



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Mafalda Maria Teixeira Mendes

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Nanotecnologia no Tratamento e Diagnóstico de Doenças Causadas por Tripanossomatídeos” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Carla Carvalho, da Dra. Sofia Pereira e da Professora Doutora Maria do Céu Sousa, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Mafalda Maria Teixeira Mendes

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "Nanotecnologia no Tratamento e Diagnóstico de Doenças Causadas por Tripanossomatídeos" referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob a orientação da Dra. Carla Carvalho, da Dra. Sofia Pereira e da Professora Doutora Maria do Céu Sousa, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2021

Eu, Mafalda Maria Teixeira Mendes, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016234093, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo dos Documentos Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Nanotecnologia no Tratamento e Diagnóstico de Doenças Causadas por Tripanossomatídeos” apresentadas à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 28 de outubro de 2021.

Mafalda Maria Teixeira Mendes

(Mafalda Maria Teixeira Mendes)

## **Agradecimentos**

*Aos meus Pais,*

Por, desde sempre, me inculcaram o gosto pelo conhecimento e me apoiarem incondicionalmente em todas as etapas do meu percurso acadêmico e pessoal. Por me transmitirem os valores e princípios pelos quais me reajo hoje e caminharem comigo, nos momentos de felicidade e adversidade, sempre.

*Aos meus avós,*

Por serem a minha segunda casa e por estarem sempre lá, para me proporcionar as melhores condições ao meu desenvolvimento pessoal. Por me guiarem a ajudarem a crescer.

*Ao meu irmão,*

Pelos momentos de partilha e companhia, pelo espírito de entreajuda e pela afinidade e entendimento que nascem deste laço especial.

*Aos meus amigos e colegas de faculdade,*

Por me acompanharem sempre ao longo deste percurso. Por partilharem comigo momentos de felicidade e por me acalmarem em momentos de ansiedade. São uma âncora e referência para mim, sempre.

*À Professora Doutora Maria do Céu Sousa,*

Por me ter guiado na escolha do tema da monografia, e ter-se mostrado sempre disponível para esclarecer quaisquer dúvidas e questões, inculcando-me gosto e curiosidade pelo tema, ao longo deste percurso.

*À Bluepharma, em especial ao Departamento de Garantia de Qualidade,*

Por me ter acolhido tão bem, no seu espaço, e me ter transmitido valores e competências tão importantes que me serão, seguramente úteis, futuramente. Por me ter dado a oportunidade de sentir de perto o que é uma indústria farmacêutica e todo o rigor e qualidade que lhe são inerentes.

*À equipa da Farmácia Moderna,*

Por me terem recebido tão calorosamente e me mostrarem o quão nobre é ser farmacêutico comunitário. Pela paciência com que me transmitiram os valores basilares da profissão e pelo apoio e incentivo que me deram em todos os momentos e atividades realizadas.

*Obrigada!*

# Índice

## Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas .....	8
1. Introdução.....	9
1.1 Farmácia Moderna.....	9
2. Análise SWOT .....	10
2.1 Pontos Fortes.....	10
2.1.2 Cosmética, Fitoterapia e Homeopatia .....	11
2.1.3 MAPA 48h da Pressão Arterial - Serviço UAH .....	12
2.1.4 Sistema 4 Digital Care® .....	13
2.2 Pontos Fracos.....	13
2.2.1 Preparação de Medicamentos Manipulados .....	13
2.2.2 Duração de estágio.....	14
2.3 Oportunidades .....	15
2.3.1 Acesso a formação contínua .....	15
2.3.2 Operação Luz Verde .....	15
2.4 Ameaças.....	16
2.4.1 Locais de Venda de Medicamentos não Sujeitos a Receita Médica .....	16
2.4.2 Pandemia por COVID-19 .....	17
3. Casos Clínicos.....	17
3.1 Candidíase Vulvovaginal.....	17
3.2. Tratamento sintomático da Gastroenterite.....	18
4. Considerações Finais .....	19
5. Bibliografia.....	20

## Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas .....	22
1. Introdução.....	23
2. Análise SWOT .....	24
2.1 Pontos Fortes.....	24
2.1.1 Fomento de uma cultura de qualidade.....	24
2.1.2 Departamento de Garantia de Qualidade.....	25
2.1.3 Filosofia <i>Kaizen</i> .....	26
2.1.4 Integração dos estagiários .....	27
2.2 Pontos Fracos.....	27
2.2.1 Regime teletrabalho.....	27
2.3 Oportunidades .....	28
2.3.1 Visão global do percurso do medicamento .....	28
2.3.2 Desenvolvimento de <i>Soft Skills</i> .....	29
2.4 Ameaças.....	29
2.4.1. Plano Curricular do MICF .....	29
3. Considerações Finais .....	31
4. Bibliografia.....	32

## **Parte III – Monografia “Nanotecnologia no Tratamento e Diagnóstico de Doenças Causadas por Tripanossomatídeos”**

Resumo .....	34
Abstract .....	35
Lista de Abreviaturas .....	36
1. Introdução.....	38
1.1 Nanotecnologia e Propriedades dos Nanomateriais.....	38
1.2 Importância da Nanomedicina e potenciais Aplicações.....	39
2. Nanomedicina nas Doenças Parasitárias.....	40
2.1 Nanossistemas Lipídicos .....	41
2.1.1 Nanopartículas Lipídicas Sólidas.....	41
2.1.2 Conjugados Fármaco-Lípido.....	42
2.1.3 Nanolipossomas.....	42
2.2 Nanopartículas Poliméricas.....	42
2.3 Nanopartículas Metálicas .....	43
3. Doenças parasitárias causadas por Tripanossomatídeos .....	43
4. Leishmaniose .....	44
4.1 Ciclo de vida e patogênese.....	45
4.2 Terapêutica convencional.....	46
4.3 Nanotecnologia no tratamento da Leishmaniose .....	46
4.3.1 Nanopartículas Poliméricas .....	47
4.3.2 Nanossistemas Lipídicos .....	47
4.3.3 Nanopartículas Metálicas Biogênicas.....	48
5. Tripanossomíase Americana.....	50
5.1 Ciclo de Vida e Patogênese.....	51
5.2 Terapêutica convencional.....	51
5.3 Nanotecnologia no tratamento da Tripanossomíase Americana .....	52
5.3.1 Nanoformulações de Nifurtimox .....	53
5.3.2 Nanoformulações de Benznidazol.....	54
6. Tripanossomíase Africana .....	54
6.1 Ciclo de vida e patogênese.....	55
6.2 Terapêutica convencional.....	56
6.3 Nanotecnologia no tratamento da Tripanossomíase Africana.....	56
6.3.1 Nanossistemas Lipídicos.....	57
6.3.2 Nanopartículas Poliméricas .....	57
7. Nanodiagnóstico aplicado a doenças causadas por tripanossomatídeos.....	58
8. Conclusão .....	59
9. Bibliografia.....	60

# **Parte I**

## **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA**

Farmácia Moderna



## **Lista de Abreviaturas**

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**FM** - Farmácia Moderna

**LVMNSRM** - Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**OTC** - *Over the counter*

**PA** - Pressão Arterial

**PVF** - Preço de Venda ao Público

**PVP** - Preço de Venda à Farmácia

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## **I. Introdução**

O estágio curricular em farmácia comunitária apresenta-se como parte integrante do plano curricular do 5<sup>a</sup>. ano de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), englobando 810 horas de formação. Esta etapa formativa possibilitou pôr à prova os conhecimentos teóricos e teórico-práticos adquiridos ao longo dos cinco anos de MICF e mostrou-se crucial para o desenvolvimento de várias outras competências necessárias a esta atividade farmacêutica.

A farmácia comunitária representa um elo vital entre o cidadão comum e o Sistema de Saúde, sendo, frequentemente, a primeira linha de apoio de vários utentes, sempre que procuram soluções ou respostas para problemas de saúde, tanto crónicos como agudos. Desta forma, o farmacêutico comunitário apresenta um papel de notável importância no que toca à prestação de serviços farmacêuticos, como a correta dispensa de medicação sob aconselhamento adequado, a promoção da literacia em saúde, um seguimento atento dos doentes crónicos e o incentivo a estilos de vida e hábitos mais saudáveis. Cada atividade desempenhada pelo farmacêutico comunitário tem, assim, impacto na qualidade de vida e bem-estar do utente, em particular, e da comunidade em que se insere.

O estágio em farmácia comunitária proporcionou um tempo de consolidação e cruzamento de conhecimentos vital para a minha formação enquanto futura farmacêutica. O tempo de estágio permite a imersão completa no quotidiano de uma farmácia comunitária e a aquisição de uma maior agilidade e confiança, no que toca ao atendimento ao público e à transmissão de informação ao utente. É, sem dúvida, uma mais-valia aquando da transição de um ambiente académico para o mercado de trabalho.

O relatório elaborado é o resultado de uma apreciação crítica do estágio curricular por mim realizado na Farmácia Moderna (FM), em Aveiro, sob orientação da Dra. Sofia Pereira. O documento será finalizado com a apresentação de dois casos clínicos por mim observados durante o atendimento ao público, onde tive a oportunidade de aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos a situações práticas.

### **I.1 Farmácia Moderna**

A FM encontra-se localizada no centro de Aveiro, numa zona nobre da cidade, e apresenta grandes dimensões, contando com um espaço de atendimento ao público bastante apelativo, bem estruturado e iluminado. A farmácia conserva, na sua proximidade, serviços como a Central dos Correios, o Comando Distrital da Polícia de Segurança Pública, a

Delegação da Ordem dos Advogados, o Tribunal de Comarca, a Escola Secundária Homem Cristo, a Escola Básica da Glória, a Câmara Municipal, o Teatro Aveirense, a Sé Catedral de Aveiro e o Museu de Aveiro de Santa Joana. Dispõe, ainda, de boa acessibilidade pedonal e de estacionamento gratuito, para utentes.

A farmácia coloca à disposição dos seus utentes serviços tais como a avaliação da tensão arterial, glicémia, colesterol e triglicéridos; administração de injetáveis; perfuração de orelhas; e consultas de nutrição, podologia e osteopatia. Para além destes serviços, serve ainda a comunidade, pela prestação de serviços a instituições como a Direção Geral de Reinserção e Serviços Prisionais e a Congregação das Irmãs Dominicanas.

O presente relatório será estruturado com base numa análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), de modo a realçar os pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), as oportunidades (*Opportunities*) e as ameaças (*Threats*) observados ao longo da minha formação, no estágio em farmácia comunitária.

## **2. Análise SWOT**

### **2.1 Pontos Fortes**

#### **2.1.1 Estruturação do plano de estágio**

O estágio realizado na Farmácia Moderna foi estruturado, de modo a promover a aprendizagem gradual de conceitos e a sua respetiva integração nas tarefas diárias de uma farmácia comunitária. Assim, o plano de estágio apresentado permitiu uma familiarização progressiva com os processos de funcionamento e gestão interna da farmácia.

Numa fase inicial, foi-me dada a oportunidade de me familiarizar com o *software 4DigitalCare*<sup>®</sup>, utilizado pela farmácia, e de me inteirar acerca da localização dos vários medicamentos e produtos farmacêuticos. Desde logo, dediquei-me à receção de encomendas e correto aprovisionamento dos medicamentos, sendo esta a minha introdução ao processo de gestão logística da farmácia. Durante a receção e gestão de encomendas, aprendi a ler faturas e notas de encomenda e, sempre que necessário, fazer as devidas correções de PVF e PVP dos produtos, bem como verificação de prazos de validade e *stock* no sistema informático. Rapidamente, iniciei ainda as tarefas de conferência de *stocks*, validades e reposição de produtos nos diferentes expositores e lineares. Outras atividades de carácter logístico foram-me sendo apresentadas, como os processos inerentes às devoluções, notas de crédito e pedidos de encomendas. Todas estas funções auxiliaram no

processo de integração na farmácia e possibilitaram a minha familiarização com os diferentes espaços da farmácia, os métodos de gestão logística e disposição de produtos. Durante o primeiro mês de estágio estive, portanto mais envolvida nas tarefas de gestão e *back-office*, sendo que também foi bastante útil para revisão e consolidação de algum conhecimento técnico-científico e farmacológico, necessário para as seguintes etapas do estágio. No final do primeiro mês, iniciei as medições dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos no gabinete do utente, primeiramente com a monitorização devida, indo ganhando gradualmente mais autonomia. Paralelamente a estas funções, comecei desde logo a interagir com utentes, fornecedores e colaboradores da FM, através da receção das chamadas telefónicas, bastante frequentes, o que expandiu a minha capacidade de comunicação e agilização de tarefas.

Posteriormente, comecei a acompanhar a equipa da farmácia ao balcão, de modo a poder presenciar atendimentos variados e esclarecer as dúvidas que iam surgindo. Esta etapa foi preponderante na minha formação como farmacêutica comunitária e ajudou-me a reunir as ferramentas básicas essenciais para realizar um bom atendimento ao utente, passando a confiança necessária. Para mais, também a comunicação telefónica com os vários utentes me deixou mais confortável nas interações pessoais, ao balcão. Por último, seguiu-se a fase dos atendimentos que passei depois a realizar sempre em simultâneo com as restantes tarefas logísticas inerentes ao quotidiano da farmácia. Durante a formação ao balcão e atendimentos realizados, tive a oportunidade de contactar os diferentes tipos de receitas, materiais e electrónicas (materializadas e não materializadas), bem como aprender mais sobre os diversos planos de participação e a dispensa de medicamentos psicotrópicos.

É de realçar que durante todo o processo formativo, a equipa da FM sempre se mostrou disponível e incentivou o esclarecimento de quaisquer dúvidas, a correção de falhas durante o processo de aprendizagem e o apoio necessário no cumprimento das minhas tarefas, fomentando sempre a autonomia, sentido de responsabilidade e espírito crítico.

### **2.1.2 Cosmética, Fitoterapia e Homeopatia**

A FM, localizada no centro de Aveiro, destaca-se por abranger uma população bastante heterogénea de utentes, em termos de faixa etária, condição económica, nacionalidades e estilos de vida, com necessidades de atendimento e preferências variadas. Grande parte dos atendimentos passa por aconselhamento farmacêutico na área de fitoterapia e suplementos, homeopatia, bem como no que toca a produtos cosméticos e regimes de limpeza/tratamento do rosto e corpo. Assim, a FM oferece uma larga gama de produtos fitoterapêuticos e cosméticos.

Desde logo, comecei a contactar com as várias marcas e linhas disponíveis, no âmbito da cosmética e fitoterapia, tirando partido da diversidade disponível na FM. A equipa da farmácia mostrou-se continuamente disponível para esclarecer dúvidas, auxiliando a estabelecer aconselhamento cruzado entre os vários produtos e a medicina tradicional. Foi-me concedido o espaço e tempo necessário durante o estágio para me familiarizar com os vários suplementos disponíveis, de marcas como a Tilman<sup>®</sup>, Aboca<sup>®</sup> ou Vitaceutics<sup>®</sup>, e aprofundar o meu conhecimento no que toca às funções e efeitos terapêuticos essenciais de cada uma das plantas e produtos fitoterapêuticos mais utilizados e em que situações proceder ao seu aconselhamento. No que toca aos produtos homeopáticos, apesar de serem produtos maioritariamente solicitados pelos utentes ou através de aconselhamento médico, tive a oportunidade de preencher uma lacuna de conhecimento nesta área, uma vez que não é abordada durante o plano curricular do curso.

Adicionalmente, tive oportunidade de consolidar os conhecimentos adquiridos na cadeira de Dermofarmácia e Cosmética de MICF e contactar com marcas variadas, baseadas muitas delas em abordagens diferentes, como Rene Furterer<sup>®</sup>, Uriage<sup>®</sup>, Isdin<sup>®</sup>, Bioderma<sup>®</sup>, La Roche Posay<sup>®</sup>, Lierac<sup>®</sup>, Vichy<sup>®</sup>, Caudalie<sup>®</sup> ou Darphin<sup>®</sup>. Muitos dos atendimentos passaram por aconselhamentos na área dos cuidados faciais ou capilares, sendo um aspeto transversal a todas as idades. A prática que obtive nesta área, durante o meu tempo de formação, ser-me-á bastante útil no futuro, sendo que me auxiliou a organizar e estruturar todo o conhecimento teórico adquirido nesta área, ao longo do curso.

### **2.1.3 MAPA 48h da Pressão Arterial - Serviço UAH**

A FM é a única farmácia na região de Aveiro a oferecer um serviço de medição ambulatória da pressão arterial (PA) durante 48h, através do *software* único da CAT&D<sup>®</sup>. Este serviço é uma referência a nível nacional, sendo que a FM se destaca por fazer parte da rede de farmácias parceiras a oferecer o Serviço UAH (Unidade de Apoio ao Hipertenso).

Este serviço vai além da medição regular da PA efetuada na farmácia, permitindo fazer um diagnóstico de hipertensão verdadeira e avaliar o risco cardiovascular de um utente, sempre que surge uma suspeita. O aparelho portátil encontra-se em contacto permanente com o utente durante 48h, fazendo medições de hora a hora. Permite perceber as variações ao longo do dia, bem como a queda da PA durante o sono. O *software* requer os dados pessoais do doente, histórico de doenças crónicas e de hipertensão na família e, ainda, hábitos e estilo de vida. Deste modo, a informação enviada ao médico especialista já

compila e cruza toda a informação necessária acerca do utente, apresentando o grau de risco presente (1).

Poder ter contactado com um serviço de ponta como este, tão relevante atualmente, foi, sem dúvida, uma vantagem enorme para o meu percurso formativo, sendo que é este tipo de serviços personalizados que fazem a diferença, ajudando as farmácias, como a FM, a criar laços de fidelização com os utentes e a poder servir mais e melhor a comunidade.

#### **2.1.4 Sistema 4 Digital Care®**

O sistema 4 Digital Care® trata-se, como referido anteriormente, do sistema de informação e gestão farmacêutica em vigor na FM, substituindo outros como o Sifarma 2000®. Este *software* esteve na base de uma parte substancial da minha formação em termos de gestão e logística farmacêutica, uma vez que todos os processos de gestão e administrativos da farmácia passam ou encontram-se registados na plataforma. Gestão de *stocks*, validades, produtos ou informação pertinente a clientes – toda a informação requerida encontra-se compilada na mesma base de dados, sendo facilmente acessível.

O programa apresenta-se como sendo bastante intuitivo e com um *design* mais apelativo, quando comparado com o programa Sifarma 2000®, servindo para compilar de forma estruturada todos os principais processos e tarefas realizadas no quotidiano. Serviu, ainda, de ponto base para, enquanto estagiária, conseguir formular e esclarecer algumas das minhas questões sobre os vários processos, bem como entender e memorizar a ordem das diferentes etapas a seguir aquando de um atendimento. Para além disso, atua, frequentemente, como fonte de acesso a conhecimento farmacológico e científico necessário durante os atendimentos, nomeadamente, no âmbito da consulta de posologias, sempre que se torna necessário esclarecer alguma questão, por parte do profissional de saúde.

## **2.2 Pontos Fracos**

### **2.2.1 Preparação de Medicamentos Manipulados**

Medicamentos manipulados permitem preencher lacunas no mercado, sempre que não se encontra disponível uma determinada formulação. Por via da manipulação de medicamentos, é possível ajustar terapêuticas medicamentosas e personalizar as formulações de acordo com as necessidades específicas dos utentes.

Atualmente, a indústria farmacêutica dá resposta a necessidades e posologias cada vez mais específicas, existindo no mercado uma ampla gama de combinações terapêuticas, em diferentes dosagens. Deste modo, os medicamentos manipulados são cada vez menos solicitados em farmácia comunitária. A preparação de medicamentos manipulados não tem grande expressão na FM, não havendo, muitas vezes, procura suficiente deste tipo de produtos por parte dos utentes. Uma vez que o custo de muitas das matérias-primas e excipientes requeridos para a manipulação é demasiado elevado para o nível de demanda destes medicamentos, a FM opta por encomendar os pedidos a uma farmácia de referência em medicamentos manipulados, a Farmácia Couto.

No entanto, a FM dedica-se ainda à preparação pontual de pomadas, como o manipulado, em pomada, de vaselina e enxofre a 10%, para tratamento da sarna.

### **2.2.2 Duração de estágio**

O estágio curricular é um marco importante como período de transição dos conhecimentos teóricos para a sua aplicação prática no mercado de trabalho. A farmácia comunitária é, sem dúvida, a área nobre do farmacêutico e apresenta-se como o desafio final após os anos de preparação em MICEF. Os 4 meses de estágio que passei em formação na FM foram essenciais para aplicar e consolidar toda a informação adquirida em MICEF, nas suas variadas vertentes. Apesar de a estruturação do estágio ter promovido, em larga escala, o meu progresso e aprendizagem, senti que o tempo disponibilizado para o estágio se apresenta curto, ao considerar as várias áreas e atividades que o farmacêutico comunitário tem de dominar.

Sendo o estágio curricular, a primeira altura em que os estudantes experienciam o atendimento ao balcão e aconselhamento farmacêutico, de forma mais autónoma, existe um período considerável de habituação e ajuste a esta nova realidade. Assim, foi já na reta final do estágio, que me senti realmente capaz e confiante na minha prestação enquanto farmacêutica comunitária, tendo preferido alargar um pouco mais este período formativo. Uma possível forma de combater a insegurança inicial e ultrapassar mais rapidamente este desafio poderá ser através de implementação de momentos mais práticos, virados para as técnicas de conversação e atendimento farmacêutico, ao longo do plano curricular de MICEF, sempre que pertinente.

## **2.3 Oportunidades**

### **2.3.1 Acesso a formação contínua**

Durante o estágio curricular na FM, pude assistir e estar presente durante as visitas de delegados de informação médica e representantes de laboratórios farmacêuticos e cosméticos, com vista à realização de pequenos momentos de formação e atualização de informação sobre as várias gamas e produtos. Estes momentos enriquecem os conhecimentos dos farmacêuticos e equipa da farmácia, sendo que se reflete na qualidade dos atendimentos disponibilizados. Os delegados e formadores mostraram-se sempre abertos para receber e esclarecer dúvidas ou questões, servindo também para aprofundar o meu conhecimento, principalmente, na área de fitoterapia e cosmética.

Adicionalmente, foi-me possível assistir a formações *online* e *webinars*, disponíveis para os profissionais de saúde, dos vários laboratórios. Destaco a formação da Caudalie®, a primeira formação que assisti dedicada às várias linhas da marca, que me permitiu esclarecer questões, não só referentes à marca, como aos conhecimentos base aplicáveis sempre que se pretende uma correta limpeza da pele e um tratamento mais seguro e eficaz dos vários produtos. Estas sessões são, na sua maioria curtas e flexíveis aos horários e fluxos de atendimento da farmácia, sendo um meio eficaz e pragmático para obter e atualizar conhecimento específico de cada marca ou produto. Trata-se de ferramentas na melhoria do atendimento, uma vez que munem o farmacêutico de *know-how* para poder esclarecer, de forma mais minuciosa, os utentes, passando uma sensação de confiança e, muitas vezes, fidelizando clientes.

### **2.3.2 Operação Luz Verde**

Desde o início da pandemia por COVID-19 que surgiu a necessidade de reduzir o fluxo de utentes não críticos aos hospitais, incluindo, deste modo, todos os utentes que se viam obrigados a deslocar-se aos serviços farmacêuticos dos hospitais, para levantar medicamentos de dispensa exclusiva em meio hospitalar. Assim, para diminuir a afluência às farmácias de ambulatório, em serviços hospitalares, foi necessária a reestruturação dos serviços farmacêuticos, entrando em vigor a Operação Luz Verde.

Este projeto nasce da cooperação entre os serviços hospitalares, as farmácias comunitárias e as distribuidoras farmacêuticas, evitando que o utente se desloque ao hospital, local de risco e grande fluxo de doentes, para receber a medicação. O utente pode agora levantar, de forma rápida e segura, a sua medicação mensal, numa farmácia comunitária



da sua escolha, sem quaisquer custos adicionais envolvidos. Esta operação assegura que todos os doentes continuam a receber a sua medicação de forma segura e eficaz, durante a pandemia. Este projeto, implementado num período excepcional, possibilitou a minha familiarização com medicação hospitalar com a qual não contactaria, de outra forma, enriquecendo, assim, a minha experiência de estágio.

## **2.4 Ameaças**

### **2.4.1 Locais de Venda de Medicamentos não Sujeitos a Receita**

#### **Médica**

O aumento da popularidade dos locais de venda de medicamentos não sujeitos a receita médica (LVMNSRM), como as grandes superfícies e parafarmácias, tem vindo a afetar as farmácias comunitárias. Estes estabelecimentos encontram-se, na sua maioria em lugares de destaque e propícios a um consumo fácil e despedagado, como os centros comerciais.

Frequentemente, as farmácias comunitárias são postas em comparação direta com as grandes superfícies ou cadeias de para farmácias, sendo que estabelecimentos como estes têm a capacidade de oferecer ao consumidor uma ampla gama de medicamentos não sujeitos a receita médica (*Over The Counter* - OTC) a preços muito competitivos. É de notar que grande parte das receitas de uma farmácia comunitária vem principalmente de medicamentos OTC, suplementos e produtos de higiene e cosmética- produtos abrangidos pelos LVMNSRM.

No entanto, há pontos diferenciadores que dão uma enorme vantagem às farmácias comunitárias e são a razão pela qual existem tantos utentes fidelizados. Ao contrário do ambiente impessoal dos LVMNSRM, a farmácia comunitária prima por um atendimento personalizado e esclarecedor, feito por um profissional de saúde experiente e formado para responder a todas as questões do cliente, passando uma sensação de confiança e segurança na toma ou administração dos produtos. Os estabelecimentos LVMNSRM, por outro, não são especializados em aconselhamento farmacêutico, faltando o conhecimento científico, para proceder às devidas advertências ou ao correto cruzamento de produtos e medicação.

Assim, é imperativo que as farmácias comunitárias se saibam diferenciar e afastar cada vez mais dos LVMNSRM, de modo a assegurar e alargar o seu espaço, tão importante, na comunidade. A implementação de serviços com a medição de parâmetros fisiológicos, aconselhamento personalizado e prestação de consultas farmacêuticas de revisão da

medicação, bem como entrega de medicamentos ao domicílio são aspetos em que as farmácias se podem diferenciar.

### **2.4.2 Pandemia por COVID-19**

A pandemia por COVID-19 veio efetivamente alterar os processos normais de funcionamento nos mais variados estabelecimentos e locais de trabalho, sendo que deixa para trás repercussões sentidas por todos. Durante o meu estágio em farmácia comunitária, embora não tenho passado, felizmente, por nenhum período de confinamento ou suspensão de atividade, a pandemia fez-se notar de outras formas. As regras de uso de máscara, distanciamento social, higienização já se encontram, para a grande maioria, integradas na rotina diária. No entanto, é bastante notável durante os atendimentos que estas barreiras físicas como máscaras, luvas e uso de acrílicos de proteção se transformam, facilmente, em barreiras à comunicação entre utente e farmacêutico. Notei uma dificuldade acrescida em entender os utentes e em garantir de compreendiam as indicações que lhes passava. O atendimento é, por definição, um momento mais íntimo com o utente, de modo a respeitar a sua privacidade; no entanto, esta tarefa tornava-se um pouco mais difícil, ao tentar manter uma distância maior e respeitar o uso das máscaras. Tudo isto contribui, frequentemente, para que o utente se retraía mais na exposição das suas questões e que se apresente menos confortável. O papel do farmacêutico passa por criar laços de confiança com o utente, para que este se sinta à vontade e confortável; tarefa que se encontra dificultada, nas circunstâncias atuais.

## **3. Casos Clínicos**

### **3.1 Candidíase Vulvovaginal**

Apresentou-se, na farmácia, uma utente com sintomas indicativos de candidíase vulvovaginal, sendo que apresentava comichão, ardor, vermelhidão e inflamação. A utente procurava algo que tratasse a possível infeção. Quando a questioneei acerca da existência de algum possível corrimento esbranquiçado, esclareceu-me que apesar não notar nenhum corrimento, já tinha passado por uma situação semelhante o ano passado, onde o sintoma tinha ocorrido. No seguimento da conversa, percebi que se trata de uma situação recorrente, sempre durante o período banhear.

Esclareci-lhe, então, que a prática banhear favorece o aparecimento de fungos, sendo necessário uma higiene íntima mais rigorosa. Dispensei-lhe o Gino-Canesten® creme vaginal

de clotrimazol a 1% (tratamento), um poderoso antifúngico, para iniciar de imediato (2) e aconselhei o uso diário, durante a época balnear, do gel de lavagem íntima Familyane<sup>®</sup> pH 8, da Biorga<sup>®</sup>, sendo que se trata do pH mais adequado para combater fungos (proliferam a pH ácido) e equilibrar o ambiente hostil da água do mar ou piscina (ambientes ácidos). Reforcei, ainda, a importância da prevenção destas infeções, através da toma antecipada de suplementação com probióticos adequados ao bom funcionamento da flora vaginal. A utente aceitou as recomendações e levou ainda o suplemento Ergyphilus<sup>®</sup> Intima, da Nutergia<sup>®</sup>, rico em probióticos como o *Lactobacillus acidophilus*, para restaurar a flora vulvovaginal (3).

### **3.2. Tratamento sintomático da Gastroenterite**

Um utente dirigiu-se à farmácia, apresentando diarreia, cólicas e febre. Quando questionei, afirmou que os sintomas tinham começado no dia anterior e que já tinha tomado Imodium<sup>®</sup> rapid (cloridrato de loperamida) em casa, sendo que a febre tinha começado na noite anterior. Uma vez que o doente se encontrava com febre, expliquei-lhe que possível seria uma gastroenterite e que era desaconselhada a toma de antidiarreicos e supressores da atividade do intestino, uma vez que podem mascarar e piorar os sintomas. Referi a importância, nestes casos, de assegurar uma boa hidratação e a reposição dos eletrólitos e probióticos necessários. Sendo assim, aconselhei a toma de uma saqueta de Dioralyte<sup>®</sup>, solução de rehidratação rica em sódio, potássio e glucose, após cada descarga, de modo a manter a hidratação e fornecer energia. Reforcei a importância do consumo de água e indiquei a toma de probióticos, na forma do Atyflor<sup>®</sup>, para auxiliar no tratamento da diarreia (4). O doente levou ainda uma caixa de paracetamol 1000 mg, para tomar de 8-8h como antipirético no combate à febre, tendo sido alertado, no entanto, para o facto de ter de ir ao médico, caso a febre se estendesse por 3 dias.

## 4. Considerações Finais

O estágio em farmácia comunitária apresenta-se como a rampa de entrada dos estudantes de MICEF para o mercado de trabalho, dando a conhecer uma das mais nobres áreas de intervenção farmacêutica, com a qual a maioria da comunidade estudantil irá contactar futuramente.

O estágio curricular veio fortalecer a noção, previamente adquirida, da importância do papel do farmacêutico na sua comunidade e a responsabilidade inerente à atividade farmacêutica. O farmacêutico assume-se como um agente de saúde pública e um elo vital entre a população e o sistema de saúde. Poder presenciar e vivenciar as atividades diárias de um farmacêutico na FM, o contacto que se estabelece com cada utente, a atenção dispensada em cada atendimento e a entrega em todos os serviços realizados na farmácia foi, sem dúvida, uma experiência enriquecedora que aprofundou o meu interesse pela área.

Os vários desafios com os quais me fui deparando, ao longo deste período, requereram o desenvolvimento de competências profissionais e pessoais e de um grande sentido de responsabilidade e maturidade, que levo agora comigo, para o meu futuro profissional. Adicionalmente, este tempo de formação permitiu a consolidação e organização dos vários conhecimentos técnico-científicos adquiridos ao longo do curso, sendo o culminar de cinco anos de experiências.

A FM apresenta-se, seguramente, como uma farmácia de referência pela qualidade e variedade dos serviços prestados, bem como pelo cuidado e atenção dispensados em cada atendimento, sendo uma instituição muito querida entre os utentes. Acredito que a experiência de estágio vivida na farmácia me tornou uma profissional mais capaz e, certamente, mais consciente da importância e dos desafios quotidianos de um farmacêutico comunitário.

## 5. Bibliografia

- (1) **MAPA 48H - UAH - Unidades de Apoio ao Hipertenso** [Acedido a 9 de setembro de 2021]. Disponível na internet em: <https://www.uah.pt/mapa48h.php>
- (2) **INFARMED - Resumo das Características do Medicamento, Gino-Canesten** (2014). [Acedido a 12 de setembro de 2021]. Disponível na internet em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
- (3) **Ergyphilus Intima – Nutergia - Nutribio**. [Acedido a 12 de setembro de 2021]. Disponível na internet em: [https://www.nutergia.pt/suplementos-alimentares/pt/produtos-nutergia/as-suas-necessidades/mulher/nutergia-ergyphilus-intima\\_BQ.php](https://www.nutergia.pt/suplementos-alimentares/pt/produtos-nutergia/as-suas-necessidades/mulher/nutergia-ergyphilus-intima_BQ.php)
- (4) **Atyflor - Grupo Italfarmaco**. [Acedido a 13 de setembro de 2021] Disponível na internet em: <https://www.italfarmaco.pt/produtos-obstipacao>

## **Parte II**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.

## **Lista de Abreviaturas**

**BPF** - Boas Práticas de Fabrico

**EMA** - Agência Europeia do Medicamento

**FDA** - Food and Drugs Administration

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**GQ** - Garantia de Qualidade

**INFARMED** - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**PQR** - *Product Quality Review*

**SOP** - Procedimento operativo normalizado

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## I. Introdução

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) disponibiliza aos estudantes de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) a possibilidade de realização de um estágio curricular adicional, como complemento à formação em farmácia comunitária, promovendo, deste modo, o contacto com diferentes áreas farmacêuticas. Deste modo, decidi optar pela Indústria Farmacêutica, uma área multidisciplinar, onde se destaca a importância do farmacêutico e que, desde sempre, me despertou fascínio e curiosidade. A Indústria Farmacêutica apresenta-se como uma área de constante crescimento e reinvenção, sendo o papel do farmacêutico crucial para transmissão de conhecimento técnico-científico e na regulação e asseguramento da qualidade e segurança de todas as formulações e medicamentos no mercado.

Assim, foi-me dada a oportunidade de estagiar na Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A., em Coimbra, uma indústria de referência tanto a nível nacional como internacional. A Bluepharma possui sede em São Martinho do Bispo, Coimbra, local onde levei a cabo o meu estágio, encontrando-se em funcionamento desde 2001. A atividade da empresa compreende a produção de medicamentos próprios e para terceiros, a comercialização de medicamentos genéricos e o desenvolvimento e registos de medicamentos (1). Atualmente, o grupo Bluepharma integra 20 empresas e conta com mais de 700 colaboradores, exportando grande parte da sua produção para um mercado internacional (mais de 40 países) (2). O grupo e a empresa encontram-se em constante expansão e modificação, sendo que a sua atividade abrange toda a cadeia do medicamento desde I&D até à entrada do medicamento no mercado.

Após um processo de seleção, integrei o departamento de Garantia de Qualidade (GQ): um departamento dinâmico, responsável por implementar e fazer cumprir todas as premissas das Boas Práticas de Fabrico (BPF) - a base do sistema integrado de gestão de qualidade-, de acordo com o exigido por parte das autoridades do medicamento (INFARMED, EMA e FDA).

O departamento GQ, por ser um departamento bastante vasto e heterogéneo, encontra-se subdividido por grupos de trabalho, com diferentes competências entre si. Durante o meu estágio, fiz parte do grupo do Produto e Processo, responsável por assegurar os sistemas de qualidade ao longo do processo de produção e embalamento dos produtos. Foi-me, assim, atribuída a tarefa de elaboração de PQRs (do inglês, *Product Quality Review*), documentos que se definem como sendo revisões periódicas, normalmente anuais, extensas e detalhadas, de cada produto manufaturado pela Bluepharma, em que se avalia



todo o processo de produção, por lote de produto produzido. Estes documentos permitem identificar tendências e padrões em cada fase do processo, bem como possíveis falhas e oportunidades de melhoria. É apresentada sempre uma comparação com tendências dos anos anteriores, para o mesmo produto, e considerações construtivas para aperfeiçoar o processo e a sua monitorização. São concebidos PQRs de produto semiacabado, para todos os lotes em *bulk* produzidos e analisados nas instalações da Bluepharma, e ainda PQRs de produto acabado, organizados por produto e cliente, relativos ao processo de embalamento. Deste modo, tive formação no âmbito dos PQRs de produto semiacabado, dedicando-me à sua elaboração durante o tempo de estágio.

Serve o presente relatório para apresentar e realçar, sob a forma de análise SWOT, os pontos forte (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) encontrados ao longo do estágio na Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.

## **2. Análise SWOT**

### **2.1 Pontos Fortes**

#### **2.1.1 Fomento de uma cultura de qualidade**

A prioritização de uma cultura de qualidade sólida é essencial para o bom funcionamento de uma indústria farmacêutica. A Bluepharma prima pela sua dedicação, garantindo a qualidade sistemática dos seus produtos. A atividade da empresa assenta num Sistema Integrado de Qualidade, baseado nas BPF estipuladas, que monitoriza e responsabiliza cada um dos diferentes departamentos e colaboradores. Assim, há um compromisso global e individual diário em seguir e assegurar os vários requisitos e procedimentos operativos normalizados (SOP) implementados, conduzindo a uma padronização dos processos e à diminuição de falhas.

A Bluepharma conta ainda com sistemas de gestão documental eficazes, que garantem a acessibilidade e rastreabilidade de todos os documentos e histórico de atividades realizadas. Desta forma, a monitorização de falhas e justificação de desvios encontra-se facilitada.

Adicionalmente, existe um delineamento concreto de tarefas e responsabilidades em cada departamento e respetivos subgrupos. Cada colaborador compreende a extensão das suas funções e tarefas individuais, fomentando a responsabilidade de cada um. O facto de

existir uma interdependência entre os vários grupos e departamentos, no que toca à integração de informação, resulta em equipas mais motivadas e num aumento do rigor em cada tarefa realizada.

Esta cultura de qualidade e constante procura em minimizar e prevenir falhas é-nos inculcada, enquanto estagiários, desde o primeiro, motivando-nos a fazer melhor e com gosto cada atividade proposta. É também vital para o sucesso de uma organização tão complexa como uma indústria farmacêutica, num mercado cada vez mais competitivo e exigente. Estando integrada no departamento de GQ, realçou ainda mais a importância do papel da qualidade e da organização no quotidiano de uma indústria farmacêutica.

### **2.1.2 Departamento de Garantia de Qualidade**

O departamento de GQ é responsável por uma extensa panóplia de tarefas, obrigando a uma estruturação e gestão interna bastante rigorosa e minuciosa. Assim, encontra-se dividido em diferentes subgrupos destinados a tarefas distintas como monitorização da qualidade dos processos de produção e embalamento, gestão e validação de fornecedores (matérias-primas, embalagens e outros equipamentos necessários à indústria), gestão documental, reclamações e clientes, gestão de desvios e estabilidades, e preparação de auditorias e inspeções.

A organização diária e semanal dentro do departamento é sempre bastante dinâmica e implica a adaptação contínua, de modo a dar resposta às solicitações dos restantes departamentos, clientes e fornecedores. Cada grupo de trabalho se organiza em função das atividades dos restantes grupos e departamentos e os colaboradores encontram-se em permanente contacto entre si, criando equipas multidisciplinares.

Enquanto estagiária, poder assistir e fazer parte da organização destes grupos de trabalho e ter a oportunidade de contactar com colaboradores de áreas tão diversas, dentro e fora do departamento, constituiu uma experiência única que me munuiu de *skills* de comunicação interpessoal e capacidade de organização de *workload*. Para mais, foi-me possível, enquanto membro do grupo do Produto e Processo, ir contactando e sabendo mais acerca das diversas tarefas desenvolvidas pelos restantes grupos de trabalho do departamento de GQ, ficando com uma visão mais abrangente do que é a garantia de qualidade.

### 2.1.3 Filosofia Kaizen

A contínua expansão da Bluepharma e o rigor sistematicamente exigido no desenvolvimento das suas atividades obriga a uma sólida organização corporativa e departamental. Assim, a empresa tem vindo a adaptar e reformular os seus processos com base na filosofia *Kaisen*, de origem japonesa, que segue o princípio de melhoria contínua (*kai* -“mudar”; *zen* -“para melhor”) (3). Neste momento, todos os departamentos da Bluepharma, desde as áreas de produção até aos gabinetes de controlo e gestão, se regem pelos princípios da metodologia *kaizen*, de modo a otimizar tempo e recursos e garantir uma organização intra e interdepartamental mais sólida e estruturada.

A filosofia *kaisen* é posta em prática diariamente, em cada departamento, através da realização de curtas reuniões diárias entre os seus colaboradores. As reuniões diárias têm uma duração estipulada de 15 min, exceto às 2ª. e 6ª. feiras. Estes momentos apresentam-se como um espaço onde os colaboradores expõem ao departamento os principais pontos e dúvidas acerca das tarefas que realizam, bem como um balanço do progresso das mesmas, ao longo da semana. Cada subgrupo tem a oportunidade de apresentar a evolução dos seus indicadores de atividade, para que todos tenham uma noção coletiva do estado das tarefas departamentais. Estas reuniões são, sem dúvida, fulcrais para a agilização do planeamento de atividades, resolução eficaz de problemas e para a priorização correta das tarefas a desenvolver. É de notar que, à 2ª. e 6ª feira, há um tempo mais alargado para a reunião, realizando-se por grupo de trabalho apenas (no que toca ao departamento de GQ), onde cada colaborador apresenta o seu planeamento individual e semanal de atividades, seguindo posteriormente com atualizações acerca do progresso do mesmo.

Adicionalmente, o *kaisen* também tem impacto direto na organização e gestão do espaço físico da empresa, existindo um aproveitamento estruturado do espaço e uma organização pensada de todos os materiais e ferramentas de trabalho, incluindo documentação. O fluxo de trabalho torna os processos mais simples e harmoniosos, aumentando a qualidade do trabalho desenvolvido e melhorando a experiência de cada colaborador.

Enquanto estagiária, tive a oportunidade de integrar a filosofia *kaisen* durante o desenvolvimento das minhas tarefas na Bluepharma, cimentando a importância de cultivar uma cultura de melhoria contínua e otimização em todos os processos internos, o que, inevitavelmente, se traduz, externamente, numa imagem de qualidade e rigor mais competitivos.

### **2.1.4 Integração dos estagiários**

A receção e integração dos estagiários na Bluepharma é efetuada segundo um plano estruturado, organizado pelo departamento de Recursos Humanos da empresa. O processo é iniciado pela sessão de boas-vindas dos estagiários à empresa, na qual é apresentada a Bluepharma e os vários departamentos e colaboradores que a integram. Seguidamente, cada elemento é apresentando aos colaboradores do departamento onde irá exercer funções, sendo que cada estagiário é seguido de perto por um membro do departamento que desempenhará o papel de tutor. Ao elemento recém-chegado é lhe ainda apresentado as instalações e método de funcionamento do departamento, bem como os espaços comuns e recursos disponíveis na empresa.

Adicionalmente, é ministrada aos novos elementos uma série de formações internas no âmbito do Sistema de Gestão Integrado, Assuntos Regulamentares, Farmacovigilância, Ambiente e Segurança no Trabalho, entre outras, o que visa à fácil e rápida adaptação dos estagiários ao funcionamento da empresa. É, ainda, requerida a leitura e familiarização com as SOPs que regulam a atividade do departamento, bem como documentação base que integra toda a informação essencial acerca da empresa e da sua estruturação.

Todos estes pontos facilitaram a minha integração, enquanto novo membro, numa nova estrutura de trabalho, criando um ambiente agradável entre os vários colaboradores da equipa de entreatajuda e proatividade, e a predisposição para a colocação e clarificação de quaisquer dúvidas que fossem surgindo. Para além disso, o facto de ter sido imediatamente incluída na calendarização e no planeamento das atividades a realizar, com tarefas alocadas especificamente a mim, estimulou também a noção de responsabilidade, desenvolvendo as minhas funções com entusiasmo.

## **2.2 Pontos Fracos**

### **2.2.1 Regime teletrabalho**

A pandemia por COVID-19 veio impor algumas alterações ao normal funcionamento da Bluepharma. Durante o meu tempo de estágio, esteve em vigor o Plano de Contingência da empresa, onde se especifica a necessidade de optar pelo regime de teletrabalho, sempre que possível. Assim, após os dois dias iniciais de formação no âmbito da realização das tarefas que me foram alocadas, a realização das mesmas aconteceu, maioritariamente, fora das mesmas.

Apesar de compreender a necessidade das medidas impostas e até mesmo os pontos positivos, no que toca à maior comodidade e flexibilidade horária dos colaboradores, o confinamento imposto surgiu como um impedimento ao convívio saudável interpessoal e obrigou à alteração das vias de comunicação entre os membros do departamento. A existência de um espaço físico comum ao departamento e dedicado à realização das tarefas diárias dos colaboradores é crucial para melhorar aspetos como a produtividade, eficácia de comunicação e espírito de equipa. Como membro recém-chegado, senti o quanto a presença física influencia o companheirismo e criação de laços sólidos entre os vários colaboradores da empresa.

É de notar, no entanto, que a Bluepharma contornou rapidamente as questões de comunicação e organização entre os vários colaboradores e departamentos através da implementação de recursos como o *Microsoft Teams*, no apoio à realização de reuniões e formações, bem como para contacto colaboradores de diferentes departamentos, sempre que necessário.

## **2.3 Oportunidades**

### **2.3.1 Visão global do percurso do medicamento**

A indústria farmacêutica engloba uma enorme variedade de departamentos com funções bastante diferentes, sendo que a maioria foca o seu plano de atuação numa etapa específica do ciclo de vida do medicamento. Ao integrar o departamento de GQ, cuja atividade é transversal às várias etapas do circuito do medicamento, foi-me possível obter uma melhor noção do funcionamento global de uma indústria farmacêutica e a implicação que cada etapa apresenta para a qualidade, eficácia e segurança do produto final a comercializar. O departamento de GQ está envolvido no controlo do produto desde a chegada das matérias-primas até à libertação de cada lote de produto acabado e semiacabado, exigindo uma atenção ao detalhe e rigor minuciosos.

Durante o tempo de estágio, tive ainda a oportunidade de visitar a instalações do departamento de Controlo de Qualidade e seus laboratórios, o departamento de Produção e Embalagem, com as instalações de fabrico, e linhas de produção e embalagem e, ainda, os armazéns. O contacto direto com os respetivos profissionais de cada uma das áreas alargou o meu conhecimento sobre o funcionamento da indústria e a verdadeira interdependência existente entre cada departamento.

### **2.3.2 Desenvolvimento de *Soft Skills***

O estágio marca um tempo de transição de um ambiente acadêmico, período de aquisição e consolidação de conhecimento, para o mercado de trabalho. A integração num ambiente empresarial implica não só a aplicação dos conhecimentos técnico-científicos obtidos ao longo do curso, mas também o desenvolvimento de *soft skills* essenciais ao trabalho em equipa. Durante a minha formação na Bluepharma, surgiu a necessidade de pôr em prática e melhorar competências complementares aos conhecimentos técnicos exigidos.

No desenvolvimento das minhas funções, contactei em maior profundidade com ferramentas como o *Excel* e o *software JMP*, para construção gráfica e análise de data, necessárias à elaboração de PQRs. Tive ainda contacto com plataformas de gestão documental utilizadas pela Bluepharma, como o *Veeva Vault*, e tomei consciência da importância de uma boa organização tanto do espaço físico como das plataformas digitais, para o correto desempenho das tarefas previstas. O planeamento diário e semanal é também vital para uma boa coordenação de tarefas e algo que aprendi a incorporar no meu quotidiano.

Adicionalmente, a elaboração de PQRs de produto semiacabado estimulou a minha capacidade crítica, uma vez que o objetivo primário deste tipo de documentação é a capacidade de interpretar os dados apresentados, descrever o desempenho dos processos, em cada etapa, com base nas estatísticas calculadas e apresentar, por fim, caminhos que levem à otimização dos processos e a uma melhor gestão dos recursos. A discussão crítica apresentada em cada PQR passa ainda pela compilação de informações e de conhecimento técnico proveniente de diferentes colaboradores, dentro e fora do departamento, de modo a apresentar uma avaliação fidedigna. Assim, tive oportunidade de aplicar competências de comunicação interpessoal e melhorar a capacidade de adaptação a diferentes ritmos de trabalho.

## **2.4 Ameaças**

### **2.4.1. Plano Curricular do MICF**

A planificação curricular do MICF engloba uma variedade de cadeiras extremamente relevantes para a integração em indústria farmacêutica, nomeadamente na área da Química e Tecnologia Farmacêutica e Métodos Instrumentais de Análise. Para mais, a FFUC, ao contrário do que acontece noutras instituições de ensino, possibilita aos estudantes de MICF experienciar o ambiente real de uma indústria farmacêutica, através do estágio curricular,

que os distingue a nível nacional. No entanto, ao realizar o estágio no departamento de GQ, pude observar de perto as lacunas existentes no plano curricular relativamente aos conhecimentos transmitidos na área da qualidade. A abordagem feita em cadeiras como a de Garantia e Gestão de Qualidade acabam por não captar a essência do departamento, bem como os seus valores e funções dentro da indústria, o que, indubitavelmente, conduz a um desinteresse pela área, por parte dos estudantes. Os conhecimentos adquiridos ficam aquém do que realmente acontece no quotidiano de um departamento de GQ e uma reestruturação do plano curricular a este nível poderá motivar mais estudantes a explorar esta vertente tão importante das ciências farmacêuticas.

### **3. Considerações Finais**

O estágio curricular em indústria farmacêutica, em concretamente na Bluepharma, marcou indubitavelmente o meu percurso enquanto estudante de MICE, tendo sido uma experiência que veio enriquecer a minha formação enquanto farmacêutica.

A seleção do departamento de GQ como primeira experiência na área de indústria farmacêutica permitiu-me vivenciar, de perto, a transversalidade e a abrangência deste departamento em termos das suas funções e do impacto que tem ao longo de todo o circuito do medicamento, na indústria. Através das tarefas e desafios que me foram propostos, foi-me possível consolidar conhecimentos adquiridos aos longos dos últimos anos, bem como entender melhor a aplicação prática que podem ter. Para além disso, foi-me possível desenvolver e melhorar competências profissionais e pessoais cruciais que levo comigo e das quais irei, sem dúvida, usufruir.

A realização do estágio em indústria é efetivamente um importante complemento ao estágio em farmácia comunitária e permite aos estudantes completar a sua formação, passando por uma das áreas que mais bem representa o rigor e a versatilidade das ciências farmacêuticas. A Bluepharma proporcionou, seguramente, uma experiência imersiva no quotidiano de uma indústria farmacêutica, onde me senti parte da equipa e dos desafios diários. Permitiu-me, assim, realizar o meu objetivo de vivenciar o mundo da indústria farmacêutica e sentir-me mais aberta à versatilidade do MICE, em termos de saídas profissionais.

Realço, por fim, o gosto que foi ter feito parte integrante do departamento de GQ da Bluepharma, tendo alterado, por completo, a visão fechada que tinha da área da qualidade. Espero ter auxiliado de forma eficaz e positiva o departamento, nas tarefas que me foram propostas.



## 4. Bibliografia

- (1) **Bluepharma – Atividade Industrial** [Acedido a 17 de setembro de 2021] Disponível na Internet: <https://www.bluepharma.pt/manufacturing/qualityassurance.php>
- (2) **Bluepharma – Grupo Bluepharma** [Acedido a 17 de setembro de 2021] Disponível na Internet: <https://www.bluepharma.pt/about-bluepharmagroup.php>
- (3) **A Nossa Missão - Kaizen Institute Portugal** [Acedido a 21 de setembro de 2021] Disponível na Internet: <https://pt.kaizen.com/sobre-nos.html>

## **Parte III**

MONOGRAFIA

“Nanotecnologia no Tratamento e Diagnóstico de Doenças Causadas por  
Tripanossomatídeos”

## Resumo

Nas últimas décadas, a nanotecnologia tem vindo a mostrar-se vital para o desenvolvimento da indústria farmacêutica, no âmbito das técnicas de tratamento e diagnóstico. A escala nanométrica traz consigo soluções inovadoras, para a incorporação, transporte e entrega dos fármacos e substâncias ativas convencionalmente usados na prática clínica. A melhoria significativa de aspetos como a solubilidade, biodisponibilidade e tempo de retenção dos fármacos, bem como a diminuição da toxicidade de medicação convencional, tornam o uso da nanotecnologia bastante apetecível. Atualmente, encontram-se em estudos *in vitro* e *in vivo* uma série de nanomedicamentos, sob diferentes formas, tais como nanopartículas, nanolipossomas e nanoconjugados, existindo já formulações com sucesso comercial. A nanotecnologia no tratamento e diagnóstico de doenças parasitárias tem sido alvo de grande atenção e estudo, uma vez que os regimes terapêuticos disponíveis nesta área são bastante complexos e morosos, tendo associado um elevado risco de toxicidade. Doenças como a leishmaniose, doença de chagas e doença do sono, abordadas nesta monografia, são exemplos claros de infeções que beneficiam das soluções proporcionadas pela nanotecnologia. Estudos de formulação de nanossistemas aplicados ao tratamento destas doenças têm-se mostrado eficazes, demonstrando resultados animadores.

**Palavras-chave:** nanotecnologia, nanomedicação, leishmaniose, Doença de Chagas, Tripanossomíase Africana.

## **Abstract**

In the last decades, nanotechnology has shown to be crucial for the development of the pharmaceutical industry, regarding new treatment and diagnosis techniques. Working at the nanoscale has brought new groundbreaking solutions for drug transport and delivery in regard to the drugs already used in clinic. It significantly improves aspects such as solubility, bioavailability and retention time, whilst decreasing toxicity, which makes the use of nanotechnology very appealing. Currently, there are various nanomedicines going through *in vitro* and *in vivo* studies. These medicines are presented in forms such as nanoparticles, nanoliposomes or nanoconjugates, some of which already available in the market. Nanotechnology applied to the treatment of parasitic diseases has been given much attention in the last decades, as the available therapeutic regimens in this area are complex and cumbersome, with high toxicity levels. Parasitic diseases such as leishmaniasis, Chagas disease and sleeping sickness are clear examples of infections that will benefit from the incorporation of nanotechnology. Studies on nanosystem formulation have proven nanomedicine to be an effective treatment method and the results have been uplifting.

**Keywords:** nanotechnology, nanomedicine, leishmaniasis, Chagas disease, African Trypanosomiasis.

## Lista de Abreviaturas

**ADN** - Ácido Desoxirribonucleico

**Ag** - Prata

**AmB** - Anfotericina B

**ARN** - Ácido Ribonucleico

**Au** - Ouro

**BHE** - Barreira Hematoencefálica

**BZN** - Benznidazol

**CE** - Comissão Europeia

**EMA** - *European Medicines Agency*

**gHAT** - *T. brucei gambiense*

**HAT**- Tripanossomíase Africana

**HIV/SIDA** - Vírus da imunodeficiência humana

**IL-12** - Interleucina 12

**LC** - Leishmaniose Cutânea

**LCR** - líquido cefalorraquidiano

**LDC** - *Lipid- drug conjugates*

**LMC** - Leishmaniose Mucocutânea

**LV** - Leishmaniose Visceral

**MSN** - *Mesoporous silica nanoparticles*

**NFX** - Nifurtimox

**NLS** - Nanopartículas Lipídicas Sólidas

**OMS** - Organização Mundial de Saúde

**PACA** - Polialquilcianoacrilato

**PEG** - Polietilenoglicol

**PLGA** - Poli(ácido lático-co-ácido glicólico)

**PMMA** - Poli(metil metacrilato)

**PSD** - *Particle size distribution*

**Qd** - Ponto quântico

**rHAT** - *T. brucei rhodesiense*

**ROS** - Espécies reativas de oxigênio

**SA** - Substância Ativa

**SeNPs** - Nanopartículas de selênio

**SNC** - Sistema Nervoso Central

**SNP** - Sistema Nervoso Periférico

**TiO<sub>2</sub>@Ag** - Prata-dióxido de titânio

**TNF- $\alpha$**  - Fator de necrose tumoral  $\alpha$

**UE** - União Europeia

# I. Introdução

## I.1 Nanotecnologia e Propriedades dos Nanomateriais

Nas últimas décadas, múltiplas áreas científicas, incluindo a indústria farmacêutica, têm beneficiado bastante da introdução da nanotecnologia. Dada a sua crescente implementação e popularidade nas diferentes áreas técnico-científicas, a regulamentação da nanotecnologia tem-se tornado um desafio, particularmente pelo facto de nanossistemas apresentarem propriedades físico-químicas específicas - resultantes da própria escala nanométrica (1). A União Europeia (UE) tem-se focado nestas questões, especialmente em contexto de desenvolvimento farmacêutico de novos fármacos. A definição de nanomaterial recomendada pela Comissão Europeia (CE), refere-se a um material natural, acidental ou manufacturado composto por partículas, em estado agregado ou não, em que pelo menos 50% das partículas apresentam dimensões compreendidas entre 1-100 nm (2).

A aplicação de nanotecnologia para fins medicinais é designada por nanomedicina e define-se como sendo a utilização de nanomateriais em meios de diagnóstico, monitorização, controlo, prevenção ou tratamento de doenças. A nanoescala confere aos nanomateriais propriedades físico-químicas novas, diferentes das já conhecidas e aplicáveis aos produtos químicos convencionais produzidos a granel, que levam a um interesse crescente nesta área, uma vez que proporcionam uma panóplia de oportunidades no desenvolvimento farmacêutico. Em relação à aplicação clínica desta tecnologia, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) define nanofármacos como sistemas desenvolvidos para fins terapêuticos, em que pelo menos um dos componentes se encontra na escala nano, garantindo que as respetivas propriedades e características são reprodutíveis e que incorporam as vantagens clínicas resultantes do processo de nanoengenharia (volume de distribuição, biodisponibilidade, etc.) (1).

Existem três aspetos fundamentais a ter em conta, aquando da caracterização de um nanomaterial ou na avaliação da potencial presença de nanopartículas. A propriedade mais importante a ter em conta é, o tamanho de partícula, uma vez que pode ser facilmente aplicada a uma enorme variedade de materiais. Adotou-se a escala de 1 a 100 nm, como convenção e linha orientadora. No entanto, as propriedades físico-químicas e biológicas características dos nanomateriais não se alteram bruscamente a partir do valor de 100 nm, havendo assim alguma margem de tolerância. A distribuição granulométrica, frequentemente denominada por "*particle size distribution*" (PSD), é um parâmetro largamente utilizado na identificação de nanomateriais, muitas vezes polidispersos, como meio de avaliar o intervalo

de variação de tamanhos inerente a um conjunto de partículas. Para além destes aspetos, há ainda que determinar, sempre que legalmente requerida, a razão da área superficial por volume. Esta razão é tanto maior, quanto mais pequeno o tamanho de partícula, otimizando, assim, a interação da mesma com o meio envolvente. Em relação à composição química, os nanomateriais podem ser classificados como orgânicos, inorgânicos, cristalinos ou amorfos. A forma do nanomaterial é condicionada pelas dimensões relativamente ao comprimento, largura e altura: partículas e pontos quânticos (Qd), quando todas as dimensões se encontram na escala nano; nanotubos ou fibras, para duas dimensões na escala nano; ou nanofilmes, considerando apenas uma dimensão na escala nano. Estes sistemas básicos formam, muitas vezes, aglomerados devido às fortes interações superficiais. Podem ainda, posteriormente, transformar-se em estruturas um pouco mais complexas, como nanomatrizes, nanossuspensões ou nanoemulsões (1).

## **1.2 Importância da Nanomedicina e potenciais Aplicações**

Nas últimas três décadas, o potencial terapêutico da nanotecnologia, na forma de nanomedicamentos e nanossistemas para transporte e entrega de fármacos, tem sido amplamente explorado pelo ramo farmacêutico. Os grandes avanços nesta área tornaram disponíveis várias tecnologias à escala nano, capazes de oferecer soluções únicas, de vanguarda, para o tratamento, diagnóstico e prevenção de doenças. No mercado europeu, os nanomedicamentos apresentam-se sob a forma de nanopartículas, como o caso das partículas poliméricas e nanopartículas lipídicas sólidas (NLS); lipossomas; nanocristais, como os Qds; nanoemulsões; nanoconjugados fármaco-lípido (do inglês, *lipid-drug conjugates*, LDC) e nanocomplexos (3).

A utilização destes nanomedicamentos oferece muitas vantagens, tais como a solubilização de substâncias ativas (SAs) hidrofóbicas, o aumento considerável da biodisponibilidade, a melhoria e possível alteração da farmacocinética das SAs e a proteção das mesmas, evitando a sua degradação tanto a nível físico-químico como biológico (4). Adicionalmente, o pequeno tamanho dos nanomateriais confere-lhes uma área de superfície considerável, o que os torna bastantes reativos e propícios para interagir com o meio envolvente. Para além disso, têm uma forte capacidade de adsorção de biomoléculas, como proteínas, lípidos ou outras, quando em contacto com fluídos biológicos. A escala nano é também responsável pela facilidade com que os nanomedicamentos passam barreiras biológicas, pela sua boa tolerância tecidual e pelos níveis melhorados de captação celular ou *cellular uptake*, essencial em tratamentos em meio intracelular. Estas e outras vantagens,



como a resistência ao *stress* fisiológico e estabilidade biológica melhorada, permitem explorar novas vias terapêuticas mais eficazes e favorecem o uso da via oral para administração de fármacos.

Atualmente, encontram-se em desenvolvimento vários tratamentos e potenciais métodos de diagnóstico, alguns com sucesso comercial, com aplicações em várias doenças, tais como cancro, artrite reumatoide, anemia por deficiência em ferro e doenças infecciosas, incluindo-se nestas últimas as doenças parasitárias (1,3).

## **2. Nanomedicina nas Doenças Parasitárias**

As doenças parasitárias têm uma enorme importância a nível global, uma vez que cerca de 30% da população mundial sofre de parasitoses. Apesar dos recentes avanços feitos na biologia celular, etiologia e fisiopatologia de grande parte destas doenças, o panorama na área da terapêutica não é tão animador. Uma vez que não existem vacinas disponíveis para combater as doenças parasitárias, o tratamento e controlo restringe-se à quimioterapia. Os fármacos convencionalmente usados na terapêutica, apesar de eficazes, apresentam elevada toxicidade e baixa especificidade. Para mais, os regimes terapêuticos são complexos e morosos, com conseqüente baixa adesão à terapêutica. Existe, ainda, o problema emergente das resistências aos agentes antiparasitários e a falta de investimento no desenvolvimento de novos medicamentos, agravando o problema global das doenças parasitárias. Assim, têm-se desenvolvido estratégias de melhoria dos parâmetros de eficácia, toxicidade, tolerância e especificidade dos medicamentos já conhecidos, através do desenvolvimento de novos sistemas de entrega de fármacos, área em que os nanotransportadores se têm mostrado promissores (3).

O *design* e desenvolvimento de um sistema de entrega tem como principal objetivo assegurar a vetorização do fármaco, ou seja, a entrega do agente antiparasitário diretamente ao parasita, com a maior especificidade possível, de modo a aumentar a eficácia e diminuir os efeitos secundários (5). Este processo torna-se ainda mais importante e desafiante, caso o alvo seja um parasita intracelular, o que se observa em várias parasitoses, como na leishmaniose e na doença de Chagas. O nanotransportador responsável pela entrega do fármaco tem de entrar dentro das células infetadas, normalmente macrófagos, através de um processo de fagocitose. Deste modo, o fármaco alcança o meio intracelular numa concentração efetiva, sem grande desperdício, diminuindo a toxicidade e a necessidade de administrar doses elevadas (6).

Na Tabela I, encontram-se descritos os nanossistemas para transporte e entrega de fármacos mais explorados para incorporação, transporte e entrega de fármacos antiparasitários.

**Tabela I-** Vantagens e limitações de diferentes classes de nanotransportadores usados para desenvolvimento de sistemas de entrega de fármacos antiparasitários. (Adaptada de Saleem *et al.*, 2019<sup>6</sup>)

NANOTRANSPORTADOR	VANTAGENS	LIMITAÇÕES
<b>Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)</b>	Proteção do fármaco contra degradação física e química, fácil produção, biocompatibilidade, incorporação.	Baixa capacidade de <i>drug-loading</i> , devido à estrutura cristalina.
<b>Conjugados Fármaco-Lípido (LDC)</b>	Incorporação de doses elevadas de compostos hidrofílicos ( <i>drug-loading</i> ).	Custo de produção, não tão estáveis como os polímeros.
<b>Nanolipossomas</b>	Incorporação de fármacos hidrofílicos e lipofílicos, biocompatibilidade, estabilidade assegurada, aumento tempo de retenção.	Custo elevado de produção, possibilidade de libertação inadequada de fármaco para corrente sanguínea.
<b>Nanopartículas Poliméricas</b>	Biocompatibilidade, estabilidade superior a sistemas lipídicos.	Difícil <i>scale-up</i>
<b>Nanopartículas Metálicas</b>	Atividade antiparasitária, estrutura uniforme, estáveis.	Toxicidade

## 2.1 Nanossistemas Lipídicos

Os nanossistemas lipídicos, quando comparados com outras formulações, são considerados dos sistemas mais seguros para transporte de fármacos. De acordo com os resultados experimentais, estes sistemas de entrega permitem um bom controlo de libertação de fármaco, oferecem uma elevada biodisponibilidade e solubilidade, bem como boa estabilidade e segurança (7).

### 2.1.1 Nanopartículas Lipídicas Sólidas

As Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) são matrizes lipídicas compostas por lípidos biocompatíveis e bem tolerados *in vivo*. Não necessitam de incluir solventes orgânicos aquando da sua produção, o que é uma vantagem em relação a outros tipos de nanossistemas. As matrizes lipídicas são constituídas por gorduras sólidas e ceras que têm como função proteger os princípios ativos incorporados da degradação química e física e modificar o perfil de libertação dos fármacos. Uma das grandes vantagens das NLS é a possibilidade de incorporação tanto de fármacos lipofílicos como hidrofílicos, tratando-se de uma tecnologia polivalente, podendo mesmo ser usada para a incorporação de moléculas

mais sensíveis. Estas nanopartículas possuem um elevado espectro de aplicação, podendo ser utilizadas para administração parentérica, oral, tópica, ocular, retal, entre outras. No entanto, quando comparadas com outros sistemas particulados, apresenta uma baixa capacidade de incorporação de fármacos (do inglês, *drug-loading*), principalmente se hidrofílicos, devido às estruturas cristalinas típicas dos lípidos sólidos. Por esta razão, não serão a escolha mais apropriada sempre que seja necessário integrar uma dose maior de um determinado fármaco (Tabela 1) (8).

### **2.1.2 Conjugados Fármaco-Lípido**

Os Conjugados Fármaco-Lípido (LDC) dão resposta à limitação das NLS, quanto à falta de eficácia na incorporação de doses mais elevadas de certos fármacos, em particular, quando hidrofílicos (Tabela 1). A produção dos LDC começa pela preparação de um conjugado *bulk* lípido-fármaco hidrofóbico, o qual será depois sujeito a um processamento com uma solução aquosa surfactante que, por exposição a alta pressão, passará a um sistema nanoparticulado. Este tipo de formulações torna-se particularmente útil na incorporação de fármacos hidrofílicos para vetorização de fármacos no combate a infeções parasitárias do sistema nervoso central (SNC) (8).

### **2.1.3 Nanolipossomas**

Os nanolipossomas definem-se como nanovesículas esféricas compostas por uma bicamada fosfolipídica e um meio interno aquoso. Estes transportadores permitem a aderência de moléculas tanto hidrofílicas como lipofílicas. Os lipossomas permitem, ainda, uma libertação mais lenta e sustentada das SAs, conduzindo a um aumento do tempo de retenção dos fármacos no organismo (Tabela 1). Assim, será possível garantir uma manutenção das doses terapêuticas de um fármaco, no organismo, com uma menor frequência de administração de novas doses medicamentosas (6).

## **2.2 Nanopartículas Poliméricas**

As nanopartículas poliméricas têm sido amplamente estudadas e definem-se como sendo nanopartículas sólidas coloidais, compostas por uma grande variedade de matrizes poliméricas biocompatíveis, capazes de transportar as moléculas ativas através de processos de adsorção ou de ligações covalentes. Os polímeros como o poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), polialquícianoacrilato (PACA) são muito utilizados para obtenção destas nanopartículas, uma vez que são biocompatíveis e biodegradáveis. No entanto, há também

um uso disseminado de polissacarídeos e macromoléculas, como a albumina, o quitosano e a gelatina, na produção deste tipo de sistemas. À semelhança do que se verifica para os lipossomas, a *performance* das nanopartículas poliméricas também depende do tamanho, composição, concentração e hidrofobicidade das partículas. Não obstante, uma das suas grandes vantagens é o elevado *drug-loading* e grande estabilidade a longo prazo, superior, ainda, à verificada para os nanossistemas lipídicos (5).

### **2.3 Nanopartículas Metálicas**

As partículas metálicas têm vindo a tornar-se uma classe alternativa bastante eficiente para o tratamento de infeções parasitárias. Uma crescente variedade de nanomateriais metálicos compostos por ouro, prata, óxido de zinco, selénio ou óxido de ferro têm mostrado atividade antimicrobiana, sendo, portanto, também bastante explorados como agentes antiparasitários. Estas partículas têm capacidade de desintegrar as membranas parasitárias através de contacto físico, por *stress oxidativo*, na presença de espécies reativas de oxigénio (ROS), ou, ainda, pela libertação de iões. A desintegração ou alteração das membranas parasitárias causam uma conseqüente alteração na permeabilidade, levando a danos celulares irreversíveis. As ROS são, frequentemente, responsáveis por causar danos no ácido desoxirribonucleico (ADN) e na síntese de proteínas, essenciais à vida dos parasitas; enquanto os iões metálicos libertados inibem a atividade enzimática. Assim, esta classe de nanopartículas, além da ação farmacológica proporcionada pelas SAs que transportam, tem também atividade antiparasitária própria. Atualmente, para evitar contaminação química proveniente do fabrico das nanopartículas metálicas, usam-se agentes bioativos, seguros e naturais, obtidos a partir de plantas. Surgem, assim, as nanopartículas metálicas biogénicas. As moléculas bioativas selecionadas a partir de fungos e plantas apresentam atividade antiparasitária e produzem nanopartículas biocompatíveis. Esta nova classe destaca-se por ser mais segura e eficaz no tratamento de determinadas doenças parasitárias (9).

## **3. Doenças parasitárias causadas por Tripanossomatídeos**

Os parasitas tripanossomatídeos são agentes etiológicos de algumas das mais conhecidas e relevantes doenças parasitárias, de importância médica e veterinária, afetando milhões de pessoas todos os anos. As doenças parasitárias causadas por tripanossomatídeos em humanos, como a leishmaniose, doença de Chagas (triplanossomíase americana) e doença do sono (triplanossomíase africana) são consideradas, pela Organização Mundial de Saúde

(OMS), como doenças tropicais negligenciadas de primeira prioridade. Têm sido, por isso, frequentemente alvos das novas aplicações nanotecnológicas, no combate a parasitoses (10).

#### 4. Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença tropical e subtropical causada por um protozoário intracelular do género *Leishmania*, que é transmitido ao ser humano e outros mamíferos por vetores flebotomíneos (conhecidos por mosquito-da-palha) pertencentes aos géneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* (11).

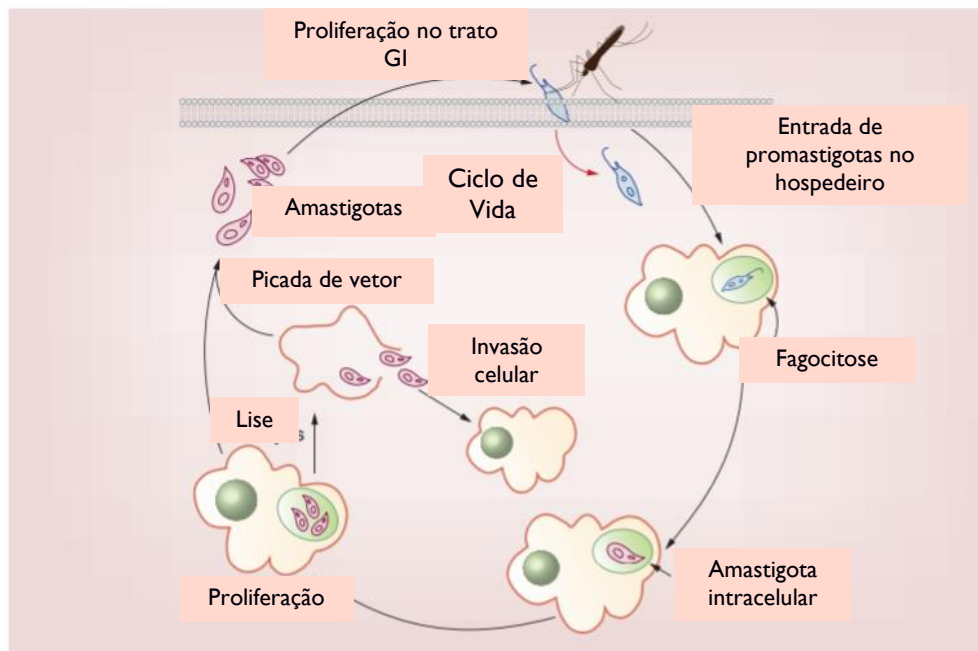
A leishmaniose é considerada pela OMS como uma das sete doenças tropicais com maior relevância, representando um grave problema para a saúde mundial. Esta doença pode apresentar diferentes manifestações clínicas e sintomas e apresenta um elevado índice de mortalidade, contabilizando cerca de 70 000 mortes por ano. Estima-se que 12 a 15 milhões de pessoas estão infetadas e que 350 milhões de indivíduos vivem sob um alto risco de contrair a doença (12).

A doença pode apresentar-se sob três formas clínicas diferentes. A leishmaniose visceral (LV), também conhecida por doença de kala-azar, apresenta uma elevada taxa de mortalidade, se não for tratada. Esta forma leva a manifestações como períodos de febre irregulares, rápida perda de peso, esplenomegalia e hepatomegalia, e, muitas vezes, anemia por supressão da medula óssea. Pacientes imunodeprimidos, infetados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV/SIDA), encontram-se mais predispostos a contrair a LV sendo esta uma doença oportunista. A maioria dos casos de LV registados ocorre no Brasil, Índia e África Oriental. Uma outra forma clínica da doença é a leishmaniose cutânea (LC) simples ou difusa, considerada a forma mais comum de leishmaniose e responsável pelo aparecimento de lesões cutâneas, tais como úlceras, nas zonas da pele expostas à infeção (rosto, braços e pernas). A LC pode deixar marcas permanentes após o desaparecimento da úlcera, mas não representa, normalmente, perigo mortal. Grande parte dos casos reportados ocorre na América Latina, Ásia Central e ao longo da bacia mediterrânica. Por último, existe ainda a leishmaniose mucocutânea (LMC), uma infeção das mucosas, com consequente destruição dos tecidos e cartilagem do nariz, boca e garganta. Esta infeção tem um elevado tempo de latência, o que leva a que as manifestações ocorram anos após a picada e lesão primária. A destruição crónica das mucosas, em particular da nasofaringe, pode conduzir a graves problemas respiratórios e de deglutição, pondo em causa a vida do doente (13, 14).

## 4.1 Ciclo de vida e patogênese

Os vetores biológicos de *Leishmania* pertencem ao gênero *Lutzomyia*, para infecções na América Latina, e ao gênero *Phlebotomus*, para infecções em África, Ásia e Europa. Apenas vetores fêmeas têm capacidade de transmitir os parasitas, uma vez que são hematófagas. As leishmanioses no homem são causadas por mais de 15 espécies de *Leishmania* e, embora apresentem distribuição geográfica diferente e sejam responsáveis por diferentes fenótipos da doença, as espécies são morfologicamente iguais (12).

Os parasitas *Leishmania* possuem ciclos de vida complexos (Figura 1). Para que ocorra a transmissão da infecção, o vetor tem de inocular o parasita na forma de promastigota metacíclico, durante o repasto sanguíneo. Inicialmente, estes promastigotas (forma infectante), são fagocitados por células imunitárias fagocíticas, normalmente macrófagos. Os promastigotas transformam-se na forma de amastigota, que se reproduz assexuadamente, rompem a membrana e invadem novas células fagocíticas vizinhas. A espécie do parasita e a resposta imune do hospedeiro são responsáveis pela evolução da doença para uma das formas clínicas. O ciclo do parasita completa-se quando um vetor adequado volta a alimentar-se do hospedeiro humano, infetando-se com a forma amastigota. Posteriormente, no trato gastrointestinal dos vetores ocorre a diferenciação do amastigota em promastigota, recomeçando o ciclo (13).



**Figura 1:** Ciclo de vida do parasita *Leishmania* spp. (Adaptado de AHMAD, A. et al, 2020 <sup>9</sup>)

## 4.2 Terapêutica convencional

Encontram-se disponíveis vários regimes terapêuticos para o tratamento da leishmaniose, dependendo da forma clínica da leishmaniose.

Os antimônios pentavalentes (complexos de  $Sb^V$ ) são um grupo de compostos quelantes, com ação leishmanicida, usados frequentemente como medicamentos de primeira linha, para o tratamento sistêmico da leishmaniose. No entanto, apresentam elevada toxicidade cardíaca e renal, típicas desta classe. Para além disso, este regime terapêutico tem visto uma gradual diminuição da sua eficácia, pelo surgimento de resistências parasitárias. Este aumento de resistências deve-se, em grande parte, à falta de adesão à terapêutica e a fraca formação de muitos dos técnicos responsáveis pela administração das doses (15).

A miltefosina é o único agente leishmanicida disponível para via oral e está em crescente uso na Índia e África Oriental, para o tratamento da LV. Apesar de não estarem notificados muitos efeitos adversos, à exceção de náusea e vômitos, é um agente teratogénico, não podendo ser utilizado em mulheres grávidas.

A anfotericina B (AmB), um agente antifúngico, também é usada no tratamento da leishmaniose mas é responsável por efeitos adversos, tais como febre, cefaleias, vômitos, anemia e nefrotoxicidade (14, 16). As microformulações lipossômicas de AmB mostraram melhores resultados que a sua administração convencional.

A paromomicina pertence à classe dos antibióticos aminoglicosídeos e é usada no tratamento da LV e da LC (15). Há ainda fármacos como a pentamidina, para o tratamento da LC, conhecido pela sua estreita margem terapêutica e por possuir elevada toxicidade renal, hepática e auricular, e o imiquimod, um quimioterápico, usado em regimes de associação no tratamento da LC recorrente (14).

Salientar, ainda, que à exceção da miltefosina, estes fármacos são administrados por vias parentéricas, intramuscular e intravenosa, o que associado à elevada toxicidade, leva a uma crescente falta de adesão à terapêutica (15).

## 4.3 Nanotecnologia no tratamento da Leishmaniose

A quimioterapia convencional disponível atualmente apresenta várias limitações, já mencionadas, como toxicidade, custo elevado e regimes terapêuticos complexos com consequente baixa adesão por parte dos doentes. Assim, os estudos recentes na área da nanotecnologia têm como principal objetivo facilitar a entrega e disponibilização dos

fármacos na dose terapêutica efetiva. Na leishmaniose, é necessário entregar o agente antiparasitário aos macrófagos, onde se encontra o parasita fagocitado, diretamente no vacúolo parasitóforo (microhabitat do parasita) (11).

### **4.3.1 Nanopartículas Poliméricas**

As nanopartículas poliméricas têm sido bastante destacadas em estudos clínicos para o tratamento da leishmaniose. A seleção dos polímeros tem de ter em conta o facto de compostos hidrofóbicos serem mais facilmente incorporados pelos macrófagos. As nanopartículas compostas por poli(metil metacrilato) (PMMA) e por PACA são bastantes utilizadas, principalmente as PMMA, por serem facilmente detetados e incorporados pelos macrófagos. Os efeitos das nanopartículas de PMMA com pentamidina foram estudados *in vitro* e *in vivo*, em macrófagos infetados com *Leishmania* e conclui-se que o PMMA estabilizou a pentamidina no meio intracelular, melhorando a eficácia do fármaco. A pentamidina em nanopartícula mostrou-se 25 vezes mais eficaz do que por administração convencional, tendo reduzido a carga parasitária hepática e a toxicidade normalmente associada ao fármaco (3).

O polímero de PLGA foi usado na produção de nanopartículas carregadas de AmB. Foi avaliada a eficácia do sistema, para o tratamento da LC, onde se provou ser muito mais eficaz do que o uso de AmB isolada (11). Para além disso, conseguiu-se reduzir a frequência de administração de doses, permitindo atingir o mesmo resultado terapêutico que o regime convencional. Outro estudo semelhante corroborou estes resultados e teve ainda como *outcome* a diminuição da toxicidade associada à AmB (17). Resultados semelhantes foram obtidos quando a AmB é incorporada em nanopartículas de quitosano, um polímero natural, com resíduos de manose ancorados (18). Estes nanotransportadores têm-se mostrado bastante seguros e é uma subclasse de sistemas de entrega promissores.

### **4.3.2 Nanossistemas Lipídicos**

Até à data, um dos maiores sucessos da utilização de nanossistemas lipídicos no tratamento é a formulação lipossomal de AmB, capaz de reduzir em larga escala os efeitos adversos da AmB.

A AmB lipossomal é a única nanotecnologia atualmente disponível no mercado, sob o nome patentado AmBisome<sup>®</sup>, e é o tratamento disponibilizado para a leishmaniose com



melhor relação custo-eficácia. Atualmente, esta tecnologia está a ser avaliada para a incorporação de outros fármacos, como a miltefosina e a paromomicina (6, 19).

No entanto, há ainda outras formulações a suscitar interesse clínico, como é o caso da produção de NLS, para a entrega de paromomicina. Este sistema tem-se mostrado seguro e eficaz, potenciando a atividade antiparasitária da paromomicina, bem como a estimulação do próprio sistema imunitário, resultando, assim, num melhor *outcome* clínico (19). Tanto em estudos de associação com a paromomicina como com a AmB, as NLS provaram ter um papel fundamental na ativação do próprio sistema imunitário, através da estimulação dos macrófagos e aumento da produção de citocinas, tais como a interleucina 12 (IL-12) e o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) (19, 20).

As NLS, entre as suas várias qualidades, têm a vantagem de serem facilmente produzidas, o que desperta o elevado interesse por parte da indústria farmacêutica (4).

### 4.3.3 Nanopartículas Metálicas Biogénicas

Os fungos e plantas são capazes de biossintetizar nanopartículas através de átomos metálicos. Os fungos, em particular fungos filamentosos marinhos, produzem enzimas redutases capazes de reduzir metais encontrados no meio envolvente, levando à formação das nanopartículas. Também as plantas têm vindo a demonstrar mecanismos semelhantes para a produção de nanopartículas metálicas, embora estudos se encontrem ainda numa fase precoce (21).

Adicionalmente, é possível complementar a ação das nanopartículas com a adição de compostos vegetais extraídos de plantas, criando, assim, sistemas terapêuticos mais completos e eficazes. Entre estes compostos, destacam-se, por exemplo, os pertencentes às classes dos fenóis e terpenos, que possuem atividade contra o parasita *Leishmania*. Na classe dos fenóis, destacam-se a quercetina e a luteolina (flavonóides) com capacidade de inibir a síntese de ADN do parasita. O linalol, um monoterpene, induz a produção de óxido nítrico em macrófagos infetados, resultando na morte do parasita (9).

As nanopartículas metálicas, por si só, apresentam mecanismos antiparasitários inerentes aos próprios metais que as compõem, como já referido anteriormente. Um dos mecanismos mais importantes é o controlo do sistema tripanotiona/tripantotiona redutase, vital para o metabolismo redox do parasita. Foi reportado que nanopartículas de prata carregadas de ferritina apresentam capacidade de inibir a enzima deste sistema, no parasita

*Leishmania* (22). Outros metais como o zinco e cobalto também têm demonstrado capacidade de inibir vias metabólicas essenciais do parasita, inibindo a sua proliferação (9).

As nanopartículas de selênio (SeNPs) representam uma nova classe promissora uma vez que apresenta bons resultados no tratamento da leishmaniose. As SeNPs inibem o desenvolvimento do parasita, *in vitro* e *in vivo*, por fragmentação do ADN (9). Um dos aspetos que torna esta classe de nanopartículas tão cativante é a biocompatibilidade e ausência de toxicidade, quando em contacto com células não infetadas, tornando-as um sistema eficaz e, acima de tudo, seguro, para entrega de fármacos. A associação das SeNPs com antimoniato de meglumina (um antimónio pentavalente), mostra resultados promissores no controlo da proliferação parasitária, de *Leishmania tropica*, mesmo quando em presença de estirpes resistentes à terapêutica convencional (9).

Nanopartículas compostas por metais nobres, nomeadamente ouro (Au) e prata (Ag), têm tido um papel de destaque, na biossíntese de nanopartículas biogénicas, e podem ser também sintetizadas com base em extratos aquosos de plantas medicinais. O estudo *in vivo* de nanopartículas de prata, produzidas com auxílio do fungo *Fusarium oxysporum*, demonstrou uma eficácia semelhante a 300 doses terapêuticas de AmB, na LC (23). Demonstrou-se que esta atividade resultou de uma associação sinérgica entre a ação dos iões prata e a atividade antiparasitária de compostos fitoquímicos presentes no fungo (23). Nanopartículas de prata podem ser combinadas com fármacos, de modo a melhorar a atividade antiparasitária e diminuir a toxicidade inerente aos fármacos (24).

Os nanocompostos de prata-dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>@Ag) são uma descoberta mais recente e mostram ser biologicamente mais ativos, quando expostos à luz. Um estudo em células infetadas por *L. tropica* e *L. Infantum*, estas nanopartículas apresentaram uma atividade 10 vezes superior quando expostas a radiação visível, ativando a produção de ROS (25). Nanopartículas de TiO<sub>2</sub>@Ag combinadas com óleo de *Nigella sativa*, planta conhecida por 'cominho negro', mostrou ser uma associação estratégica no combate à LC (26). A formulação reúne a atividade dos iões metálicos e das moléculas bioativas usadas durante a síntese com os compostos fitoquímicos presentes no óleo. Os compostos do óleo são responsáveis pela disrupção membranar, facilitando a passagem das nanopartículas para o interior (26).

Nanopartículas de ouro foram desenvolvidas a partir de extratos da planta medicinal *Maytenus royleanus* e apresentaram atividade em promastigotas de *L. tropica* (27).

Ainda mais recentemente, uma nova classe de agentes contra a leishmaniose está a suscitar interesse crescente: as nanopartículas de óxido de ferro (9). O desafio atual passa pela obtenção de nanopartículas seguras e estáveis, através do processo de biossíntese. É importante notar que, independentemente do tipo de metal usado, grande parte do desempenho destas nanopartículas depende também do tipo de biomoléculas e fitoquímicos utilizados, de modo a formar uma associação vantajosa com bons *outcomes* clínicos.

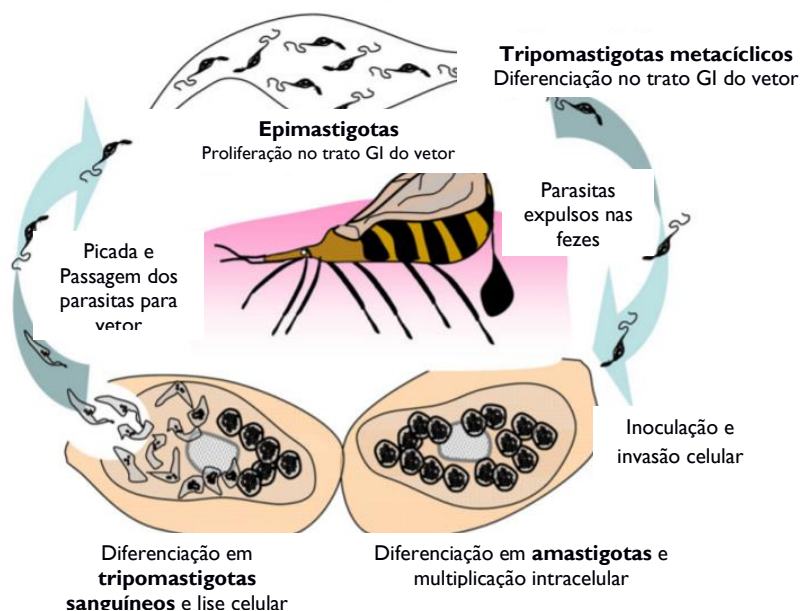
Deve ser realçado o facto de que todas as nanopartículas metálicas mostram melhor desempenho na presença de irradiação ultravioleta (UV), principalmente as partículas à base de prata (24).

## 5. Tripanossomíase Americana

A tripanossomíase americana, conhecida por doença de Chagas, é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. De acordo com a OMS, 5 a 8 milhões de pessoas estão infetadas. Apesar de ser uma doença endémica da América Latina, a infeção tem se vindo a alastrar para diferentes regiões do globo, tais como os EUA e o Japão, devido aos efeitos migratórios (28). O parasita é transmitido por insetos vetores, à semelhança do observado para a leishmaniose. No entanto, o vetor biológico, neste caso, pertence aos géneros *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus* e a transmissão ocorre maioritariamente devido ao contacto com excrementos deste inseto embora seja também possível por transfusão sanguínea, transplante de órgãos ou por transmissão congénita. A doença de Chagas apresenta três estádios diferentes. A fase aguda ocorre logo após a inoculação do parasita, podendo conduzir a febre e inflamação da zona da picada, podendo durar algumas semanas. No entanto, é normalmente controlada pelo sistema imunitário do hospedeiro. Com o desaparecimento dos primeiros sintomas, a doença evolui para uma fase indeterminada, caracterizada pela contínua reprodução parasitária e infeção celular. Este estágio poder prolongar-se por décadas, sem quaisquer sintomas aparentes, sendo bastante difícil fazer um diagnóstico adequado. Uma grande parte dos doentes infetados acaba por desenvolver a forma crónica da doença na qual a forma intracelular dos parasitas provoca danos irreversíveis nos tecidos de órgãos importantes, como o esófago, cólon e coração. Na fase crónica, a taxa de mortalidade aumenta, devidos às complicações que surgem, como cardiomiopatias severas (6, 19).

## 5.1 Ciclo de Vida e Patogênese

O ciclo biológico do parasita responsável pela doença de Chagas compreende três fases morfológicas distintas: tripomastigotas, amastigotas e epimastigotas (Figura 2). Os tripomastigotas metacíclicos, expulsos nas fezes dos insetos vetores, são inoculados no hospedeiro e invadem as células fagocíticas. Esta forma, já no meio intracelular, dá origem aos amastigotas, que se reproduzem assexuadamente nas células hospedeiras, acabando por levar à sua lise. Os amastigotas têm a capacidade de se diferenciar em novos tripomastigotas e, posteriormente, alcançar a corrente sanguínea (tripomastigotas sanguíneos). Quando um novo vetor consome sangue do hospedeiro humano infetado, é infetado pelos tripomastigotas em circulação. É no intestino do vetor que esta forma se volta a diferenciar e produz epimastigotas e, posteriormente, novos tripomastigotas metacíclicos, formas infantantes para o homem (29, 30).



**Figura 2:** Ciclo de vida do parasita *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, envolvendo três formas morfológicamente distintas: tripomastigotas, amastigotas e epimastigotas. (Adaptado de Romero & Morilla, 2010<sup>29</sup>)

## 5.2 Terapêutica convencional

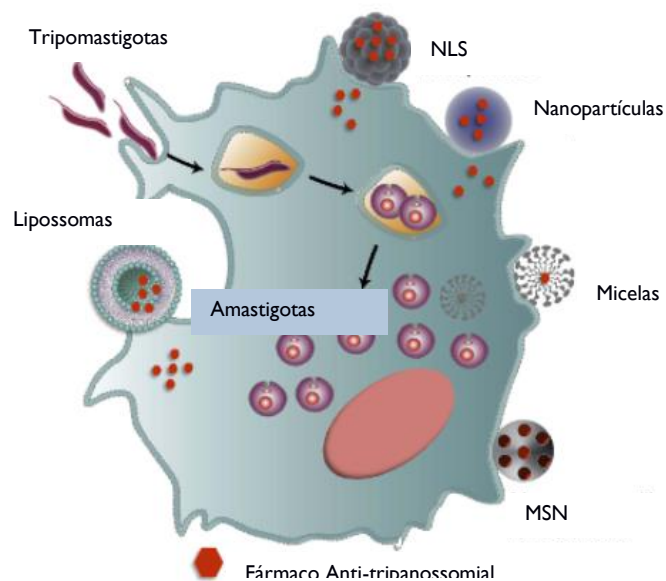
Atualmente, os regimes terapêuticos disponíveis para a doença de Chagas têm por base a utilização de dois medicamentos, o nifurtimox (NFX) e o benznidazol (BZN), presentes na Lista de Medicamentos Essenciais da OMS. Ambos apresentam boa atividade antiparasitária, variando um pouco em função da estirpe e da fase clínica em que se encontra o doente, uma vez que ocorre diminuição considerável da eficácia terapêutica durante a fase crônica. Tal como acontece para a generalidade dos agentes antiparasitários, estes

medicamentos apresentam efeitos adversos significativos, maioritariamente a perda de peso, náuseas, sonolência ou excitação do sistema nervoso. A terapia com NFX necessita de monitorização contínua e não deve ser mantida durante longos períodos de tempo, devido à sua interação com funções vitais tanto do SNC e Sistema Nervoso Periférico (SNP), como do trato gastrointestinal. Em relação ao BZN, este medicamento tem a vantagem de ser administrado por via oral e apresentar atividade contra diferentes estirpes. A administração de BZN resulta, frequentemente, em reações neurológicas e gastrointestinais indesejáveis, bem como reações de hipersensibilidade (19, 30).

O grande desafio da doença de Chagas é desenvolver sistemas que permitam que os fármacos alcancem o ambiente intracelular dos parasitas. Nenhum dos fármacos utilizados atualmente possui esta capacidade. Como consequência, observa-se uma acumulação excessiva destes fármacos na corrente sanguínea, resultando em níveis elevados de toxicidade, responsáveis por muitos dos efeitos adversos mencionados (29).

### **5.3 Nanotecnologia no tratamento da Tripanossomíase Americana**

A nanomedicina tem-se focado na doença de Chagas, à semelhança do que vem a ser feito para a leishmaniose, com o objetivo de desenvolver técnicas que solucionem os problemas da quimioterapia convencional. Até à data, têm sido apresentados resultados promissores, podendo ser uma alternativa para o combate de resistências aos medicamentos. O uso de nanotransportadores encontra-se em estudo para administração de NFX e BZN, como nanotransportadores de sílica mesoporosa (do inglês *mesoporous silica nanoparticles*, MSN), lipossomas, micelas e NSLs. As MSN têm sido consideradas para os tratamentos, uma vez que permitem atingir facilmente a porosidade desejada e, à semelhança de outros sistemas, permitem ajustar a sua composição de superfície, de modo a favorecer a vetorização. Estes nanossistemas facilitam a entrada do fármaco no meio intracelular, para atuação direta no ciclo do parasita (Figura 3) (29).



**Figura 3-** Nanotransportadores em estudo para aplicação ao tratamento da doença de Chagas. A maior facilidade de fagocitose e o consequente aumento de captação celular permite uma vetorização mais precisa e a atuação direta no ciclo reprodutivo dos parasitas (Adaptada de Quezada *et al.*, 2019<sup>28</sup>)

### 5.3.1 Nanoformulações de Nifurtimox

A atividade terapêutica dos fármacos tende a aumentar quando estes são incorporados em nanossistemas para transporte e entrega, em particular, nanopartículas poliméricas, o que é devido, em grande parte, ao aumento da vetorização e a um tempo de retenção intracelular mais elevado.

Nanopartículas poliméricas de NFX mostraram maior atividade farmacológica, quando comparadas com a atividade de NFX isolado. A atividade é dose-dependente, assim, em concentrações superiores, observa-se um aumento da lise parasitária tanto pela ação das nanopartículas poliméricas de NFX como pela ação das nanopartículas não carregadas (31).

Nanopartículas poliméricas PACA demonstraram ação própria contra os tripanossomas, quando administradas sem a presença de NFX. A degradação de PACA em formaldeído poderá explicar o mecanismo antiparasitário, uma vez que se trata de um produto tóxico para o protozoário. Assim, tendo em conta estas características, as nanopartículas poliméricas constituem uma classe em estudo, com o objetivo de melhorar o processo de encapsulação, bem como estudar os potenciais efeitos tóxicos dos polímeros (32).

### 5. 3.2 Nanoformulações de Benznidazol

O *design* de nanopartículas para transporte de BZN tem-se focado na classe das nanopartículas metálicas. Nanocomplexos BZN-ruténio têm demonstrado bons resultados no combate à doença de Chagas (31).

Por outro lado, a encapsulação das nanopartículas poliméricas de BZN promove a alteração das propriedades de superfície das partículas, e favorece a passagem por barreiras biológicas, sendo possível chegar mais facilmente ao meio intracelular pretendido. Nanopartículas de BZN encapsuladas com Eudragit<sup>®</sup>, uma gama de polímeros para revestimentos de formas orais, demonstraram ser mais estáveis e com um melhor efeito terapêutico. O revestimento com Eudragit<sup>®</sup> modifica o perfil de libertação das SAs.

Para além deste processo de encapsulação, há ainda um crescente interesse em nanopartículas de sílica mesoporosa revestidas por quitosano. A sílica garante boa estabilidade e biocompatibilidade da nanopartícula e o quitosano é responsável por modificar a libertação da molécula ativa, em meio fisiológico. Com esta modificação observou-se um *uptake* de BZN superior, em relação aos tratamentos convencionais, mesmo quando em doses baixas (33).

Formulações lipossomais podem também representar uma classe promissora de nanomateriais para o transporte de BZN (28).

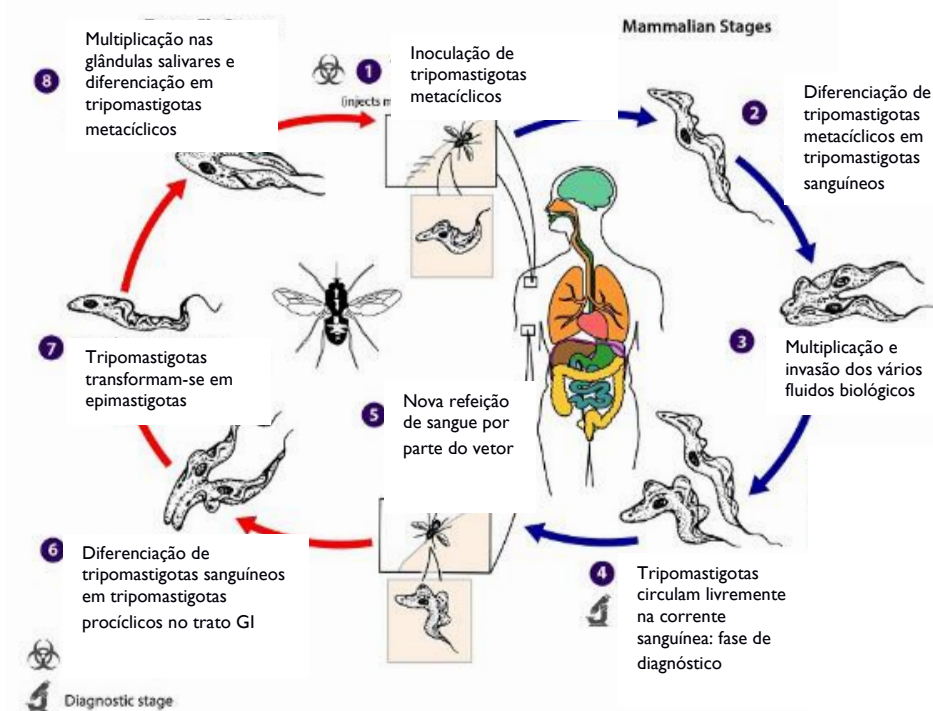
## 6. Tripanossomíase Africana

A tripanossomíase africana (HAT), também conhecida por doença do sono, é causada pelas duas subespécies de *Trypanosoma brucei* (*T.b. gambiense* e *T.b. rhodesiense*), transmitidos ao ser humano pela mosca tsé-tsé (*Glossina* spp.) (34). O agente *T. brucei gambiense* (gHAT) encontra-se distribuído pela África Ocidental e é responsável por uma infeção mais leve. O agente *T. brucei rhodesiense* (rHAT), endémico na África Oriental, provoca uma forma mais grave da doença, comprometendo o SNC, praticamente desde o início (6). Este agente é transmitido por uma picada dolorosa do vetor, deixando uma lesão bem visível, ao contrário do observado com o parasita gHAT.

A doença do sono é caracterizada por cefaleias, irritabilidade, fadiga, sonolência, entre outros. O comprometimento do SNC acaba por promover um progressivo estado de confusão, alterações de personalidade e problemas neurológicos severos, sendo, muitas vezes, fatal (35).

## 6.1 Ciclo de vida e patogênese

O ciclo de vida de *Trypanosoma brucei* apresenta apenas formas extracelulares. A mosca infetada inocula os tripomastigotas metacíclicos, que invadem o sistema linfático do hospedeiro, passando posteriormente para a corrente sanguínea (Figura 4). No sangue ocorre diferenciação dos parasitas em tripomastigotas sanguíneos que são levados pela circulação para outros locais, chegando a outros líquidos biológicos, tais como o líquido cefalorraquidiano (LCR) onde continuam a replicação por divisão binária. A mosca tsé-tsé infeta-se quando ingere tripomastigotas durante uma refeição de sangue num hospedeiro infetado. No estômago do vetor ocorre a diferenciação em tripomastigotas procíclicos que se multiplicam por divisão binária, libertando-se do estômago e, posteriormente, transformando-se em epimastigotas. Estas formas alcançam as glândulas salivares onde se multiplicam e se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos, formas infetantes para o ser humano (36).



**Figura 4-** Ciclo de vida do parasita *Trypanosoma brucei* (Adaptado de *Center for Disease Control and Prevention* <sup>35</sup>)

A infecção apresenta um estadiu inicial denominado por estadiu hemolinfático, que ocorre com a entrada do parasita na corrente sanguínea e linfática, seguido da invasão do líquido intersticial de diferentes órgãos, incluindo, muitas vezes, o miocárdio. Num segundo estadiu, denominado de estadiu meningoencefálico, ocorre a invasão e subsequente comprometimento do SNC. Esta última fase da doença leva ao agravamento exponencial da condição do doente, sendo fatal em muitos dos casos (33).



## **6.2 Terapêutica convencional**

Dependendo das subespécies, a OMS recomenda o uso de diferentes medicamentos, para o tratamento da infecção. Os compostos aprovados são a pentamidina, suramina e eflornitina, para o estadiu hemolinfático; e melarsoprol, associação eflornitina-NFX e fexinidazole, para ambos os estadios, sendo, frequentemente, reservados para o estadiu meningoencefálico (estado de doença avançado) (34).

A pentamidina está indicada no tratamento precoce da gHAT. No entanto, possui vários efeitos adversos como alteração da homeostase da glicose, hipotensão e leucopenia. Para além disso, não apresenta atividade na fase meningoencefálica, uma vez que não consegue passar a barreira hematoencefálica (BHE) (36).

A suramina é um dos fármacos mais antigos e continua a ser utilizada no tratamento precoce da rHAT; é responsável por efeitos adversos como urticária, nefrotoxicidade e náusea.

Em fases mais avançadas da doença, um dos compostos mais utilizados é o melarsoprol, um derivado arsénico com níveis de toxicidade muito elevados, causando síndrome encefalopática grave, associada a uma elevada taxa de mortalidade.

A eflornitina apresenta uma menor toxicidade, mas apresenta, no entanto, uma baixa biodisponibilidade oral e é apenas eficaz na gHAT. A sua associação com NFX melhora levemente a eficácia, uma vez que o NFX é um agente com eficácia comprovada nos diferentes estadios.

O fexinidazole é o único medicamento aprovado para a via oral e possui eficácia para a gHAT, conseguindo atravessar a BHE (35, 36).

## **6.3 Nanotecnologia no tratamento da Tripanossomíase Africana**

A utilização de nanotecnologia é fundamental para diminuir a toxicidade associada ao uso dos medicamentos antiparasitários e promover a biodisponibilidade oral adequada para administrações mais simples, seguras e eficazes. Existe ainda um novo desafio em relação a esta infecção em particular, que é o de promover a passagem dos fármacos através da BHE, em concentrações suficientes e sem pôr em causa o normal funcionamento do SNC (36, 37).

### **6.3.1 Nanossistemas Lipídicos**

A pentamidina é ineficaz na fase meningoencefálica porque não atravessa a BHE. Para resolver este problema, foi estudada a permeabilidade de nanolipossomas de pentamidina, em relação à BHE, em células de rato. Foi demonstrado que os lipossomas facilitam o transporte do fármaco, através da BHE. Deste modo, os lipossomas são transportadores de pentamidina com potencial aplicação ao tratamento de situações agravadas da doença, nomeadamente, no estadio meningoencefálico (6). Também as NLS se encontram em fase de estudo, apesar de numa etapa mais precoce, para o desenvolvimento de nanopartículas que transportem a associação terapêutica eflornitina-nifurtimox. Há expectativas altas para estes tipos de sistemas, uma vez que têm a capacidade de aumentar substancialmente a atividade farmacológica dos compostos (37).

### **6.3.2 Nanopartículas Poliméricas**

A pentamidina tem sido o fármaco mais utilizado no desenvolvimento de partículas poliméricas para o tratamento da HTA. Por exemplo, nanopartículas de metacrilato carregadas com pentamidina, para além de apresentarem uma eficácia 6 vezes superior ao fármaco livre, também induziram baixos níveis de toxicidade. Adicionalmente, a modulação da superfície de nanopartículas poliméricas através da adição de polietilenoglicol (PEG) tem demonstrado ser capaz de repor a atividade da pentamidina no tratamento de estirpes resistentes a regimes terapêuticos com o fármaco livre. O PEG trata-se de um polímero hidrofílico bastante flexível que, quando adicionado à superfície das partículas, atua como barreira protetora dos nanossistemas e conduz à repulsão de proteínas plasmáticas. Assim, a ligação a opsoninas (proteínas promotoras da fagocitose) encontra-se diminuta, levando à prolongação das nanopartículas na corrente sanguínea (38). As nanopartículas de quitosano-PEG carregadas de pentamidina e revestidas por nanocorpos (fragmentos de anticorpos) constituem um método eficaz de vetorização de fármacos para o parasita. Os nanocorpos têm como alvo os recetores de superfície do parasita e as nanopartículas entram, por endocitose, no sistema do mesmo (37).

## 7. Nanodiagnóstico aplicado a doenças causadas por tripanossomatídeos

A nanotecnologia tem ainda suscitado interesse no âmbito do diagnóstico de doenças causadas por tripanossomatídeos, um passo fundamental para o controlo destas infeções.

Apesar de existirem métodos convencionais à disposição, tais como os métodos serológicos, grande parte deles são incapazes de distinguir infeções recentes de infeções controladas após terapia, bem como diferenciar as diferentes fases (aguda ou crónica) de uma infeção.

Os métodos de nanodiagnóstico têm como base a utilização de nanossistemas para transporte e entrega, como o caso de nanopartículas metálicas, poliméricas, Qds ou nanopartículas lipídicas e têm mostrado bons *outcomes in vivo* (39).

A utilização de nanobiossensores construídos com base em nanopartículas são um bom exemplo de um método de diagnóstico eficaz, rápido e de razoável custo. Biossensores definem-se como dispositivos analíticos capazes de converter eventos bioquímicos em sinais passíveis de serem medidos, permitindo a quantificação dos agentes parasitários. Possuem à sua superfície sondas (ADN, ARN, proteínas ou anticorpos) que se ligam aos analitos desejados, ocorrendo, assim, a sua deteção. Um dos aspetos que torna o nanodiagnóstico com biossensores mais vantajoso é a possibilidade de se recorrer a diferentes fluídos biológicos, como o sangue, saliva ou urina, tornando mais fácil a monitorização da eficácia dos tratamentos. Este método, em comparação com testes convencionais usados, apresenta maior facilidade de execução, requer menos volume de amostra e permite uma deteção mais rápida, em tempo real (28, 39, 40).

## 8. Conclusão

Os nanomateriais e os sistemas farmacêuticos à escala nano constituem uma das mais recentes abordagens no combate a doenças parasitárias, como as causadas por tripanossomatídeos, que tanto prejudicam e influenciam as vidas de milhões de pessoas, todos os anos (10).

O desenvolvimento da nanotecnologia aparece como um método inovador e eficaz para melhorar a atividade terapêutica dos fármacos convencionalmente usados nestas infeções, contornar os problemas farmacocinéticos, de toxicidade e de resistências.

Atualmente, realizam-se inúmeros estudos envolvendo diferentes classes de nanomateriais com o objetivo de formular nanossistemas de entrega de fármacos com potencial clínico (6). Os nanossistemas de entrega de fármacos permitem conferir aos fármacos convencionais as propriedades vantajosas dos nanomateriais, como o aumento da solubilidade, a capacidade de atravessar barreiras biológicas e a possibilidade de vetorização. São estas propriedades as responsáveis pela manutenção das doses terapêuticas nos locais de ação, assegurando mais eficácia e menos toxicidade associada (41).

Para além do observado no campo do tratamento, também tem ocorrido avanços na área do diagnóstico deste tipo de infeções, uma vez que a modulação superficial de nanopartículas permite a incorporação de sondas, formando os nanobiossensores. Este método poderá estar na base de testes de deteção de analitos mais precisos e sensíveis (39).

É importante salientar, por outro lado, a importância da segurança e da produção sustentável deste tipo de sistemas. O uso e aplicação de nanotecnologia constitui ainda uma área recente, sendo necessário proceder à sua regulação adequada, com base nas diferentes propriedades dos nanomateriais. Apesar de, até hoje, terem sido observados bons resultados de estabilidade e segurança, há ainda algumas incertezas quanto à possível toxicidade de certos materiais e à extensão com que podem influenciar aspetos da farmacocinética de fármacos. Será também necessário proceder à otimização dos processos de produção e *scale-up*, bastante complexos e de alto custo (1, 42).

## 9. Bibliografia

- (1) SOARES, S., SOUSA, J., PAIS, A., VITORINO C.- **Nanomedicine: Principles, Properties, and Regulatory Issues**. *Frontiers in Chemistry*, 360, 6 (2018). doi: 10.3389/fchem.2018.00360
- (2) European Chemicals Agency- **Regulamento REACH: Nanomateriais**. [Acedido a 17 de maio de 2021]. Disponível na Internet: <https://echa.europa.eu/pt/regulations/nanomaterials>
- (3) DATE, A., JOSHI, M., PATRAVALE, V.- **Parasitic diseases: Liposomes and polymeric nanoparticles versus lipid nanoparticles**. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Elsevier, 59 (2007) 505–521 . doi:10.1016/j.addr.2007.04.009
- (4) NAFARI, A., CHERAGHIPOUR, K., SEPAHVAND, M., SHAHROKHI, G., GABAL, E., MAHMOUDVAND, H. - **Nanoparticles: New agents toward treatment of leishmaniasis**. *Parasite Epidemiology and Control*, Elsevier (2020). doi: 10.1016/j.parepi.2020.e00156
- (5) KAYSER, O., KIDERLEN, A. - **Delivery strategies for antiparasitics**. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 12, 2 (2003), 197-207. doi: 10.1517/13543784.12.2.197
- (6) SALEEM, K., KHURSHEED, Z., HANO, C., ANJUM, I., ANJUM, S. - **Applications of Nanomaterials in Leishmaniasis :A focus on recent advances and challenges**. *MDPI*, 9, 1749 (2019). doi: 10.3390/nano9121749
- (7) MURACA, G., BERTI, I., SBARAGLINI, M., FÁVARO, W., DURÁN, N., CASTRO, G., TALEVI, A. - **Trypanosomatid-Caused Conditions: State of the Art of Therapeutics and Potential Applications of Lipid-Based Nanocarriers**. *Frontiers in Chemistry*, 8, 601151 (2020). doi: 10.3389/fchem.2020.601151
- (8) ATTAMA, A., MOMOH, M., BUILDERS, P. - **Lipid nanoparticulate drug delivery systems: A revolution in dosage form design and development**. In: *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*, InTechOpen (2012). ISBN: 9789535142683, 107-140
- (9) AHMAD, A., ULLAH, S., TAHIR, K., KHAN, A., YUAN, Q. - **Biogenic metal nanoparticles as a potencial class of antileishmanial agents: mechanisms and molecular targets**. *Nanomedicine (London)*, 15, 8(2020), 809-828. doi: 10.2217/NNM-2019-0413
- (10) FIELD, M., HORN, D., FAIRLAMB, A., FERGUSON, M., GRAY, D., READ, K., RYCKER, M., TORRIE, L., WYATT, P., WYLLIE, S., GILBERT, I. - **Anti-trypanosomatid drug discovery: an ongoing challenge and a continuing need**. Springer Nature Limited, 15 (2017), 2017-231. doi: 10.1038/nrmicro.2016.193
- (11) AKBARI, M., ORYAN, A., HATAM, G. - **Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis: A review**. *Acta tropica*, 172 (2017), 86-90. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.04.029

- (12) GUERRERO, E., QUINTANILLA-CEDILLO, M., RUIZ-ESMENJAUD, J., ARENAS, R. - **Leishmaniasis: a Review** (Version1). *F1000Research*, 6, 750(2017). doi: 10.12688/f1000research.11120.1
- (13) World Health Organization- **Fact sheets: Leishmaniasis**, (2021). [Acedido a 21 de junho de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
- (14) MCGWIRE, B., SATOSKAR, A. - **Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment**. Oxford University Press, 107 (2013), 7-14. doi: 10.1093/qjmed/hct116
- (15) PONTE-SUCRE, A., GAMARRO, F., DUJARDIN, J., BARETT, M., LÓPEZ-VÉLEZ, R., GARCÍA-HERNANDEZ, R., POUNTAIN, A., MWENECHANYA, R., PAPADOPOULOU, B. - **Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: a 21<sup>st</sup> century challenge**. *PLoS Neglected tropical diseases*, 11, 12(2017). doi: 10.1371/journal.pntd.0006052
- (16) VYAS, S., GUPTA, S. - **Optimizing efficacy of amphotericin B through nanomodification**. *International journal of nanomedicine*, Dove Medical Press Limited, 1, 4 (2006), 417-432. doi: 10.2147/nano.2006.1.4.417
- (17) AMMAR, A., NASEREDDIN, A., EREQAT, S., DAN-GOOR, M., JAFFE, C., ZUSSMAN, E., ABDEEN, Z. - **Amphotericin B-loaded nanoparticles for local treatment of cutaneous leishmaniasis**. *Drug delivery and Translational research*, 9, 1(2018), 76-84. doi: 10.1007/S13346-018-00603-0
- (18) CHAUBEY, P., MISHRA, B. - **Mannose-conjugated chitosan nanoparticles loaded with rifampicin for the treatment of visceral leishmaniasis**. *Carbohydrate Polymers*, 101(2014), 1101-1108. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.044
- (19) SOUTO, E., FERREIRA, J., CRAVEIRO, S., SEVERINO, P., LOPEZ, E., GARCIA, M., SILVA, A., SOUTO, S., MAHANT, S. - **Therapeutic Interventions for Countering Leishmaniasis and Chagas' Disease: From Traditional Sources to Nanotechnological Systems**. *Pathogens*, 8, 119(2019). doi:10.3390/pathogens8030119
- (20) JAIN, V., PAWAR, V., ASTHANA, S., JAISWAL, A., DUBE, A., CHOURASIA, M. - **Chitosan-Assisted Immunotherapy for Intervention of Experimental Leishmaniasis via Amphotericin B-Loaded Solid Lipid Nanoparticles**. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Springer, 174, 4(2014), 1309-1330. doi: 10.1007/S12010-014-1084-Y
- (21) GADE, A., BONDE, P., INGLE, A. P., MARCATO, P. D., DURÁN, N., RAI, M. K., - **Exploitation of *Aspergillus niger* for Synthesis of Silver Nanoparticles**. *J. Biobases Mat. Bioenerg*, 2 (2008), 243-247. doi: 10.1166/jbmb.2008.401
- (22) BAIOTTO, P., ILARI, A., CECI, P., ORSINI, S., GRAMICCIA, M., DI MUCCIO, T., COLOTTI, G. - **Inhibitory Effect of Silver Nanoparticles on Trypanothione Reductase Activity and**

**Leishmania infantum Proliferation.** ACS Medical Chemistry Letters, 2, 3(2011), 230-233. doi: 10.1021/ml1002629

(23) ROSSI-BERGAMANN, B., PACIENZA-LIMA, W., MARCATO, P., DE CONTI, R., DURÁN, N. - **Therapeutic potencial of biogenic silver nanoparticles in murine cutaneous leishmaniasis.** Journal of NanoResearch, 20(2012), 89-97. doi: 10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/JNANOR.20.89

(24) ALLAHVERDIYEV, A., ABAMOR, E., BAGIROVA, M., USTUNDAG, C., KAYA, C., KAYA, F., RAFAILOVICH, M. - **Antileishmanial effect of silver nanoparticles and their enhanced antiparasitic activity under ultraviolet light.** International Journal of Nanomedicine, 6(2011), 2705-2714. doi: 10.2147/ijn.s23883

(25) ALLAHVERDIYEV, A., ABAMOR, E., BAGIROVA, M., USTUNDAG, C., KAYA, C., KAYA, F., RAFAILOVICH, M. - **Investigation of antileishmanial activities of TIO<sub>2</sub>@AG nanoparticles on biological properties of *L.tropica* and *L.infantum* parasites, in vitro.** Experimental Parasitology, 135(2013), 55-63. doi: 10.1016/j.exppara.2013.06.001

(26) ABAMOR, E., ALLAHVERDIYEV, A. - **A nanotechnology based new approach for chemotherapy of cutaneous leishmaniasis: TIO<sub>2</sub>@AG nanoparticles- *Nigella sativa* oil combinations.** Experimental Parasitology, 166(2016), 150-163. doi: 10.1016/j.exppara.2016.04.008

(27) AHMAD, A., SYED, F., IMRAN, M., KHAN, A., TAHIR, K., KHAN, Z., YUAN, Q. - **Phytosynthesis and antileishmanial activity of gold nanoparticles by *maytenus royleanus*.** Journal of Food Biochemistry, 40, 4(2016), 420-427. doi: 10.1111/JFBC.12232

(28) QUEZADA, C., AZEVEDO, C., CHARNEAU, S., SANTANA, J., CHORILLI, M., CARNEIRO, M., BASTOS, I. - **Advances in nanocarriers as drug delivery systems in Chagas disease.** International Journal of Nanomedicine, 14(2019), 6407-6424. doi: 10.2147/IJN.S206109

(29) ROMERO, E., MORILLA, M. - **Nanotechnological approaches against Chagas disease.** Advanced Drug Delivery Reviews, 62(2010), 576-588. doi: 10.1016/J.ADDR.2009.11.025

(30) Centers for Disease Control and Prevention- **Parasites-American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease)**, 2019 [Acedido a 24 de junho de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/parasites/Chagas/biology.html>

(31) SALOMON, C. - **First Century of Chagas' Disease: An Overview on Novel Approaches to Nifurtimox and Benznidazole Delivery Systems.** Journal of Pharmaceutical Sciences, 101,3(2012), 888-894. doi: 10.1002/JPS.23010

(32) ARRÚA,E., SEREMETA, K., BEDOGNI, G., OKULIK, N., SALOMON, C. - **Nanocarriers for effective benznidazole and nifurtimox in the treatment of Chagas disease: A review.** Acta Tropica, 198, 105080(2019). doi: 10.1016/J.ACTATROPICA.2019.105080

- (33) LI, X., SCARIOT, D., MARTINEZ, S., FALK, B., OLSON, C., ROMANO, P., SCOTT, E., ENGMAN, D. - **Nanocarrier-enhanced intracellular delivery of benznidazole for treatment of *Trypanosoma cruzi* infection.** JCI Insight, 6, 9(2021). doi: 10.1172/JCI.INSIGHT.145523
- (34) KENNEDY, P. - **Update on human African trypanosomiasis (sleeping sickness).** Journal of Neurology, 266, 9(2019), 2334-2337. doi: 10.1007/S00415-019-09425-7
- (35) Center for Disease Control and Prevention- **Parasites- African Trypanosomiasis (also known as Sleeping Sickness),** 2020 [Acedido a 2 de julho de 2021]. Disponível na Internet: [https://www.cdc.gov/parasites/sleepingsickness/gen\\_info/faqs.html](https://www.cdc.gov/parasites/sleepingsickness/gen_info/faqs.html)
- (36) YANG, S., WENZLER, T., MILLER, P., WU, H., BOYKIN, D., BRUN, R., WANG, M. - **Pharmacokinetic Comparison To Determine the Mechanisms Underlying the Differential Efficacies of Cationic Diamidines against First- and Second- Stage Human African Trypanosomiasis.** AAC Journals, 58,7(2014), 4064-4074. doi: 10.1128/AAC.02605-14
- (37) PANDIAN, S., PANNEERSELVAM, T., PAVADAI, P., GOVINDARAJ, S., RAVISHANKAR, V., PALANISAMY, P., SAMPATH, M., SANKARANARAYANAN, M., KUNJIAPPAN, S. - **Nano Based Approach for the Treatment of Neglected Tropical Diseases.** Frontiers in Nanotechnology, 3, 665274(2021). doi: 10.3389/FNANO.2021.665274
- (38) HOWARD, M., JAY, M., DZIUBLA, T., LU, X.- **PEGylation of Nanocarrier Drug Delivery Systems: State of the Art.** Journal of Biomedical Nanotechnology, 4, 2 (2008), 133-148. doi: 10.1166/jbn.2008.021
- (39) GEDDA, M., MADHUKAR, P., SHUKLA, A., MUDAVATH, S., SRIVASTAVA, O., SINGH, O., SUNDAR, S. - **Nanodiagnostics in leishmaniasis: A new frontiers for early elimination.** Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology, 13,2(2021). doi: 10.1002/WNAN.1675
- (40) STIJLEMANS, B., BAETSELIER, P., CALJON, G., ABBEELE, J., GINDERACHTER, J., MAGEZ, S. - **Nanobodies as Tools to Understand, Diagnose, and Treat African Trypanosomiasis.** Frontiers in Immunology, 8, 724(2017). doi: 10.3389/fimmu.2017.00724
- (41) DE SOUZA, A., MARINS, D., MATHIAS, S., MONTEIRO, L., YUKUYAMA, M., SCARIM, C., LÖDENBERG, R., BOU-CHACRA, N. - **Promising nanotherapy in treating leishmaniasis.** International Journal of Pharmaceutics, 547(2018), 421-431. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.06.018
- (42) GUTIÉRREZ, V., SEABRA, A., REGUERA, R., KHANDARE, J., CALDERÓN, M. - **New approaches from nanomedicine for treating leishmaniasis.** Chemical Society Reviews, 45,1(2016), 152-168. doi: 10.1039/C5CS00674K