] MAD Nasal™ Intranasal Mucosal Atomization Device | US | Teleflex. (2013). Teleflex.com. <https://www.teleflex.com/usa/en/product-areas/anesthesia/atomization/mad-nasal-device/index.html>
- [18] HINT: How to use a nasal atomizer to safely deliver intranasal medication. (2021, April 22). Connected Care @ SickKids. <https://www.connectedcare.sickkids.ca/quick-hits/nasalatomizer>
- [19] Wolfe, T. R., & Braude, D. A. (2010). Intranasal Medication Delivery for Children: A Brief Review and Update. *PEDIATRICS*, 126(3), 532–537. <https://doi.org/10.1542/peds.2010-0616>
- [20] Saunders, M., Adelgais, K., & Nelson, D. (2010). Use of Intranasal Fentanyl for the Relief of Pediatric Orthopedic Trauma Pain. *Academic Emergency Medicine*, 17(11), 1155–1161. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2010.00905.x>
- [21] Herd DW. Borland M. (2009). Intranasal fentanyl paediatric clinical practice guidelines. *Emergency Medicine Australasia*, 21(4), 335–335. <https://doi.org/10.1111/j.1742-6723.2009.01207.x>
- [22] Fentanyl - Intranasal. (2018, April). Pch.health.wa.gov.au. <https://pch.health.wa.gov.au/For-health-professionals/Emergency-Department-Guidelines/Fentanyl-Intranasal>

- [23] *National Cancer Institute*. (2011, February 2). *Www.cancer.gov*. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/breakthrough-pain>
- [24] Ramos-Matos, C. F., & Lopez-Ojeda, W. (2022). *Fentanyl*. PubMed; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459275/>
- [25] Australia, H. (2021, May 29). *Fentanyl*. *Www.healthdirect.gov.au*. <https://www.healthdirect.gov.au/fentanyl>
- [26] *Medicamentos manipulados*. (2016). *Www.infarmed.pt*. <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
- [27] Adriztina, I., Adenin, L. I., & Lubis, Y. M. (2018). Efficacy of Boric Acid as a Treatment of Choice for Chronic Suppurative Otitis Media and Its Ototoxicity. *Korean Journal of Family Medicine*, 39(1), 2. <https://doi.org/10.4082/kjfm.2018.39.1.2>
- [28] Gnoth, C., & Johnson, S. (2014). Strips of Hope: Accuracy of Home Pregnancy Tests and New Developments. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde*, 74(07), 661–669. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1368589>
- [29] Kidima, W. B. (2015). Syncytiotrophoblast Functions and Fetal Growth Restriction during Placental Malaria: Updates and Implication for Future Interventions. *BioMed Research International*, 2015, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/451735>
- [30] Johnson, S. (2020, January 1). Chapter 2.4 - The home pregnancy test (L. A. Cole & S. A. Butler, Eds.). ScienceDirect; Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128200506000102>
- [31] *Pregnancy Tests: Digital Tests, Sticks and Kits - Clearblue*. (2019, April 8). *Www.clearblue.com*. <https://www.clearblue.com/pregnancy-tests>
- [32] Falcão, M. C., & Zamberlan, P. (2021). Infant Formulas: A Long Story. *International Journal of Nutrology*, 14(02), e61–e70. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1735640>
- [33] Rêgo, C. (2022). *LEITES E FÓRMULAS INFANTIS – Tratado de Clínica Pediátrica*. Leites E Fórmulas Infantis. <https://tratadoclinicapediatica.pt/i-volume/parte-xi-nutricao/leites-e-formulas-infantis/>
- [34] Phosanam, A., Chandrapala, J., Huppertz, T., Adhikari, B., & Zisu, B. (2021). In vitro digestion of infant formula model systems: Influence of casein to whey protein ratio. *International Dairy Journal*, 117, 105008. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105008>

- [35] da Costa, C. P., Melo, F. M., & Bell, V. (2021). Fórmulas Infantis: indicação, função e constituição. *Acta Portuguesa de Nutrição*, 27. <https://doi.org/10.21011/apn.2021.2704>
- [36] Agostoni, C., Axelsson, I., Goulet, O., Koletzko, B., Michaelsen, K. F., Puntis, J., Rieu, D., Rigo, J., Shamir, R., Szajewska, H., & Turck, D. (2006). Soy Protein Infant Formulae and Follow-On Formulae. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42(4), 352–361. <https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000189358.38427.cd>
- [37] Ávila, R. (2004). Aleitamento da criança no primeiro ano de vida. *Rev Port Clin Geral*, 20:339-46. <https://rpmgf.pt/ojs/index.php/rpmgf/article/download/10042/9779>
- [38] CDC. (2022, November 1). *Preterm Birth*. Center for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/reproductivehealth/maternalinfanthealth/pretermbirth.htm>
- [39] Abreu, A. P., & Kaiser, U. B. (2016). Pubertal development and regulation. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 4(3), 254–264. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(15\)00418-0](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(15)00418-0)
- [40] Breehl, L., & Caban, O. (2018). *Physiology, Puberty*. Nih.gov; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534827/>
- [41] Emmanuel, M., & Bokor, B. R. (2020). *Tanner Stages*. PubMed; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470280/>
- [42] Follicle-Stimulating Hormone Abnormalities: Practice Essentials, Pathophysiology, Epidemiology. (2023). *EMedicine*. <https://emedicine.medscape.com/article/118810-overview?form=fpf>
- [43] Boafó, A., Greenham, S., Alenezi, S., Robillard, R., Pajer, K., Tavakoli, P., & De Koninck, J. (2019). Could long-term administration of melatonin to prepubertal children affect timing of puberty? A clinician's perspective. *Nature and Science of Sleep*, Volume 11, 1–10. <https://doi.org/10.2147/nss.s181365>
- [44] Chen, Z., Si, L., Shu, W., Zhang, X., Wei, C., Wei, M., Cheng, L., Chen, Z., Qiao, Y., & Shi Yu Yang. (2022). Exogenous Melatonin Regulates Puberty and the Hypothalamic GnRH-GnIH System in Female Mice. *Brain Sciences*, 12(11), 1550–1550. <https://doi.org/10.3390/brainsci12111550>
- [45] Esposito, S., Laino, D., D'Alonzo, R., Mencarelli, A., Di Genova, L., Fattorusso, A., Argentiero, A., & Mencaroni, E. (2019). Pediatric sleep disturbances and treatment with melatonin. *Journal of Translational Medicine*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1835-1>
- [46] Attia AM, Montaser BA, Abdallah NK. (2020, May 25). *Role of melatonin in constitutional delayed puberty in boys*. [Www.mmj.eg.net](http://www.mmj.eg.net). <http://www.mmj.eg.net/text.asp?2020/33/1/283/281297>

- [47] Janjua, I. (2016). Sleep-related melatonin use in healthy children. *Canadian Family Physician*, 62(4), 315. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4830653/>
- [48] Mannino, G., Pernici, C., Serio, G., Gentile, C., & Berteà, C. M. (2021). Melatonin and Phytomelatonin: Chemistry, Biosynthesis, Metabolism, Distribution and Bioactivity in Plants and Animals—An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9996. <https://doi.org/10.3390/ijms22189996>
- [49] Cummings, C., & Canadian Paediatric Society, Community Paediatrics Committee. (2012). Melatonin for the management of sleep disorders in children and adolescents. *Paediatrics & Child Health*, 17(6), 331–336. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3380753/>
- [50] Moturi, S., & Avis, K. (2010). Assessment and treatment of common pediatric sleep disorders. *Psychiatry* (Edgmont (Pa. : Township)), 7(6), 24–37. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2898839/>
- [51] Bruni, O., Alonso-Alconada, D., Besag, F., Biran, V., Braam, W., Cortese, S., Moavero, R., Parisi, P., Smits, M., Van der Heijden, K., & Curatolo, P. (2015). Current role of melatonin in pediatric neurology: Clinical recommendations. *European Journal of Paediatric Neurology*, 19(2), 122–133. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2014.12.007>
- [52] Mantle, D., Smits, M., Boss, M., Miedema, I., & van Geijlswijk, I. (2020). Efficacy and safety of supplemental melatonin for delayed sleep–wake phase disorder in children: an overview. *Sleep Medicine*, 2, 100022. <https://doi.org/10.1016/j.sleepx.2020.100022>
- [53] Malow, B. A., Findling, R. L., Schroder, C. M., Maras, A., Breddy, J., Nir, T., Zisapel, N., & Gringras, P. (2021). Sleep, Growth, and Puberty After 2 Years of Prolonged-Release Melatonin in Children With Autism Spectrum Disorder. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 60(2), 252–261.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2019.12.007>
- [54] MD, C. M. (2022, October 6). *New advice on melatonin use in children*. Harvard Health. <https://www.health.harvard.edu/blog/new-advice-on-melatonin-use-in-children-202210062832>
- [55] Harter, C. J. L., Kavanagh, G. S., & Smith, J. T. (2018). The role of kisspeptin neurons in reproduction and metabolism. *Journal of Endocrinology*, 238(3), R173–R183. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0108>
- [56] Ozawa, H. (2021). Kisspeptin neurons as an integration center of reproductive regulation: Observation of reproductive function based on a new concept of reproductive regulatory nervous system. *Reproductive Medicine and Biology*. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12419>

- [57] Simonneaux, V., Ansel, L., Revel, F. G., Klosen, P., Pévet, P., & Mikkelsen, J. D. (2009). Kisspeptin and the seasonal control of reproduction in hamsters. *Peptides*, 30(1), 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.06.006>
- [58] Srinivasan, V., Spence, W. D., Pandi-Perumal, S. R., Zakharia, R., Bhatnagar, K. P., & Brzezinski, A. (2009). Melatonin and human reproduction: Shedding light on the darkness hormone. *Gynecological Endocrinology*, 25(12), 779–785. <https://doi.org/10.3109/09513590903159649>
- [59] Galland, B. C., & Mitchell, E. A. (2010). Helping children sleep. *Archives of Disease in Childhood*, 95(10), 850–853. <https://doi.org/10.1136/adc.2009.162974>
- [60] CDC. (2022, September 13). *Sleep hygiene tips - sleep and sleep disorders*. Centers for Disease Control and Prevention; Centers for Disease Control and Prevention. https://www.cdc.gov/sleep/about_sleep/sleep_hygiene.html
- [61] Ali, A. M., & Kunugi, H. (2020). Royal Jelly as an Intelligent Anti-Aging Agent—A Focus on Cognitive Aging and Alzheimer's Disease: A Review. *Antioxidants*, 9(10), 937. <https://doi.org/10.3390/antiox9100937>
- [62] World Health Organization. (2023, March 15). *Dementia*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- [63] National Institute on Aging. (2018, May 16). *What Happens to the Brain in Alzheimer's Disease?* National Institute on Aging. <https://www.nia.nih.gov/health/what-happens-brain-alzheimers-disease>
- [64] You, M., Pan, Y., Liu, Y., Chen, Y., Wu, Y., Si, J., Wang, K., & Hu, F. (2019). Royal Jelly Alleviates Cognitive Deficits and β -Amyloid Accumulation in APP/PS1 Mouse Model Via Activation of the cAMP/PKA/CREB/BDNF Pathway and Inhibition of Neuronal Apoptosis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00428>
- [65] Miners, J. S., Barua, N., Kehoe, P. G., Gill, S., & Love, S. (2011). $A\beta$ -Degrading Enzymes: Potential for Treatment of Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 70(11), 944–959. <https://doi.org/10.1097/nen.0b013e3182345e46>
- [66] National Institute on Aging. (2022, October 18). *What are the signs of alzheimer's disease?* National Institute on Aging; National Institute on Aging. <https://www.nia.nih.gov/health/what-are-signs-alzheimers-disease>
- [67] Alzheimer's Association. (2022). *Stages of Alzheimer's*. Alzheimer's Disease and Dementia; Alzheimer's Association. <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/stages>

- [68] ADI - Risk factors and risk reduction. (n.d.). Alzheimer's Disease International. <https://www.alzint.org/about/risk-factors-risk-reduction/>
- [69] Zhang, X.-X. ., Tian, Y., Wang, Z.-T. ., Ma, Y.-H. ., Tan, L., & Yu, J.-T. . (2021). The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 8(8), 1–9. <https://doi.org/10.14283/jpad.2021.15>
- [70] NHS. (2021, July 5). Causes - Alzheimer's Disease. NHS; NHS. <https://www.nhs.uk/conditions/alzheimers-disease/causes/>
- [71] Guardia de Souza e Silva, T., do Val de Paulo, M. E. F., da Silva, J. R. M., da Silva Alves, A., Britto, L. R. G., Xavier, G. F., & Lopes Sandoval, M. R. (2020). Oral treatment with royal jelly improves memory and presents neuroprotective effects on icv-STZ rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Heliyon*, 6(2), e03281. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03281>
- [72] Gong, Y., Luo, H., Li, Z., Feng, Y., Liu, Z., & Chang, J. (2023). Metabolic Profile of Alzheimer's Disease: Is 10-Hydroxy-2-decenoic Acid a Pertinent Metabolic Adjuster? *Metabolites*, 13(8), 954. <https://doi.org/10.3390/metabo13080954>
- [73] Fahed, G., Aoun, L., Bou Zerdan, M., Allam, S., Bou Zerdan, M., Bouferraa, Y., & Assi, H. I. (2022). Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 786. <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>
- [74] Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1–21. <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
- [75] Ahmad, S., Campos, M. G., Fratini, F., Altaye, S. Z., & Li, J. (2020). New Insights into the Biological and Pharmaceutical Properties of Royal Jelly. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 382. <https://doi.org/10.3390/ijms21020382>
- [76] Guo, J., Wang, Z., Chen, Y., Cao, J., Tian, W., Ma, B., & Dong, Y. (2021). Active components and biological functions of royal jelly. *Journal of Functional Foods*, 82, 104514. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104514>
- [77] Botezan, S., Baci, G.-M., Bagameri, L., Paşca, C., & Dezmirean, D. S. (2023). Current Status of the Bioactive Properties of Royal Jelly: A Comprehensive Review with a Focus on Its Anticancer, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Effects. *Molecules*, 28(3), 1510. <https://doi.org/10.3390/molecules28031510>
- [78] Kohno, K., Okamoto, I., Sano, O., Arai, N., Iwaki, K., Ikeda, M., & Kurimoto, M. (2004). Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68(1), 138–145. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.138>

- [79] Nguyen, T. M. D. (2020). Adiponectin: Role in Physiology and Pathophysiology. *International Journal of Preventive Medicine*, 11. https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_193_20
- [80] Martinello, M., & Mutinelli, F. (2021). Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. *Antioxidants*, 10(1), 71. <https://doi.org/10.3390/antiox10010071>
- [81] Liu, J.-R., Yang, Y.-C., Shi, L.-S., & Peng, C.-C. (2008). Antioxidant Properties of Royal Jelly Associated with Larval Age and Time of Harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23), 11447–11452. <https://doi.org/10.1021/jf802494e>
- [82] Karsten Münstedt, M Bargello, & Hauenschild, A. (2009). Royal Jelly Reduces the Serum Glucose Levels in Healthy Subjects. *Journal of Medicinal Food*, 12(5), 1170–1172. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0289>
- [83] Ali, A. M., & Kunugi, H. (2020). Royal Jelly as an Intelligent Anti-Aging Agent—A Focus on Cognitive Aging and Alzheimer's Disease: A Review. *Antioxidants*, 9(10), 937. <https://doi.org/10.3390/antiox9100937>
- [84] HASHIMOTO, M., KANDA, M., IKENO, K., HAYASHI, Y., NAKAMURA, T., OGAWA, Y., FUKUMITSU, H., NOMOTO, H., & FURUKAWA, S. (2005). Oral Administration of Royal Jelly Facilitates mRNA Expression of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor and Neurofilament H in the Hippocampus of the Adult Mouse Brain. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69(4), 800–805. <https://doi.org/10.1271/bbb.69.800>
- [85] Yuan, A., Rao, M. V., Veeranna, & Nixon, R. A. (2017). Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(4), a018309. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018309>
- [86] Safoura Raoufi, Zahra Salavati, Alireza Komaki, Shahidi, S., & Zarei, M. (2023). Royal jelly improves learning and memory deficits in an amyloid β -induced model of Alzheimer's disease in male rats: Involvement of oxidative stress. *Metabolic Brain Disease*, 38(4), 1239–1248. <https://doi.org/10.1007/s11011-023-01168-9>
- [87] You, M., Miao, Z., Tian, J., & Hu, F. (2019). Trans-10-hydroxy-2-decenoic acid protects against LPS-induced neuroinflammation through FOXO1-mediated activation of autophagy. *European Journal of Nutrition*, 59(7), 2875–2892. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-02128-9>
- [88] Martinho Jr, E., Michelon, L., Ayres, A. M., Scazufca, M., Menezes, P. R., Schaufelberger, M. S., Murray, R. M., Rushe, T. M., Vallada, H., & Busatto Filho, G. (2012). Polimorfismo do gene do BDNF, cognição e gravidade dos sintomas em uma amostra de base populacional brasileira de indivíduos apresentando o primeiro episódio psicótico. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 34, s219–s225. <https://doi.org/10.1016/j.rbp.2012.06.004>

[89] Henn, A. (2009). The suitability of BV2 cells as alternative model system for primary microglia cultures or for animal experiments examining brain inflammation. *ALTEX*, 83–94. <https://doi.org/10.14573/altex.2009.2.83>

[90] Collazo, N., Carpena, M., Nuñez-Estevez, B., Otero, P., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Health Promoting Properties of Bee Royal Jelly: Food of the Queens. *Nutrients*, 13(2), 543. <https://doi.org/10.3390/nu13020543>

Anexos

Anexo A: Comparison of the results obtained before and after the implementation of the screens

Before screen implementation

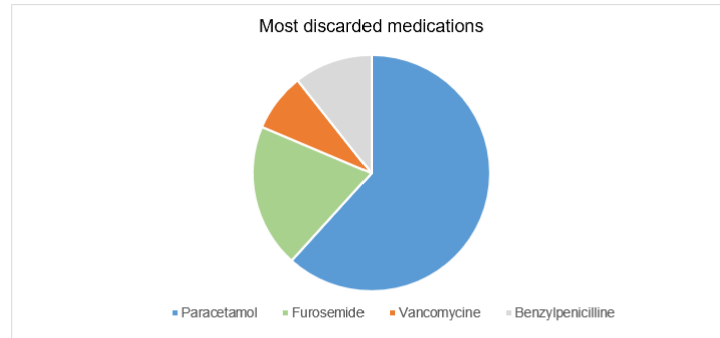


Fig 1. Most discarded medications before screens implementation

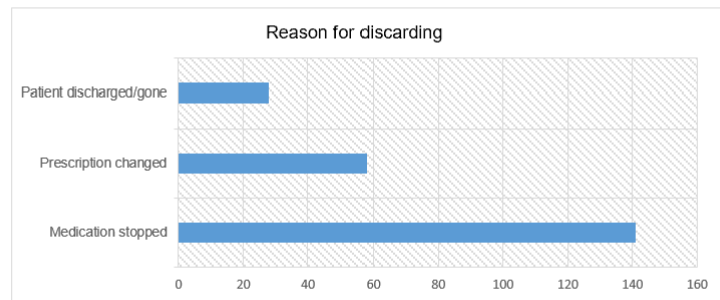


Fig 2. Primary reason for discarding IV medications before screens implementation

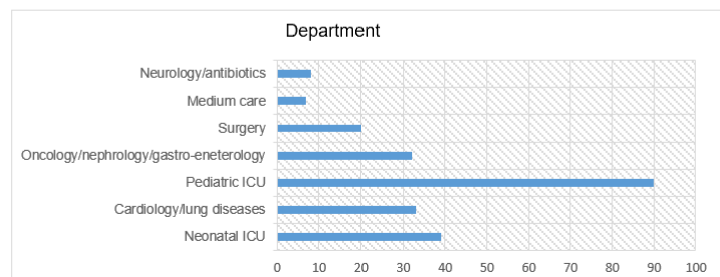


Fig 3. Department responsible for the majority of waste before screens implementation

After screen implementation

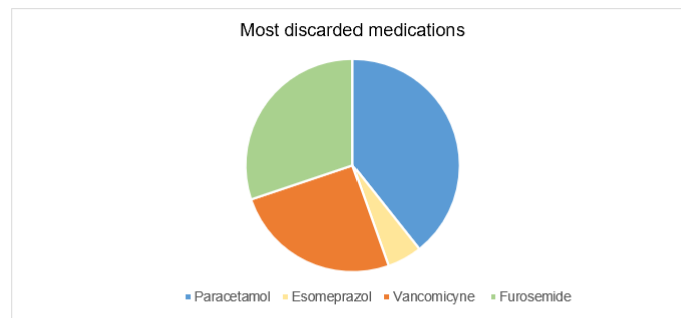


Fig 4. Most discarded medications after screens implementation

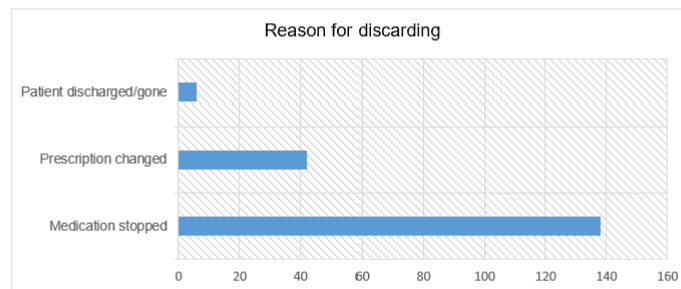


Fig 5. Primary reason for discarding IV medications after screens implementation

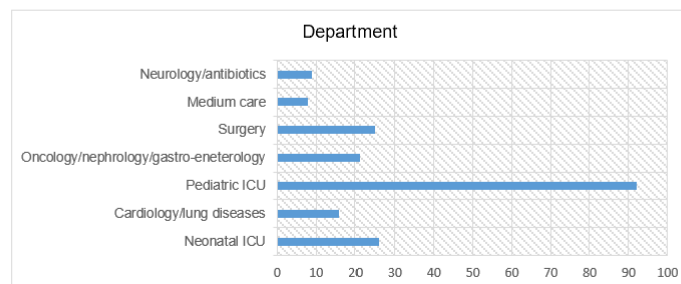


Fig 6. Department responsible for the majority of waste after screens implementation

Anexo B: Assessing the Feasibility of Implementing the Two-Batch per Day Procedure in Erasmus MC: Barriers and Benefits

Introduction

The development of the two-batch per day process is a well-planned initiative aimed at reducing the amount of medication waste at the Sophia's Children Hospital, in addition to the installation of the screens. Increasing batch frequency can minimize the time between preparation and patient administration, creating a more just-in-time process.¹ Additionally, splitting the compounding into two batches in a day decreases the amount of medication prepared per batch, leading to a reduced potential for waste and a lower staff workload.^{1, 2, 3} However, even though the two-batch process would reduce the time technicians spend preparing medication per shift, it would still be physically and mentally exhausting if only one technician were responsible for making both batches. The lack of back support on the chairs requires constant effort to maintain proper posture which can be challenging when leaning towards the workbench, for properly overview of the process. This can result in harmful effects on the back and posture, besides being unpractical. The recommended solution to address these issues is to rotate the person responsible for the compounding in between batches, as a way to prevent the technicians from being solely responsible for the compounding task throughout the day, thereby alleviating the physical and mental stress on them.

Despite being a noteworthy solution, the implementation of a two-batch per day protocol also has its drawbacks. At present, physician's rounds occur, daily, at 11:00 am, after the compounding process by technicians has already begun. On that account, if the doctor decides to change a prescription or discharge a patient, all medication prepared before need to be disregarded and wasted, which means that, even with the implementation of the two-batch process, it's inevitable that there will be medication waste.

Nevertheless, by dividing the compounding into two batch instead of one, the amount of discarded medication is expected to decrease compared to the current protocol. Another aspect taking into consideration is the need for two separate periods of medication delivery and administration, which requires the use of two specialized distribution carts and twice the amount of staff (technicians for the distribution and nurses for the administration) compared with the current one batch protocol, as everything must be done doubly.

It is believed, however, that the benefits of this protocol on the hospital's sustainability, work burden reduction, waste reduction and cost savings outweigh the weakness. Therefore, conducting a survey was deemed necessary to gather the opinion of pharmacy technicians on the effectiveness and practicality of the two-batch per day protocol.

Methods

POPULATION

The target population were pharmacy technicians involved in the intravenous medication compounding at the workbenches and preparation of delivery cards for administration by the nurses. The survey was handed out manually in the morning and retrieved latter in the afternoon.

SURVEY DEVELOPMENT

The survey was based on the Measurement Instrument for Determinants of Innovations (MIDI) developed by Fleuren *et al.* (2014). The majority of the items consisted of response scales that ranged from 1 (totally agree) to 5 (totally disagree). Additionally, there were some yes or no questions, as well as open-ended questions designed to gather more detailed opinions from the technicians. According to Fleuren *et al.* (2014) a negative response rate of "totally disagree/disagree" higher than 20% indicates a barrier to the implementation of a new procedure, while a positive response rate of "totally agree/agree" above 80% indicates a facilitator.

Results

RESPONDENT'S CHARACTERISTICS

Among the pharmacy technicians working that day, only 8 of them had the opportunity to complete the survey. All of the respondents were female, with the majority being between 36 and 45 years old and having worked at the hospital for less than 5 years. None of them reported having worked in other hospitals before (table 1).

Table 1. Demographic characteristics

Demographic characteristics	% (n)
Age (years)	
<35	25 (2)
36-45	62,5 (5)
46-55	12,5 (1)
>55	0 (0)
Sex	
Men	0 (0)
Women	100 (8)
Other	0 (0)
Experience (years)	
<5	62,5 (5)
5-15 years	12,5 (1)
>15	25 (2)
Experience in previous hospitals	
yes	0 (0)
no	100 (8)

DISADVANTAGES OF THE TWO-BATCH PER DAY PROCEDURE

The most mentioned disadvantage, according to the responders, was “increased staff workload”, followed by “takes too much time” and “additional pharmacy technicians and nurses”, as demonstrated in table 2. Two of the respondents had additional concerns to share, stating that they found the proposed two-batch per day protocol to be chaotic as it did not allow them to complete all of their current tasks.

Table 2. Disadvantages of the two-batch per day procedure

Disadvantages	% (n)
additional pharmacy technicians and nurses	62.5 (5)
disrupts hospital's functioning and the routine staff are used to	0
increases staff workload	75 (6)
increases medication errors	12.5 (1)
takes too much time	62.5 (5)
two moments for compounding, delivery and administration	12.5 (1)
additional space and resources to store both batches, until delivery and administration	50 (4)
preparation of two different delivery carts	50 (4)
confusion for the nurses, who have to handle separate carts for administration	37.5 (3)
possible need to separate the compounding of medication that use the same solvent/diluent	0

ADVANTAGES OF THE TWO-BATCH PER DAY PROCEDURE

The most mentioned advantage, according to the responders, was “reduces medication waste”, followed by “decreases the total amount of medication compounded per batch” and “reduces the possibility of excess medication”, as demonstrated in table 3. One of the respondents did not have any advantages to mention.

Table 3. Advantages of the two-batch per day procedure

Advantages	% (n)
improves the efficiency of pharmacy operations	25 (2)
improves job satisfaction among staff	0
improves patient outcomes and safety	12.5 (1)
decreases the total amount of medication compounded per batch	62.5 (5)
reduces the possibility of excess medication	62.5 (5)
reduces medication waste	87.5 (7)
decreases the overall expenses for the hospital	12.5 (1)
leads to a better communication between staff	0

decreases pollution	12.5 (1)
leads to a better communication between staff	12.5 (1)

TESTING EFFECTIVENESS AND PRACTICABILITY

Half of the participants (n=4, 50%) expressed their opinion that conducting a trial to evaluate the effectiveness and feasibility of the protocol was not a good idea. On the other hand, a few participants believed that the protocol could be beneficial for the hospital (n=3, 37.5%). One participant did not respond to the question as they were unsure.

PREFERRED SCHEDULE FOR THE TWO-BATCH PER DAY PROCEDURE

The survey included a question where responders were asked to choose between two possible schedules, and the most popular option selected was number 1. In this option, the first batch involved starting the preparation of IV medications in the morning at 08:00 and delivering them to a nurse at 14:00, covering the patient night from 00:00 to 11:59 am. The second batch involved starting the preparation at 13:00, with delivery scheduled for 17:30, and covering administration time from 12:00 to 23:59 for the following day.

MIDI STATEMENTS

Based on the results (table 4), there are two identified barriers related to the implementation of the protocol: the training provided to the pharmacy technicians and the availability of hospital resources and facilities. The technicians expressed concerns about not having enough training to effectively implement the protocol and the hospital lacking the necessary resources for making it a success. No facilitators were identified.

Table 4. Determinants for implementing the two-batch per day procedure

MIDI statements	Two-batch per day procedure		
	Negative (%)	Neutral (%)	Positive (%)
1. The explanation of the two-batch per day procedure is clear, and I understand my responsibilities in the process.	12,25 (1)	37,5 (3)	50 (4)
2. The implementation of the two-batch per day procedure is feasible and it fits well with how I usually work.	12,25 (1)	37,5 (3)	50 (4)
3. I have enough training to compound medications according to the two-batch per day procedure.	37,5 (3)	12,25 (1)	50 (4)
4. The hospital has sufficient resources and facilities required for the successful implementation of the two-batch per day procedure.	25 (2)	12,25 (1)	62,5 (5)
5. I can see clear outcomes with the implementation of the two-batch per day protocol.	0	50 (4)	50 (4)

Discussion

Although it is reasonable to assume that the survey sample may be biased as all respondents were female, and the majority of them aged between 36-45 years old, it is important to note that even with a larger sample size including all current technicians at the hospital (approximately 20), the majority of responders would still be women aged 36-45 years old. Despite being a small-scale study with limited follow-up, it provided valuable insights into the opinions of the technicians on the subject, as they are the ones directly affected by any changes in the medication compounding process. Interestingly, the technicians who had been working at the hospital for a longer duration were the ones who responded negatively to the idea of conducting a trial to verify the effectiveness of the procedure. On the other hand, those who had been working at the hospital for less than 5 years perceived it as an asset. This could be attributed to the greater familiarity of the experienced technicians with their daily work routine, and their belief that disrupting it with a new procedure would be difficult to adjust to without proper training and practice.

The current process for compounding involves a one-batch per day procedure, where the pharmacy technicians prepare all IV medications 24 hours in advance. Research has demonstrated that increasing the batching frequency can lead to noteworthy effects on staff workload and the quantity of discarded medication. However, the responses from the participants suggest that not all of them agreed with these findings. Some of them expressed the belief that the proposed two-batch protocol would be more time-consuming and demanding than the current one-batch process. They also considered it too complicated and disruptive to implement, potentially affecting the overall functioning of the hospital. These concerns may be due to a perceived lack of training and resources for successfully implementing the protocol, pointed previously as barriers of the process. Based on the results presented in Table 4 it is evident that although there were a considerable number of positive responses, they were not enough to facilitate the implementation of the practice. This implies that the proposed procedure may not be as feasible as initially thought, and there are potential barriers that need to be addressed. To overcome these barriers, some possible solutions include hiring additional staff, improving resource allocation, and addressing concerns and feedback from the technicians. Nonetheless, it is crucial to recognize that hospitals operate differently within their facilities, and while a two-batch per day protocol may offer substantial benefits for some, it may not be equally advantageous for others.

Conclusion

The implementation of the two-batch per day procedure is hindered by two significant barriers, such as the inadequate training provided to pharmacy technicians and the limited availability of hospital resources and facilities. These barriers suggest that the current situation is not suitable for the implementation of the process within the hospital. However, with further research and better explanation of the procedure to those directly impacted by it, as well as the implementation of screens, the two-batch per day protocol could potentially serve as a solution for waste reduction in the Erasmus MC hospital in the future.

References

- [1] Tilson, V., Dobson, G., Haas, C. E., & Tilson, D. (2014). Mathematical Modeling to Reduce Waste of Compounded Sterile Products in Hospital Pharmacies. *Hospital Pharmacy*, 49(7), 616–627. <https://doi.org/10.1310/hpj4907-616>
- [2] Toerper, M. F., Veltri, M. A., Hamrock, E., Mollenkopf, N. L., Holt, K., & Levin, S. (2014). Medication Waste Reduction in Pediatric Pharmacy Batch Processes. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics : JPPT*, 19(2), 111–117. <https://doi.org/10.5863/1551-6776-19.2.111>
- [3] Alrashed, A. A., Ali Mohzari, Y., & Asdaq, S. M. B. (2021). Evaluation and implementation of strategies to reduce the intravenous admixture returns. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 770–774. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.009>

Survey to pharmacy technicians

Two batch-per day procedure

The development of the two-batch per day process is a well-planned initiative aimed at reducing the amount of medication waste at the Sophia Children's Hospital, in addition to the installation of the screens. Increasing batch frequency can minimize the time between preparation and patient administration, creating a more just-in-time process. Splitting the compounding into two batches in a day decreases the amount of medication prepared per batch, and reduces the potential for waste, as well as the time spend for the compounding operation. However, even though the two-batch process would reduce the time technicians spend preparing medication per shift, it would still be physically and mentally exhausting if only one technician were responsible for making both batches. The recommended solution is to rotate the person responsible for the compounding in between batches.

Background information

1. What is your age?

☐ <35 ☐ 36-45 ☐ 46-55 ☐ >55

2. What is your gender?

☐ Male ☐ Female ☐ Other

3. How long have you been working in Erasmus MC (years)?

☐ <5 ☐ 5-15 ☐ >15

4. Do you have experience in previous hospitals?

☐ yes ☐ no

4. a) If yes, how many years of experience?

☐ <5 ☐ 5-15 ☐ >15

4. b) If yes, did the previous hospital have a two-batch per day procedure for the compounding of medication?

☐ yes ☐ no

Questions about the implementation of the two-batch per day procedure

Response scale: (1) totally disagree, (2) disagree, (3) neither agree nor disagree, (4) agree, (5) totally agree

5. The explanation of the two-batch per day procedure is clear, and I understand my responsibilities in the process

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5

6. The implementation of the two-batch per day procedure is feasible and it fits well with how I usually work

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5

7. I have enough training to compound medications according to the two-batch per day procedure

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5

8. The hospital has sufficient resources and facilities required for the successful implementation of the two-batch per day procedure

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5

9. I can see clear outcomes with the implementation of the two-batch per day protocol

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5

10. What do you think the disadvantages of the two-batch per day procedure might be?

- ☐ additional pharmacy technicians and nurses
- ☐ disrupts the hospital's functioning and the routine staff are used to
- ☐ increases staff workload

- ☐ increases medication errors
- ☐ takes too much time
- ☐ two distinct moments for compounding, delivery and administration
- ☐ additional space and resources to store both batches, until delivery and administration
- ☐ preparation of two different delivery carts
- ☐ confusion for the nurses, who have to handle separate carts for administration
- ☐ possible need to separate the compounding of medication that use the same solvent/diluent

10. a) Do you have additional disadvantages you want to point out?

- ☐ yes ☐ no

10. b) If yes, which one/s?

11. What do you think the advantages of the two-batch per day procedure might be?

- ☐ improves the efficiency of pharmacy operations
- ☐ improves job satisfaction among staff
- ☐ improves patient outcomes and safety
- ☐ decreases the total amount of medication compounded per batch
- ☐ reduces the possibility of excess medication
- ☐ reduces medication waste
- ☐ decreases the overall expenses for the hospital
- ☐ improves hospital's sustainability
- ☐ decreases pollution
- ☐ leads to a better communication between staff

11. a) Do you have additional advantages you want to point out?

- ☐ yes ☐ no

11. b) If yes, which one/s?

12. Do you think is a good idea to conduct a trial of the two-batch per day procedure to determine its effectiveness and practicability?

☐ yes ☐ no

13. What do you think is the best schedule for the procedure?

☐ 1 ☐ 2

- 1) The preparation of IV medications for the first batch begins in the morning at 08:00, and is scheduled to be delivered by a nurse at 14:00, covering the patient night from 00:00 to 11:59 am. On the other hand, for the second batch, preparation begins at 13:00, with delivery scheduled for 17:30, and administration time covered from 12:00 to 23:59 for the following day.

Batch No	Preparation time	Delivery time	Administration time
1	08:00-12:00	14:00	00:00-11:59
2	13:00-17:00	17:30	12:00-23:59

- 2) The preparation of IV medications for the first batch begins in the morning at 08:00, and is scheduled to be delivered by a nurse at 14:00, covering the patient administration from 16:00 to 3:59 am. On the other hand, for the second batch, preparation begins at 13:00, with delivery scheduled for 17:30, and administration time covered from 03:59 to 15:59.

Batch No	Preparation time	Delivery time	Administration time
1	08:00-12:00	14:00	16:00-3:59
2	13:00-17:00	17:30	4:00-15:59

13. a) Do you have any more schedule suggestions to add?

☐ yes ☐ no

Batch No	Preparation time	Delivery time	Administration time
1			
2			

Thank you for your time! 😊 😊

Anexo C: Fentanyl nasal administration flyer

INTRANASAL FENTANYL ADMINISTRATION

USING THE MUCOSAL ATOMIZATION DEVICE (MAD)



Erasmus MC
Leefing



- 1 Remove the cover from the fentanyl vial and clean the vial with alcohol letting it dry.
- 2 Safely connect the needle to the 1 or 3 mL syringe and remove the needle cap
- 3 Insert the needle into the fentanyl vial and aspirate the proper dose, accordingly to the child's weight plus an extra 0.1mL to account for the empty space
- 4 Place the cap on the needle, remove the needle from the syringe and discard it in a sharps container
- 5 Attach the MAD to the end of the syringe
- 6 Make sure the child is seated in a 45 degree angle or with their head to one side, during the administration
- 7 Carefully hold the child's head and place the tip of the MAD against the nostril, slowly compressing the syringe plunger into the nostril, aiming toward the top of the ear
- 8 If the doseage exceeds 1mL, repeat step 7 and deliver the remaining medication into the other nostril

INTRANASAL FENTANYL ADMINISTRATION

USING THE MAD DEVICE

Erasmus MC
Leefing

1



2



3



4



5



6



7



INTRANASAL FENTANYL ADMINISTRATION

DOSAGE PER WEIGHT TABLE

Weight	Dose	Volume fentanyl 50 µg/mL
10 to 15 Kg	20 µg	0.4mL
15 to 20 Kg	30 µg	0.6mL
20 to 25 Kg	40 µg	0.8mL
25 to 30 Kg	50 µg	1mL
30 to 35 Kg	60 µg	1.2mL (divided by 2 nostrils)
35 to 40 Kg	70 µg	1.6mL (divided by 2 nostrils)
40 to 45 Kg	80 µg	1.8mL (divided by 2 nostrils)
45 to 50 Kg	90 µg	1.8mL (divided by 2 nostrils)
>50Kg	100 µg	2mL (divided by 2 nostrils)



Maximum concentration: 2.0 µg/mL, 1 mL per nostril

Anexo D: Solução Alcoólica de Ácido Bórico à saturação

Medicamentos usados em Dermatologia		
A.	II.	1.

Solução Alcoólica de Ácido Bórico à Saturação (FGP A.II.1.)

Forma Farmacêutica: Solução

Data de preparação: ____ 19/06/2023 ____

Número do lote: _04/3325_____

Quantidade a preparar: ____ 30mL ____

Matérias-primas	Nº do Lote	Farmacopeia	Quantidade para 100g	Quantidade Calculada	Quantidade Pesada
Ácido Bórico	001/038/8	FPVI	5,0 g	1,5 g	1,51332
Álcool a 70% (V/V)	22/1107	FPVI	q.b.p 100 ml	q.b.p 30 ml	q.b.p 30 ml

Preparação

Verificar o estado de limpeza do material a utilizar durante o procedimento.
Numa proveta rolhada colocar álcool a 70% (V/V) correspondente a $\frac{3}{4}$ da quantidade total da solução a preparar.
Pesar o ácido bórico e ir adicionando, aos poucos, à proveta com o álcool a 70% (V/V), agitando fortemente durante 20 segundos após cada adição.
No final da adição do ácido bórico, completar o volume da proveta com álcool a 70% (V/V) e agitar durante 20 segundos.
Deixar a proveta repousar durante 1 hora, agitando-a de 15 em 15 minutos, durante 20 segundos.
Filtrar a solução obtida.
Limpar o material.
Deixar secar.

Descrição do medicamento

Solução límpida e incolor que pode apresentar um ligeiro sedimento.

Embalagem

Embalar a solução preparada em frasco de vidro âmbar, tipo III (FPVI), devidamente rotulado.
--

Rotulagem

Farmácia Peninsular, Av. da República 685, 4450-242 Matosinhos, 22 200 0707
Diretor Técnico: Dra. Ana Loureiro
[Médico prescritor]
[Utente]
Solução Alcoólica de Ácido Bórico à Saturação (FGP A.11.1.)
100 ml de solução saturada contém 4 g de ácido bórico
Data de preparação: 19/06/2023
Prazo de utilização: até 19/08/2023
Lote: 001/038/8
Contém iodeto de potássio, água purificada e álcool a 70% (V/V)
Conservar à temperatura ambiente, num local seco e fresco, em frasco bem fechado
Medicamento para aplicação cutânea
Uso externo
Não ingerir
Manter fora do alcance das crianças

Ensaio de verificação

Ensaio	Verificação	Resultado
1. Características organoléticas do produto		
1.1 Aspeto	Solução límpida e transparente	Conforme
1.2 Cor	Solução incolor	Conforme
1.3 Quantidade	30 mL (±5%)	Conforme

Prazo de utilização e condições de conservação

Se conservada em local seco e fresco, em frasco de vidro âmbar, tipo III (FPVI), bem fechado, a estabilidade da solução é garantida durante 2 meses.

Uso terapêutico

Tratamento tópico de otites externas e, em certos casos, nas otites médias e ouvido já operado.

Posologia e modo de administração

Aplicar três ou quatro gotas no ouvido afetado e manter a cabeça inclinada durante cerca de cinco minutos. O tratamento deve ser repetido a cada duas a três horas durante sete a dez dias.

Contraindicações e precauções

A solução alcoólica de Ácido Bórico está contraindicada em crianças com menos de três anos de idade e indivíduos com hipersensibilidade ao ácido bórico. A sua administração não é recomendada em indivíduos que apresentem o tímpano perfurado, ou que tenham feridas visíveis à volta da zona do ouvido.

Anexo E: Testes de gravidez disponíveis na farmácia¹

Teste de gravidez Clearblue ® Digital Ultra Antecipado 	É um teste sensível, capaz de detetar uma concentração de hCG de 10 mIU/ml. É possível a testagem até seis dias antes da falta do período menstrual. Contudo, um resultado negativo nesta fase não garante a ausência de gravidez. Se o teste for realizado a partir do dia previsto para a menstruação e a utilizadora seguir corretamente as instruções de uso, a sensibilidade conseguida é igual ou superior a 99%. A vareta apresenta uma ponta suficientemente larga para facilitar a colheita da amostra e uma luz intermitente que avisa quando já foi recolhida urina suficiente. Assim que for iniciada a testagem, uma contagem decrescente aparecerá no ecrã para confirmar o seu correto funcionamento. Resultados facilmente compreensíveis: aparecimento de um resultado digital positivo ou negativo através dos sinais "+ ou -" respetivamente.
Teste de gravidez Clearblue ® Ultra Antecipado 	Pode ser realizado até seis dias antes da falta do período menstrual, contudo a obtenção de um resultado negativo não garante a ausência de gravidez. Uma precisão superior a 99% dos resultados apenas é garantida repetindo o teste após o dia esperado para a menstruação. Apresenta uma vareta curva e longa, com uma ponta larga que muda de cor em contacto com a amostra de urina. Aparecimento de duas tiras em caso de resultado positivo. Apenas uma (controlo) quando o resultado é negativo. 
Teste de gravidez Clearblue ® Resultados Rápidos 	Apresenta resultados com uma sensibilidade de 99% a partir do dia esperado para a menstruação. Fácil de manusear. Apresenta uma vareta ligeiramente curva e longa, que muda de cor de branco para rosa para informar que a amostragem foi feita corretamente. Aparecimento dos resultados negativo ("-") ou positivo ("+") após um minuto 
Teste de Gravidez Clearblue ® com Indicador de Semanas 	Para além de detetar a presença da hormona hCG com uma sensibilidade superior a 99% a partir do dia previsto para a menstruação, também permite identificar, com uma precisão de 93%, há quanto ocorreu a concepção. ✓ 1-2 semanas ✓ 2-3 semanas ✓ + 3 semanas Pode ser realizado até cinco dias antes da falta do período menstrual, contudo a sensibilidade do teste decresce para 68%. Aparecimento dos resultados positivo ou negativo, em formato digital, através das palavras "grávida" ou "não grávida", respetivamente, com indicação das semanas. 

[1] Pregnancy Tests: Digital Tests, Sticks and Kits - *Clearblue*. (2019, April 8). www.clearblue.com.
<https://www.clearblue.com/pregnancy-tests>

Anexo F: Panfleto a ser cedido aos utentes da farmácia

POSSO ESTAR GRÁVIDA, E AGORA?

ACONSELHAMENTO FARMACÊUTICO



DICAS PARA O MANUSEAMENTO DE UM TESTE DE GRAVIDEZ

Os testes de gravidez detetam a **gonadotrofina coriônica (hCG)**, uma hormona presente nas células da placenta com funções importantes no desenvolvimento embrionário.

QUAL O MOMENTO IDEAL PARA A REALIZAÇÃO DE UM TESTE DE GRAVIDEZ?

A maioria dos testes disponíveis asseguram uma sensibilidade superior a 99% quando realizados a partir do **dia esperado para a menstruação**.

Mesmo os testes de gravidez **antecipados** apresentam um grau de imprecisão associado, o que significa que um resultado negativo nos dias que antecedem a data prevista para a menstruação não exclui definitivamente a possibilidade de gravidez.



Nestes casos é aconselhável realizar-se uma segunda testagem a partir do momento em que **a menstruação estiver atrasada**.

EXEMPLO PRÁTICO

Nome: B	Medicação: não toma qualquer tipo de medicação
Idade: 26 anos	
Género: feminino	Ciclo menstrual: regular, de 28 dias



A B acompanha o seu ciclo de forma cuidadosa e sabe que a menstruação está prevista para dia **25 de Agosto**, de acordo com a aplicação instalada no telemóvel.

Devido a alguns sintomas que tem presenciado na última semana, como enjoo repentino e dor mamária, decide fazer um teste de gravidez ultra antecipado (5 dias antes da data prevista para o início da menstruação), dia **20 de Agosto**, por não aguentar o tempo de espera. O resultado é negativo.

Como sabe que os resultados podem não ser 100% fiáveis nesta fase inicial decide esperar até dia 25 de Agosto para confirmar se a menstruação está em falha.

De facto, no dia 25 ainda não estava menstruada e, portanto, preocupada e esperançosa, decide esperar mais uns dias.

No dia **28 de Agosto**, ainda sem a menstruação, toma a decisão de realizar uma segunda testagem. O resultado é positivo.



No primeiro teste de gravidez a concentração de hCG na urina foi demasiado baixa para ser detetada. O segundo teste, realizado após o atraso menstrual, foi mais preciso e confirmou os sintomas.





ALGUMAS CONSIDERAÇÕES

Para resultados mais sensíveis, é preferível fazer-se a colheita da **primeira urina da manhã**, quando há maior concentração da hCG na urina.

Para evitar interferências nos resultados (possível diluição da amostra), é aconselhável a ingestão de **poucos líquidos** antes da execução do teste.

A partir do momento que o invólucro do teste é retirado, é recomendado fazer-se a testagem **de imediato**.

O manuseamento da vareta de teste faz-se sempre com a **ponta virada para baixo**.

Após o procedimento de amostragem (através do jato de urina ou utilizando uma amostra de urina colhida) a tampa do teste deve ser novamente colocada e a vareta deve ser posicionada **horizontalmente**.

Aconselha-se o **cumprimento do período de tempo estipulado** nas instruções. É importante não examinar o resultado após o tempo recomendado para evitar a ocorrência de resultados falsos.

POTENCIAIS FATORES QUE LEVAM A RESULTADOS FALSOS

FALSOS-POSITIVOS

Medicamentos **indutores da fertilidade** que sejam constituídos pela hormona hCG, como o Ovitrelle® ou o Pregnyl®.

Neoplasias malignas raras, como o **coriocarcinoma** (que envolve as células placentárias e da membrana coriônica) ou a **neoplasia do ovário** que podem levar a concentrações mais elevadas da hormona hCG.

Erros da utilizadora na interpretação dos resultados.

FALSOS-NEGATIVOS

Efeito de Hook:

Se o teste for realizado numa fase de gravidez avançada, as concentrações da hCG são consideravelmente mais elevadas.



Isto pode levar a uma **sobrecarga** nos mecanismos inerentes à testagem e impedir a obtenção de um resultado positivo.

Quando estamos presente situações como esta, a utilizadora **não acusa um resultado positivo no teste, mesmo estando grávida**.

FALSOS-NEGATIVOS

Urina diluída:

Por ingestão de muitos líquidos antes da testagem ou a realização da testagem no utra altura do dia sem ser de manhã.

Testagem demasiado cedo:

Quando a realização do teste de gravidez é feita numa fase precoce, as concentrações da hormona hCG podem não ser suficientemente elevadas para serem detetadas.

Erros da utilizadora na interpretação dos resultados.

**PARA MAIS INFORMAÇÕES
CONTACTE O SEU MÉDICO OU
FARMACÊUTICO**



Anexo G: Disponibilidade de fórmulas infantis na farmácia (formação interna)

Disponibilidade de fórmulas infantis na Farmácia: análise nutricional ^[1-7]

Fórmulas Infantis

Leites 1

Lactentes até aos 12 meses

Contêm predominantemente proteínas do soro de leite em detrimento da caseína

Apresentam um rácio caseína/proteínas do soro do leite **inferior a 1**, similar à observada no leite materno, o que implica uma melhor digestibilidade e menor carga renal

Baixo risco de desenvolvimento de alergias

Perfil de aminoácidos adequado para o correto desenvolvimento do lactente

Leites 2

Lactentes dos 6-12 meses

São enriquecidas em **proteína e ferro**

Existem **Leites 3** especificamente desenvolvidos para lactentes a partir dos 9 meses de idade

Apresentam uma composição semelhante aos leites 1, com níveis superiores dos minerais cálcio, fósforo e ferro

Apresentam um rácio caseína/proteína de soro de leite **superior a 1** e promovem um esvaziamento gástrico mais lento, levando a uma maior sensação de saciedade

Leites 3

Lactentes a partir dos 12 meses

Diferem do leite de vaca por possuírem uma menor concentração de proteínas e um maior valor de ferro, zinco e vitamina D

São, normalmente, aditivadas com pré- e pró-bióticos e nucleótidos

Nesta fase de desenvolvimento do bebé é aconselhável que estes leites representem cerca de 1/3 da alimentação do bebé, correspondendo a 300-500 ml de produtos lácteos por dia

Existem também leites 4 e 5 para bebés com mais de 12 e 24 meses, respetivamente

1

Leites Hidrolisados

Parcialmente hidrolisados ou hipoalergénicos (HA) com seroproteínas parcialmente hidrolisadas de forma a reduzir os elementos alergénicos. São destinados a lactentes com maior predisposição de desenvolverem alergias às proteínas do leite de vaca

Extensamente hidrolisados, compostos por péptidos suficientemente curtos, o que resulta numa alergenicidade reduzida, tornando-os ideais para crianças com diagnóstico de alergia à proteína do leite de vaca (APLV)

Leites Anti Regurgitação (AR)

Enriquecidos com **agentes espessantes** nutricionalmente inertes, como amido de trigo, amido de arroz, amido de batata ou sementes de alfarroba

Estes agentes tornam-se mais espessos quando em contacto com o pH ácido do estômago, aumentando a viscosidade do conteúdo gástrico e impedindo a sua regurgitação para a faringe e boca

Estas fórmulas devem ser utilizadas sob **orientação e supervisão** médica adequadas e não devem ser administradas durante um período prolongado

Não são adequadas para bebés saudáveis ou com regurgitação ligeira

Leites para Recém-nascidos de Pré-termo (PT) ou de Baixo-peso (BP)

Destinados a bebés que necessitam de suplementação ainda mais reforçada para a sua recuperação e desenvolvimento adequados

Enriquecidos, entre outras vitaminas e minerais, como o cálcio e o fósforo, com um maior teor **proteico e energético**

Apresentam maiores concentrações dos ácidos gordos DHA e ARA para um correto desenvolvimento cognitivo e imunológico

Apresentam um teor adequado de vitamina E que atua como um potente antioxidante biológico

Leites Especializados

Leites anticólicas (AC): apresentam um teor reduzido de lactose para atenuar a sua fermentação no cólon e aliviar os sintomas de flatulência e cólicas

Leites Anti obstipação (AO): apresentam um baixo teor de caseína e são enriquecidas com triglicéridos de cadeia média para acelerar o esvaziamento gástrico

Leites Antidiarreicos (AD): apresentam níveis elevados de proteínas e eletrólitos, juntamente com uma osmolaridade reduzida, para resolver os problemas relacionados com a diarreia

2

Leites sem lactose

Desenvolvidos para lactentes com **intolerância à lactose** ou **galactosemia** (incapacidade de hidrólise da lactose e utilização da galactose respetivamente)

Há a substituição da lactose por maltodextrose ou polímeros de glicose, com uma melhor digestibilidade

São também utilizadas em situações de **diarreia** ou de **gastroenterite aguda**, em que pode ocorrer uma intolerância temporária à lactose

Leites de Soja

Não contém lactose. Apresentam com uma mistura de açúcares que derivam da glucose

São normalmente suplementadas com metionina (aminoácido essencial), para além de taurina, L-carnitina, ferro e fósforo

Apesar da utilização generalizada destas fórmulas em casos de APVL, estudos recentes indicam que a soja é também um alérgeno frequente

Além disso, pode conter **fitatos**, que interferem com a absorção de certas vitaminas e minerais como o zinco, o ferro e o iodo e **fitoestrogénios** com o potencial de mimetizar e alterar as funções da hormona estradiol, podendo afetar os processos de crescimento e saúde futura

Devido a estas preocupações e à disponibilidade de fórmulas especificamente concebidas para gerir a alergia à APLV, os especialistas não aconselham a utilização de fórmulas à base de soja para gerir esta patologia

3

Análise Nutricional

Macronutrientes	Função		Observações
Proteínas	Derivadas do leite de vaca (Ex: caseína e proteínas do soro)	Apresentam propriedades gastrointestinais e imuno-moduladoras. São componentes estruturais das células e reguladores de reações metabólicas. ⁸	-
	Derivadas do leite de soja	Responsáveis pela síntese de várias hormonas, vitaminas e ácidos nucleicos. ²	
Lípidos	Ácido Araquidónico (ARA)	Ácidos gordos polinsaturados (LCPUFAs). Presentes nos tecidos do cérebro, coração, olho, músculo, vasos sanguíneos e células do sistema imune. Contribuem para o desenvolvimento e função cerebral, para além de promoverem o correto desenvolvimento da acuidade visual, psicomotor e sensorial. ^{4, 10}	O rácio de DHA para ARA nas fórmulas infantis é crucial para que o lactente consiga obter as concentrações ideais de ácidos gordos Ómega 3 e Ómega 6, respetivamente, no cérebro e parece ter consequências funcionais. A adição de ambos os LC-PUFAs às fórmulas infantis é, portanto, recomendada para igualar as concentrações circulantes de DHA e AA dos bebés amamentados. Estudos recentes demonstram o surgimento de resultados satisfatórios no desenvolvimento neurológico de crianças dos 3 aos 6 anos, quando a concentração de ARA é, pelo menos, igual à concentração de DHA (rácio 1:1). ^{2, 11}
	Ácido Docosa-hexaenóico (DHA)		

4

Hidratos de Carbono *	Lactose, maltose, sacarose, glucose	Os hidratos de carbono são fontes de energia essenciais para o crescimento normal do bebé, particularmente vitais para apoiar o desenvolvimento do cérebro e dos músculos. ^{4, 12} Desempenham um papel crucial na regulação da temperatura corporal e facilitam os processos de produção de insulina. ¹²	Monossacáridos
	Xarope de glucose		Provêm do amido por meio de uma hidrólise
	Xarope de glucose desidratado		
	Amido pré-cozido ou gelatinizado isentos de glúten		Polissacárido, constituído por glucose
	Inositol		É um poliol frequentemente utilizado como uma vitamina do complexo B (B8). Para além de ser uma fonte nutricional, o inositol é um constituinte importante do surfactante pulmonar, um conjunto de moléculas (lípidos, carboidratos, proteínas) presentes nos pulmões que suportam a respiração do ar. ¹³ Contribui para o normal funcionamento do SNC e intervém no metabolismo lipídico. ¹⁴
	Galacto-oligosacarídeos (GOS)		Os GOS, FOS, 2FL e 3GL são oligossacáridos classificados como pré-bióticos não digeríveis pelo lactente. Estimulam seletivamente o crescimento e a atividade de bifidobactérias, para além de outras bactérias benéficas constituintes da microbiota intestinal. Desempenham um papel significativo na manutenção e equilíbrio da flora intestinal, proporcionando benefícios positivos no bem-estar geral do bebé, ao melhorarem a absorção de nutrientes e contribuírem para o fortalecimento do sistema imunológico. ¹⁵
	Fruto-oligosacarídeos (FOS)		
	2'-fucosilactose (2FL)		
	3'-galactosilactose (3GL)		

5

Outras substâncias benéficas adicionadas às fórmulas infantis

Nucleótidos	adenina	Desempenham um papel crucial na maturação do trato gastrointestinal, para além de contribuírem para o desenvolvimento do sistema imunitário do lactente, a absorção de ferro e o metabolismo dos hidratos de carbono, lípidos, proteínas e ácidos nucleicos. ¹⁶	A investigação indicou que os animais que consomem dietas enriquecidas com nucleótidos apresentam um teor mais elevado de proteínas e de DNA nos seus tecidos intestinais. Além disso, estes animais apresentam vilosidades maiores e uma melhor recuperação após uma lesão intestinal. ¹⁶
	guanina		
	citosina		
	timina		
	uridina		
Aminoácidos não essenciais	L-Carnitina	Desempenha um papel essencial no processo de metabolismo das gorduras. Auxilia o transporte dos ácidos gordos de cadeia longa para as mitocôndrias, onde ocorre a β -oxidação. ¹⁷	É sintetizado no fígado e no rim, através da metionina e da lisina. Está presente no leite materno. Os recém-nascidos não têm capacidade para sintetizarem quantidades de carnitina suficientes para o seu correto desenvolvimento. ¹⁷
Aminoácidos essenciais	Taurina	Importante na absorção intestinal de gorduras, na função hepática, e no desenvolvimento auditivo e visual dos bebés. ¹⁸	É o aminoácido livre mais abundante do leite materno. ¹⁷

* A utilização de ingredientes com glúten é proibida

6

Micronutrientes	Função
Vitamina A	Essencial para a visão, particularmente a adaptação ao escuro, imunidade, crescimento ósseo e reprodução. Contribui para a manutenção da superfície da córnea e da esclerótica, para além de manter a integridade dos epitélios gastrointestinal, urinário e respiratório. ¹⁹
Vitamina E	Agente lipofílico antioxidante e anti-inflamatório, com função neuroprotetora. ¹⁹
Vitamina D	Contribui para o metabolismo do cálcio e do fósforo. Essencial para o desenvolvimento e saúde óssea e dentária. ¹⁹
Vitamina C (ácido ascórbico)	Agente lipossolúvel que contribui para a absorção do ferro, para além de ter propriedades antioxidantes e imunomoduladoras. ²⁰
Vitamina K	Desempenha um papel crucial na atividade de várias proteínas envolvidas em funções essenciais como a coagulação sanguínea, o metabolismo ósseo, a biologia vascular, o crescimento celular e a apoptose. ¹⁹
B1 (tiamina) **	Mantém a estabilidade das membranas neuronais durante o desenvolvimento e apoptose das células. É o cofator de determinadas enzimas envolvidas na produção de aminoácidos e neurotransmissores derivados da glucose provenientes do metabolismo dos hidratos de carbono e das gorduras. É ainda importante para o normal funcionamento do sistema cardiovascular, músculos esqueléticos, rins, fígado e sistema nervoso. ²¹

7

B2 (riboflavina) **	Envolvida no metabolismo de macronutrientes e na produção de outras vitaminas do complexo B. Está envolvida dos mecanismos de regeneração da glutatona, pelo que desempenha um papel como antioxidante para o bom funcionamento do sistema imunitário, para uma pele e cabelo saudáveis. ²²
B3 (niacina) **	Componente vital da coenzima 1 (NAD) e coenzima 2 (NADP), envolvidas na glicólise, síntese de ligações fosfato, metabolismo de proteínas, glicerol e ácidos gordos. ¹⁰
Vitamina B5 (ácido pantoténico) **	Precursor da síntese da enzima acetil-CoA, responsável pela obtenção de energia sob a forma de ATP. O ácido pantoténico está também presente no local ativo da proteína transportadora de acilo (ACP), um componente do complexo de síntese de ácidos gordos. ²³
Vitamina B6 (piridoxina) **	É uma coenzima que intervém no processo de biossíntese dos neurotransmissores GABA, dopamina e serotonina, sendo por isso necessária para o desenvolvimento perinatal normal do sistema nervoso central. ²⁴
Vitamina B7 (biotina) **	Cofator de determinadas carboxilases que catalisam etapas críticas no metabolismo dos ácidos gordos, da glucose e dos aminoácidos. Desempenha ainda um papel fundamental na modificação das histonas, na regulação genética e na sinalização celular. ²⁵
Vitamina B9 (ácido fólico) **	Necessário para a síntese de ácidos nucleicos e do grupo heme, bem como para o metabolismo das proteínas. ²²
Vitamina B12 (cianocobalamina) **	Para além de participar na síntese de nucleótidos, regula a expressão genética, já que está envolvida na metilação do DNA. É também necessária para a Eritropoiese e para os processos de mielinização dos neurónios. ²²

** Vitaminas do Complexo B

8

Micronutrientes	Função
Ferro	Síntese de hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigénio. Envolvido em reações oxidação-redução. Importante para as funções imunitária e cognitiva. ²⁶
Cálcio	Manutenção da estrutura óssea e dentária. Envolvido na contração muscular e condutividade nervosa. ²⁷
Fósforo	Manutenção da estrutura óssea e dentária. Constituinte do ATP, ácidos nucleicos e membranas celulares. ²⁷
Magnésio	Necessário para a atividade da Adenil-ciclase magnésio dependente, que é responsável pela libertação da hormona paratiroideia (importante para a regulação dos níveis de cálcio plasmáticos) e atividade óssea. ²⁷
Zinco	Constituinte de cerca de 10% das proteínas do proteoma humano, incluindo metaloproteínas, envolvidas nos processos de reparação, crescimento e diferenciação celular e imunidade nutricional. ²⁸
Iodo	Síntese das hormonas tiroideias, que, por sua vez, são necessárias para o desenvolvimento do cérebro, que ocorre durante a vida fetal e no início da vida pós-natal. ²⁹
Selénio	Função de defesa antioxidante, modulação da resposta inflamatória e envolvido na síntese das hormonas tiroideias. ³⁰
Manganésio	Envolvido no metabolismo dos aminoácidos, colesterol, glicose e hidratos de carbono; na eliminação de espécies reativas de oxigénio; na formação óssea; na reprodução; e na resposta imunitária. Desempenha um papel na coagulação do sangue e na hemóstase, em conjunto com a vitamina K. ³¹

9

Potássio	Envolvido na regulação da pressão osmótica, na transmissão de impulsos nervosos, na estruturação muscular, no equilíbrio ácido-base e no funcionamento da enzima Na ⁺ /K ⁺ ATPase. ³²
Sódio	O sódio da dieta é requerido em pequenas quantidades para a manutenção do volume sanguíneo circulante e da pressão arterial. É um fator de crescimento que promove a proliferação celular, a síntese proteica e aumento da massa celular. ³³

Disponibilidade de Leites Aptamil® na Farmácia ³⁴

Leites Regulares	Leites 1	Aptamil® 1	0-6 meses
		Aptamil® Profutura 1	0-6 meses
		Aptamil® Profutura Care 1	0-6 meses
	Leites 2	Aptamil® Nutri-Biotik 2	≥6 meses
		Aptamil® Profutura 2	6-12 meses
		Aptamil® Profutura Care 2	6-12 meses
		Aptamil® Nutri-Biotik 3	≥9 meses
	Leites 3	Aptamil® Nutri-Biotik 4	≥12 meses
		Aptamil® Profutura Júnior	≥12 meses
		Aptamil® Nutri-Biotik 5	≥24 meses
		Aptamil® Júnior 1L	12-36 meses
Leites para alergias	Alergia à proteína do leite de vaca	Aptamil® Pepti Syneo 1	0-6 meses
		Aptamil® Pepti Syneo 2	≥6 meses

10

		Aptamil® Pepti Syneo Júnior	≥6 meses
	Risco de alergia à proteína do leite de vaca	Aptamil® Prosyneo HA 1	0-6 meses
		Aptamil® Prosyneo HA 2	≥6 meses
Leites para o conforto digestivo	Diarreia e cólicas	Aptamil® Confort 1	0-6 meses
		Aptamil® Confort 2	≥6 meses
Leites sem lactose	Intolerância à lactose	Aptamil® Sem Lactose	0-6 meses
Leites Anti Regurgitação	Tratamento dietético da regurgitação	Aptamil® AR 1	0-6 meses
		Aptamil® AR 2	≥6 meses
Leites Especiais	Bebês prematuros ou de baixo peso à nascença	Aptamil® Fortificante do Leite Materno	Desde o nascimento, para lactentes prematuros com um peso <1800g
		Aptamil® Prematil	Desde o nascimento
		Aptamil® PDF	Para lactentes prematuros com peso ≥1800g após alta hospitalar. Até aos 3 meses de idade

11

Bibliografia

- [1] Falcão, M. C., & Zamberlan, P. (2021). Infant Formulas: A Long Story. *International Journal of Neurology*, 14(02), e61–e70. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1735640>
- [2] Rêgo, C. (2022). *LEITES E FÓRMULAS INFANTIS – Tratado de Clínica Pediátrica*. Leites E Fórmulas Infantis. <https://tratadoclinicapediatria.pt/i-volume/parte-xi-nutricao/leites-e-formulas-infantis/>
- [3] Phosanam, A., Chandrapala, J., Huppertz, T., Adhikari, B., & Zisu, B. (2021). In vitro digestion of infant formula model systems: Influence of casein to whey protein ratio. *International Dairy Journal*, 117, 105008. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105008>
- [4] da Costa, C. P., Melo, F. M., & Bell, V. (2021). Fórmulas Infantis: indicação, função e constituição. *Acta Portuguesa de Nutrição*, 27. <https://doi.org/10.21011/apn.2021.2704>
- [5] Agostoni, C., Axelsson, I., Goulet, O., Koletzko, B., Michaelsen, K. F., Puntis, J., Rieu, D., Rigo, J., Shamir, R., Szajewska, H., & Turck, D. (2006). Soy Protein Infant Formulae and Follow-On Formulae. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42(4), 352–361. <https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000189358.38427.cd>
- [6] Ávila, R. (2004). Aleitamento da criança no primeiro ano de vida. *Rev Port Clin Geral*, 20:339-46. <https://rpmgf.pt/ojs/index.php/rpmgf/article/download/10042/9779>
- [7] CDC. (2022, November 1). *Preterm Birth*. Center for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/reproductivehealth/maternalinfanthealth/pretermbirth.htm>
- [8] Nutton, S. (2016). Proteins, Peptides and Amino Acids: Role in Infant Nutrition. *Protein in Neonatal and Infant Nutrition: Recent Updates*, 86, 1–10. <https://doi.org/10.1159/000442697>
- [9] Concerns for the use of soy-based formulas in infant nutrition. (2009). *Paediatrics & Child Health*, 14(2), 109–113. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2661347/>
- [10] Hadley, K., Ryan, A., Forsyth, S., Gautier, S., & Salem, N. (2016). The Essentiality of Arachidonic Acid in Infant Development. *Nutrients*, 8(4), 216. <https://doi.org/10.3390/nu8040216>
- [11] Colombo, J., Jill Shaddy, D., Kerling, E. H., Gustafson, K. M., & Carlson, S. E. (2017). Docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (ARA) balance in developmental outcomes. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 121, 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2017.05.005>
- [12] Stephen, A., Alles, M., de Graaf, C., Fleith, M., Hadjilucas, E., Isaacs, E., Maffei, C., Zeinstra, G., Matthys, C., & Gil, A. (2012). The role and requirements of digestible dietary carbohydrates in infants and toddlers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 66(7), 765–779. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.27>
- [13] Chakraborty, M., & Kotecha, S. (2013). Pulmonary surfactant in newborn infants and children. *Breathe*, 9(6), 476–488. <https://doi.org/10.1183/20734735.006513>
- [14] *Inositol: Uses, benefits, side effects, and more*. (2022, August 22). www.medicalnewstoday.com/articles/inositol
- [15] Lemoine, A., Tounian, P., Adel-Patient, K., & Thomas, M. (2023). Pre-, pro-, syn-, and Postbiotics in Infant Formulas: What Are the Immune Benefits for Infants? *Nutrients*, 15(5), 1231. <https://doi.org/10.3390/nu15051231>
- [16] Yu, V. Y. (1998). The role of dietary nucleotides in neonatal and infant nutrition. *Singapore Medical Journal*, 39(4), 145–150. <https://europepmc.org/article/med/9676143>
- [17] Shortland, G. J., Walter, J. H., Stroud, C., Fleming, P. J., Speidel, B. D., & Marlow, N. (1998). Randomised controlled trial of L-carnitine as a nutritional supplement in preterm infants. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, 78(3), F185–F188. <https://doi.org/10.1136/fn.78.3.f185>
- [18] Verner, A. M., McGuire, W., & Craig, J. S. (2007). Effect of taurine supplementation on growth and development in preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd006072.pub2>

12

- [19] Bertuccio, M. P., Currò, M., Caccamo, D., & Ientile, R. (2022). Dietary Intake and Genetic Background Influence Vitamin Needs during Pregnancy. *Healthcare*, 10(5), 768. <https://doi.org/10.3390/healthcare10050768>
- [20] Chahin, N., Yitayew, M. S., Richards, A., Forsthoffer, B., Xu, J., & Hendricks-Muñoz, K. D. (2022). Ascorbic Acid and the Premature Infant. *Nutrients*, 14(11), 2189. <https://doi.org/10.3390/nu14112189>
- [21] Harel, Y., Zuk, L., Guindy, M., Nakar, O., Lotan, D., & Fattal-Valevski, A. (2017). The effect of subclinical infantile thiamine deficiency on motor function in preschool children. *Maternal & Child Nutrition*, 13(4). <https://doi.org/10.1111/mcn.12397>
- [22] Navid Mahabadi, Aakriti Bhusal, & Banks, S. W. (2019, July 3). *Riboflavin Deficiency*. Nih.gov; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470460>
- [23] Bates, C. J. (2013). *Pantothenic Acid - an overview | ScienceDirect Topics*. Wwww.sciencedirect.com. <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/pantothenic-acid>
- [24] Gerster, H. (1996). Die Bedeutung von Vitamin B6 für die Entwicklung des Säuglings. *Zeitschrift Für Ernährungswissenschaft*, 35(4), 309–317. <https://doi.org/10.1007/bf01610548>
- [25] National Institute of Health. (2017). Office of Dietary Supplements - Biotin. Nih.gov. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Biotin-HealthProfessional/>
- [26] Almeida, C. C., Balão, D. dos S., Rodrigues, P. de A., Saint'Pierre, T. D., Hauser-Davis, R. A., Leandro, K. C., Paschoalin, V. M. F., Costa, M. P. da, & Conte-Junior, C. A. (2022). Macrominerals and Trace Minerals in Commercial Infant Formulas Marketed in Brazil: Compliance With Established Minimum and Maximum Requirements, Label Statements, and Estimated Daily Intake. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.857698>
- [27] Mihatsch, W., Fewtrell, M., Goulet, O., Molgaard, C., Picaud, J.-C., Senterre, T., Braegger, C., Bronsky, J., Cai, W., Campoy, C., Carnielli, V., Darmaun, D., Decsi, T., Domellöf, M., Embleton, N., Fewtrell, M., Fidler Mis, N., Franz, A., Goulet, O., & Hartman, C. (2018). ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Calcium, phosphorus and magnesium. *Clinical Nutrition*, 37(6), 2360–2365. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.950>
- [28] Brion, L. P., Heyne, R., & Lair, C. S. (2020). Role of zinc in neonatal growth and brain growth: review and scoping review. *Pediatric Research*. <https://doi.org/10.1038/s41390-020-01181-z>
- [29] Delange, F. (2000). The role of iodine in brain development. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(1), 75–79. <https://doi.org/10.1017/s0029665100000094>
- [30] Lönnnerdal, B., Vargas-Fernández, E., & Whitacre, M. (2017). Selenium fortification of infant formulas: does selenium form matter? *Food & Function*, 8(11), 3856–3868. <https://doi.org/10.1039/c7fo00746a>
- [31] National Institutes of Health. (2017). *Office of Dietary Supplements - Manganese*. Nih.gov. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Manganese-HealthProfessional/>
- [32] Chen, D., Zong, J., Huang, Z., Liu, J., & Li, Q. (2018). Real-Time Analysis of Potassium in Infant Formula Powder by Data-Driven Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00325>
- [33] Haycock, G. B. (1993). The influence of sodium on growth in infancy. *Pediatric Nephrology*, 7(6), 871–875. <https://doi.org/10.1007/bf01213376>
- [34] Produtos - Descubra as nossas fórmulas | Aptamil. (n.d.). Wwww.aptababy.com.pt. Retrieved July 18, 2023, from <https://www.aptababy.com.pt/pt/produtos>



RELATÓRIO DE ESTÁGIO

2022 - 2023

RUA DE JORGE VITERBO FERREIRA
N.º 228, 4050-313 PORTO - PORTUGAL
www.ff.up.pt