

João Hugo Melim Freitas Rodrigues

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Desoxinivalenol em Cereais” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Maria Emília da Rocha Simões e da Professora Doutora Celeste de Matos Lino e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



João Hugo Melim Freitas Rodrigues

Relatório de Estágio e Monografia intitulada "Desoxinivalenol em Cereais" referentes à Unidade Curricular Estágio Curricular, sob a orientação da Senhora Dra. Maria Emília Rocha Simões e da Senhora Professora Doutora Celeste de Matos Lino, respetivamente, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, João Hugo Melim Freitas Rodrigues, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011170351, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Desoxinivalenol em cereais” apresentados 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, 14 de julho de 2017.

João Hugo Melim Freitas Rodrigues

AGRADECIMENTOS

Com o término do meu percurso académico cada vez mais próximo, não podia deixar de fazer alguns agradecimentos.

Aos meus pais Cristina e Justino e à minha irmã Joana, por serem incansáveis e pelos esforços a que se submeteram para tornar isto possível.

À Dra. Maria Emília Simões e a toda equipa da Farmácia Rocha por me acompanharem ao longo do meu estágio curricular em Farmácia Comunitária e por terem disponibilizado todos os dias um pouco do seu tempo para me ajudarem.

À Professora Doutora Celeste Lino por todo o apoio e delicadeza para comigo e pelo tempo que disponibilizou para me orientar.

À Alexandra León por me ajudar a ultrapassar tempos mais difíceis e por estar sempre presente.

À família Rodrigues León, obrigado por todo o carinho ao longo destes últimos anos e por me fazerem sentir numa segunda casa.

Aos meus amigos, por todos os momentos e conversas e todas as festas e risadas.

Por fim, mas não menos importante, obrigado à cidade dos estudantes, Coimbra, que me permitiu conhecer pessoas fantásticas e criar imensas memórias que com certeza “levo comigo p’rá vida” (Estudantina Universitária de Coimbra, 1988).

*“Capa negra de saudade
No momento da partida
Segredos desta cidade
Levo comigo p’rá vida.”*

(Estudantina Universitária de Coimbra, 1988).

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de acrónimos.....	7
Nota introdutória	8
Análise SWOT.....	9
PONTOS FORTES.....	9
Plano de estágio	9
Equipa.....	10
Receção de encomendas, armazenamento e gestão de <i>stock</i>	11
Preparação de manipulados	11
Cedência de MSRM.....	12
PONTOS FRACOS.....	14
Dificuldade em associar o nome comercial ao princípio ativo.....	14
Administração de vacinas e injetáveis, e medição de parâmetros bioquímicos	14
Aconselhamento farmacêutico	15
Inexperiência em algumas áreas	15
OPORTUNIDADES.....	15
Formações.....	15
Cartão Saúda	16
Aconselhamento Sazonal	17
Pharmacareer	17
Kaizen.....	17
AMEAÇAS.....	18
Liberalização de locais de venda de MNSRM e a perda de produtos para grandes superfícies.....	18
Crise económica.....	18
Rendimentos.....	19
Conclusão.....	20
Parte 2 - Desoxinivalenol em cereais	
Resumo	22
Abstract	23
Lista de Acrónimos	24
Introdução.....	25
Características físico-químicas	28
Toxicidade.....	31
Legislação.....	33

Ocorrência.....	35
Metodologias Analíticas.....	40
Processos de extração	40
Processos de purificação.....	41
Processos de detecção e quantificação	41
Conclusão.....	46
Anexos	51
Referências Bibliográficas.....	48

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de acrónimos

APCC – Associação Portuguesa de Cancro Cutâneo

CS – Cartão Saúda

CV – *Curriculum Vitae*

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FR – Farmácia Rocha

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento não sujeito a receita médica

MSRM – Medicamento sujeito a receita médica

NEF - Núcleo de Estudantes de Farmácia

OF – Ordem dos Farmacêuticos

PA – Princípio Ativo

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

Nota introdutória

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) é um curso que prepara os estudantes a nível técnico e científico, dirigido ao correto uso do medicamento. Aquando do seu término, permite a inscrição na Ordem dos Farmacêuticos (OF), atribuindo o grau de farmacêuticos e agentes de saúde, permitindo que estes executem todas as tarefas em torno do medicamento em ambiente oficial, contribuindo assim para a prevenção da saúde pública (Ministério da saúde, Decreto-Lei n.º 288/2001).

Segundo o Ministério da saúde, Decreto-Lei n.º 288/2001, lê-se o “farmacêutico tem a obrigação de colaborar activamente com os serviços públicos e privados nas iniciativas tendentes à protecção e preservação da saúde pública. Sempre que as circunstâncias o exijam, o farmacêutico deve actuar particularmente como agente sanitário para a divulgação de conhecimentos de higiene e salubridade”.

A área farmacêutica na atualidade, abrange uma vasta gama de atividades como Farmácia Hospitalar, Indústria Farmacêutica, Distribuição, Ensino, Assuntos Regulamentares, Farmácia Comunitária, entre outros.

No último ano letivo do MICF os estudantes realizam um estágio curricular em Farmácia Comunitária onde põem em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo dos cinco anos de curso. É nesta área farmacêutica que existe um maior contacto farmacêutico-doente, onde o farmacêutico não se comporta apenas como um técnico do medicamento, mas também como um conselheiro com “capacidade de sensibilizar para a importância da adoção de estilos de vida saudáveis e utilização racional dos fármacos e capacidade de despistar de forma precoce e identificar sinais de alerta”, monitorizando e acompanhando a saúde físico-emocional do utente (Ordem dos Farmacêuticos).

Realizei o meu estágio na Farmácia Rocha situada na Rua do Brasil em Coimbra, onde tive oportunidade de integrar uma equipa de grande carisma; este decorreu sob a orientação da Dra. Maria Emília Simões, de 10 de janeiro a 09 de junho de 2017, com um total de 810h.

Este relatório será elaborado em formato SWOT.

Análise SWOT

O SWOT trata-se de uma ferramenta de análise bastante popular e com muito uso no planeamento estratégico através de recolha de informação. A sigla SWOT vem dos termos ingleses *Strengths* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças), que caracteriza o ambiente interno em pontos fortes e pontos fracos, e o externo em oportunidades e ameaças (Portal Administração, 2014).

No Quadro seguinte apresento a minha análise referente ao meu estágio:

PONTOS FORTES	PONTOS FRACOS
<ul style="list-style-type: none">• Plano de estágio;• Equipa;• Receção de encomendas, armazenamento e gestão de <i>stock</i>;• Preparação de manipulados;• Cedência de MSRM.	<ul style="list-style-type: none">• Dificuldade em associar o nome comercial ao princípio ativo;• Administração de vacinas e injetáveis, e medição de parâmetros bioquímicos;• Aconselhamento farmacêutico;• Inexperiência em algumas áreas.
OPORTUNIDADES	AMEAÇAS
<ul style="list-style-type: none">• Kaizen;• Formações;• Cartão Saúde;• Aconselhamento Sazonal;• Pharmacareer.	<ul style="list-style-type: none">• Liberalização de locais de venda de MNSRM e a perda de produtos para grandes superfícies;• Crise económica;• Rendimentos.

PONTOS FORTES

Plano de estágio

Nos estudantes e recentes estagiários prevalece o sentimento de desamparo quando lançados no mundo do trabalho. Comigo não foi diferente, no entanto, na Farmácia Rocha (FR) foi-me proposto pela Dra. Maria Emília e pela Dra. Esperança aquele que considero ter

sido o Plano de estágio mais adequado, que explico com mais pormenor ao longo deste relatório.

O primeiro passo foi dado na receção de encomendas, armazenamento, gestão de stock e organização interna da farmácia onde, juntamente com os meus colegas estagiários, organizámos por ordem alfabética e por secções, com recurso à *bricolage*, as gavetas, os lineares de exposição e o armazém.

Foi-me também atribuída a responsabilidade da elaboração de imagens promocionais para publicar no *facebook* da farmácia e a criação de papéis demonstrativos das promoções em vigor na farmácia (Anexo I).

Com o passar do tempo, já a meio do estágio, pude participar na elaboração de medicamentos manipulados com a Dra. Maria Emília e iniciar a fase observacional no atendimento ao público, onde prestei atenção ao modo de ação e aconselhamento prestados pelas minhas futuras colegas. Numa etapa mais avançada, passei ao ativo no balcão com supervisão constante de uma farmacêutica, tendo posteriormente procedido de forma autónoma.

Equipa

A equipa é composta por 4 elementos: a Dra. Maria Emília Simões (Diretora Técnica e proprietária), a Dra. Esperança Silva (Farmacêutica substituta), a Dra. Susana Lopes (Farmacêutica) e a Dra. Liliana Caldeira (Farmacêutica), que possuem muitas funções em comum, mas apresentam algumas mais específicas.

A gestão financeira, o sistema de segurança da farmácia e a administração de vacinas e injetáveis cabe à Dra. Maria Emília; a comunicação/ligação exterior da FR em várias plataformas, a entrega de encomendas ao domicílio, bem como a organização física da FR e a gestão das formações compete à Dra. Esperança; a organização/gestão da documentação referente às encomendas e devoluções está a cargo da Dra. Susana; e a regularização de fichas de utentes, verificação das validades e receituário compete à Dra. Liliana.

Todos os elementos tratam da receção de encomendas, assim como da arrumação dos medicamentos. São também responsáveis pelo atendimento ao público conseguindo, com o dinamismo e boa disposição de sempre, promover um atendimento adequado a todas as necessidades dos utentes.

Apesar de existir uma distribuição específica de tarefas, a falta de algum elemento não desestabiliza o bom funcionamento da farmácia, pois todos se encontram bem preparados para a elaboração de qualquer atividade.

Receção de encomendas, armazenamento e gestão de stock

Estas tarefas enquadram-se na área do *backoffice* sendo realizadas fora do alcance e do campo de visão dos utentes. Estas funções são de extrema importância e exigem total concentração a fim de garantir que tudo está no sítio certo e da forma correta, promovendo uma movimentação mais fluída na farmácia e um atendimento mais eficaz.

É importante estar atento aos preços e às validades que vêm nas embalagens, na receção de encomendas, bem como conferir se vieram as quantidades de embalagens certas. Por vezes, determinados medicamentos vêm com validades demasiado curtas e têm que ser devolvidos ao distribuidor, situação que passaria perfeitamente despercebida se não fosse dada a devida atenção.

Foi também nesta altura que contactei em primeira mão com a plataforma *SIFARMA2000*[®] onde aprendi o básico da receção de encomendas sob supervisão de uma farmacêutica, tendo passado mais tarde a trabalhar com o sistema com independência.

Estas funções tiveram um grande impacto na minha aprendizagem pois comecei a relacionar certos medicamentos ao princípio ativo (PA) e a decorar o formato das embalagens e onde tinham de ser devidamente arrumadas.

Por norma a gestão de *stock* é controlada por toda a equipa, a Dra. Esperança e a Dra. Maria Emília fazem as encomendas diárias necessárias garantindo que chegam à farmácia os medicamentos essenciais, atendendo à rotatividade dos produtos. Ainda assim, hoje em dia é muito difícil a FR possuir todos os produtos autorizados pelo INFARMED devido à grande variedade existente de medicamentos, suplementos, genéricos, entre outros. Existem situações com as quais me deparei algumas vezes, onde há falta de *stock* de um ou mais produtos pedidos pelo utente aquando do atendimento ao balcão ou por reserva telefónica. Nestas alturas, é realizado, por quem está a atender, uma encomenda instantânea ou telefónica ao fornecedor com o objetivo de fazer chegar à farmácia o produto procurado pelo utente.

Preparação de manipulados

A preparação de manipulados na FR está a cargo de quem recebe o pedido. Estes podem ser classificados em Fórmulas Magistrais que consistem na preparação de um medicamento sujeito a receita médica na farmácia pelo farmacêutico, ou Preparados Oficiais onde o medicamento é preparado segundo a Farmacopeia ou um Formulário.

No site do INFARMED lê-se: “Visando criar um elevado padrão de qualidade dos medicamentos manipulados preparados em farmácia de oficina ou nos serviços farmacêuticos hospitalares, a Portaria nº 594/2004, de 2 de junho aprovou as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados.

Essas normas incidem sobre oito vertentes essenciais, a saber:

- Pessoal
- Instalações e equipamentos
- Documentação
- Matérias-primas
- Materiais de embalagem
- Manipulação
- Controlo de qualidade
- Rotulagem” (INFARMED-Portaria n.º 594/2004).

A meu ver, esta é das áreas das quais saímos melhor preparados da faculdade dado que temos várias disciplinas dirigidas à manipulação do medicamento regida por farmacopeias.

Tive a possibilidade de realizar alguns manipulados durante o estágio, tais como uma pomada salicilada e uma solução de Bicarbonato de Sódio a 1,4% (Anexo 2), onde também aprendi a calcular o preço do respetivo manipulado.

Mesmo que hoje em dia a procura de manipulados tenha vindo a diminuir, a FR é uma possuidora constante das oito vertentes essenciais das boas práticas na preparação de medicamentos manipulados presentes na Portaria nº 594/2004, garantindo sempre um bom funcionamento e um medicamento manipulado de excelência.

Cedência de MSRM

A cedência de MSRM, que recentemente sofreu alterações com a implementação da receita eletrónica, representa uma grande parte do trabalho efetuado na zona de atendimento da FR. É um serviço caracterizado pela cedência de uma ou mais embalagens de medicamentos pelo farmacêutico aquando da apresentação de receita médica por parte do utente.

Numa fase inicial, como já referi, observei como as minhas futuras colegas farmacêuticas operavam de acordo com as necessidades específicas de cada utente, quer a nível social, quer a nível profissional.

À *posteriori* tive a oportunidade de ser eu a atender o utente e ceder os MSRM, aplicando os conhecimentos transmitidos pelos meus colegas, sob supervisão de uma farmacêutica. Com o passar do tempo comecei a ter mais confiança no meu trabalho e a realizar os atendimentos com mais dinamismo.

Com este estágio entendi a importância e a atenção que é necessário dar desde a entrada do utente na farmácia até à sua saída. Aquando da cedência de MSRM é necessário ter em atenção todos os pormenores da receita, bem como a reação do utente perante a medicação disponibilizada.

Ainda contactei com a já a cair em desuso, mas ainda existente, receita manual, que continua a ser prescrita no caso de falha informática, prescrição ao domicílio, inadaptação do prescriptor aos meios informáticos, entre outros, sendo limitada a apenas 4 embalagens de medicamentos por receita. Nestas receitas manuais tive mais dificuldades na interpretação da caligrafia do prescriptor, recorrendo sempre, no caso de dúvida, aos meus colegas farmacêuticos, devido à sua experiência. De qualquer modo, antes do término do atendimento, existe um controlo de segurança onde temos que ler os códigos de todos os produtos a dispensar, garantindo com segurança que os medicamentos que selecionamos no sistema são aqueles que temos em mão.

Quando o utente entrava na FR, introduzia-me de forma respeitosa e cuidada, cumprimentando-o sempre, deixando-o confortável e perguntando como lhe corria o dia; de seguida procedia à parte do atendimento propriamente dita. Com a receita manual em minha posse, verificava se as vinhetas, o plano de comparticipação e a medicação prescrita estavam conformes, verificava também a validade da receita e se todos estes aspetos eram válidos e verdadeiros. Dialogava com o utente a fim de saber se era a primeira vez ou não que estava a tomar aquela medicação, se era para toma crónica ou não, sendo esta informação útil ao atendimento, pois o mais importante é que o utente fique a conhecer os medicamentos que está a tomar e como os deve tomar. Seguidamente, ia buscar os medicamentos às gavetas e continuava para o processo informático onde aplicava o plano de comparticipação e terminava o atendimento com a impressão, se necessário, de papéis de faturação.

Com o aparecimento da receita eletrónica ocorreram algumas alterações ao que referi anteriormente. Com esta nova receita, passou a ser permitida a prescrição de mais de 4 embalagens por receita, e o SIFARMA2000® passou a reconhecer os medicamentos que já foram levantados de cada receita, em qualquer farmácia, permitindo desta forma ao utente levantar apenas aquilo que deseja em vez de todo o conteúdo da receita de uma só vez. Aquando da introdução da receita no sistema, o SIFARMA2000® informa-nos quais os

medicamentos disponíveis na farmácia para a dispensa do produto em causa, podendo o utente escolher entre um medicamento original e um medicamento genérico.

Terminando a parte informática, dispunha-me sempre a tirar alguma dúvida que o utente tivesse, garantindo sempre que entendeu tudo o necessário para a toma correta do medicamento.

PONTOS FRACOS

Dificuldade em associar o nome comercial ao princípio ativo

Esta é, sem dúvida, das minhas maiores lacunas. Como referi anteriormente, a receção de encomendas contribuiu imenso para o meu processo de aprendizagem, mas, por vezes, continuei a sentir dificuldade a responder a perguntas específicas dos utentes. Ocasionalmente, os utentes pediam conselhos sobre um tipo de medicamento ou questionavam a disponibilidade de certo medicamento na farmácia, sendo que em determinados casos tive que recorrer ao *SIFARMA2000*[®] para tentar identificar o nome do PA ou o nome comercial do medicamento. Esta situação agrava-se quando o nome do medicamento é mal pronunciado pelo utente.

Devido à vasta variedade de produtos que estão disponíveis no mercado farmacêutico, considero que exista uma curva de aprendizagem tendo como fatores principais o tempo e a experiência.

Administração de vacinas e injetáveis, e medição de parâmetros bioquímicos

Apesar de serem serviços prestados na FR, o número de utentes que os procura é reduzido. O curso de administração de vacinas é creditado pela OF apenas a quem é farmacêutico, não sendo possível a prática pelos estudantes/estagiários numa farmácia. É um serviço deixado à responsabilidade da Dra. Maria Emília. No entanto, considero ser um serviço fundamental e tenciono tirar o curso no futuro.

Não tive oportunidade de medir parâmetros bioquímicos, apenas realizei medições de tensão arterial a alguns utentes.

Aconselhamento farmacêutico

A grande maioria dos serviços que prestei ao balcão na FR foi em torno da dispensa de MSRM, no entanto estive sempre à disposição e tive oportunidade de aconselhar alguns utentes que chegavam à FR com dúvidas sobre alguns produtos que não MSRM. Nas situações onde tinha que fazer um aconselhamento, fazia um raciocínio de acordo com o caso em particular, tentando chegar a um produto específico, e ia ao encontro de uma colega farmacêutica à qual explicava o caso e a minha sugestão. Houve algumas situações onde a minha sugestão era válida, mas mesmo assim considero que necessito de mais treino e conhecimento nesta área. Ainda não tenho experiência nem segurança suficiente para esclarecer determinadas dúvidas e sugerir certos produtos a um utente.

Inexperiência em algumas áreas

O farmacêutico comunitário tem o dever de se manter constantemente informado e atualizado acerca dos produtos que podem vir a pertencer ao stock de uma farmácia, a fim de promover um atendimento ao público de excelência.

As áreas em que senti mais dificuldade foram puericultura, dermofarmácia e dermocosmética e medicamentos veterinários. Apesar de todas as formações a que fui e dos conhecimentos teóricos da faculdade, houve poucas situações onde pude pôr em prática a teoria. Tive dúvidas em relação a interações de produtos com outros e no aconselhamento farmacêutico, dúvidas essas que eram colmatadas com os conhecimentos dos meus colegas farmacêuticos e com recurso ao *SIFARMA2000*[®], garantindo sempre que o utente apenas saía da farmácia satisfeito e informado.

OPORTUNIDADES

Formações

À Dra. Esperança, como já referi, e a quem muito agradeço, compete a organização e a inscrição dos membros e estagiários da FR em formações.

Tive a oportunidade de frequentar algumas dentro e fora de Coimbra. Apesento algumas na Tabela I:

Tabela I - Tabela representativa das formações frequentadas.

Hotel Vila Galé	Plural	Fundação Bissaya Barreto	Hotel Tryp Coimbra	Porto
URIAGE (Anexo 3)	Edol	Dor, e técnicas de venda (organizado pela gsk)	Higiene Oral	Congresso: “Sol, pele e cancro cutâneo em 2017”, organizado pela APCC. (Anexo 4)
Rinite alérgica			La Roche-Posay	

Como futuro farmacêutico considero que uma aprendizagem contínua é fundamental. Todas estas formações contribuíram certamente para a minha educação enquanto futuro profissional de saúde; gostei particularmente das formações de cosmética, pois considero ser uma área bastante específica e de grande importância para os estagiários, uma vez que, aquando do começo do estágio, somos imediatamente confrontados com a quantidade abismal deste tipo de produtos.

Cartão Saúde

“Quem tem um ponto ganha um desconto” (Cartão saúde).

Tornou-se hábito durante o atendimento ao balcão, o farmacêutico perguntar: “*Já tem Cartão Saúde?*”, acompanhado de: “*Tem ficha cá na farmácia?*”.

Foi para mim uma mais valia ter a possibilidade de iniciar o meu processo de aprendizagem no atendimento ao público já com o sistema do Cartão Saúde (CS) implementado. Apesar de não ter efetuado nenhuma troca de pontos, tive a oportunidade de assistir.

O CS pode ser associado à ficha pessoal do utente e fica gravado na base de dados de cada farmácia, ou seja, no futuro, não é necessária a sua apresentação naquela mesma farmácia. Para além de não ter qualquer custo para o utente, apresenta inúmeras vantagens, permitindo a acumulação de pontos após uma compra de produtos (que não medicamentos), que podem ser trocados por outros produtos pertencentes ao catálogo do sistema e da Revista Saúde, ou ser transformados em vales desconto.

Aconselhamento Sazonal

Ao longo do meu estágio, de janeiro a junho, notou-se uma diferença clara na procura de certos produtos. É importante para nós, futuros farmacêuticos, começarmos a ter essa percepção e entender que a procura de certos produtos varia com as estações. Por exemplo, foi notória uma maior procura de antigripais em meses de frio; já na primavera, com o aumento da libertação de pólen, os antialérgicos foram mais procurados; nas alturas de mais calor, os utentes procuraram mais produtos para perda de peso e para proteção solar.

Pharmacareer

O Pharmacareer foi uma semana organizado pelo Núcleo de Estudantes de Farmácia (NEF) onde tivemos a oportunidade de visitar as instalações da Plural e contactar com o pessoal que lá trabalha.

Tivemos várias palestras que abrangeram a parte comunitária, hospitalar e outras vertentes da área farmacêutica, onde nos esclareceram assuntos como:

- Como fazer um CV?
- Como varia o ambiente dentro de uma farmácia e como lidar com a situação?
- Como proceder numa entrevista de emprego?
- *Marketing* Farmacêutico, etc.

Tivemos também o prazer de ouvir os testemunhos de antigos estudantes da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC). Ouvimos como procederam para chegar onde chegaram, os sacrifícios, o trabalho e a força de vontade embutida para atingir os objetivos.

Foi uma semana que me ajudou a tirar algumas dúvidas e a preparar-me psicologicamente para o mundo do trabalho. Considero o Pharmacareer, sem qualquer dúvida, uma semana de extrema importância aos alunos finalistas da FFUC.

Kaizen

Kaizen é uma prática ideológica que provém do kai (mudar) e do zen (melhor) introduzida no Japão por Masaaki Imai, que defende ser uma prática de melhoria contínua de uma pessoa, instituto ou organização (Kaizen institute). O Kaizen abrange níveis organizacionais, modo de ação, medidas para tornar os espaços públicos mais apelativos e mais limpos, bem como a sua rentabilização.

Quando cheguei à FR, este sistema já se encontrava em vigor e desde muito cedo me instruíram acerca dos pilares desta ideologia e me incentivaram a trabalhar em prol desta. De tempos a tempos, são feitas consultorias a fim de observar e avaliar o progresso da farmácia e dar uma pequena formação à equipa.

A equipa da farmácia realiza reuniões semanais para debater assuntos internos e externos e também novidades relevantes, a promoção de produtos, avisos de retirada de produtos, regularizações, sugestões de melhoria e outros assuntos que se considerem relevantes na altura (Anexo 5).

AMEAÇAS

Liberalização de locais de venda de MNSRM e a perda de produtos para grandes superfícies

A compra de um medicamento é um ato de responsabilidade muito grande. O maior problema que encontro na liberalização dos locais de venda de MNSRM é a falta de pessoal qualificado para prestar algum tipo de suporte técnico ou aconselhamento nesses locais. Um aconselhamento incorreto ou a ausência dele poderá acarretar consequências graves para a saúde de quem os tomar. Quer sejam MSRM ou MNSRM, ambos requerem o aconselhamento de um profissional de saúde qualificado.

Deparei-me também com a escassez de pessoas que vêm à farmácia pedir aconselhamento ou comprar produtos a nível da puericultura, preservativos, protetores solares, entre outros. Hoje em dia quando os cidadãos se dirigem às grandes superfícies a fim de ir buscar as suas provisões, aproveitam também e compram produtos deste nível; “*está ali à mão e é mais barato*”, dizem muitos utentes. É também uma grande ameaça quer para a economia das farmácias, pelo fato das grandes superfícies apresentarem maior poder de compra e maior poder de negociação, quer para o processo de aprendizagem dos estagiários no aconselhamento aos utentes, que nestas áreas é cada vez mais escasso.

Crise económica

A realidade que se vive hoje em dia em Portugal é a de uma crise monetária constante. Os utentes vêm-se obrigados a dar mais valor ao dinheiro do que à sua própria saúde, restringem-se aos produtos mais baratos ou a uma menor quantidade de caixas do que o necessário.

A crise não só chegou aos utentes como também às farmácias e a FR não é exceção. A Dra. Maria Emília juntamente com o conselho da restante equipa, tem que prestar uma gerência financeira estrita e ao mesmo tempo garantir a rotatividade de produtos, necessária e constante, a fim de ter os produtos essenciais para satisfazer as necessidades dos seus utentes e minimizar os gastos da farmácia.

Eu como estagiário também sou afetado, torna-se cada vez mais difícil poder participar num processo mais dinâmico e mais ativo ao balcão devido ao reduzido poder de compra dos utentes e a sua menor afluência à farmácia.

Rendimentos

Como consequência do anteriormente citado, hoje em dia o farmacêutico comunitário vive com rendimentos inferiores aos anteriores à crise, já não existe o bem-estar financeiro que existia há uns anos atrás. Isto acaba por ser uma grande ameaça ao sector comunitário pois os recém-formados começam a procurar outras áreas que não a farmácia comunitária, visando um melhor rendimento e estabilidade financeira, bem como uma mais provável progressão na carreira.

Conclusão

Com o culminar destes anos consigo felizmente olhar para traz e ver o quanto cresci e o que alcancei como pessoa e futuro farmacêutico. Com o estágio terminado consigo afirmar que os meus colegas da FR tiveram um papel fundamental nesta última fase do meu percurso. Contribuíram certamente no colmatar e consolidar dos meus conhecimentos teóricos, ajudando-me a coloca-los em prática.

Trabalhar por prazer e não por obrigação, era esta a minha mentalidade na FR, talvez por ser sempre tão bem recebido. A boa disposição das nossas colegas para connosco estagiários, era contagiante, o nosso rendimento aumentava e a atenção que dávamos às diversas situações era sempre a adequada. Cheguei à conclusão então que o ambiente criado pela equipa da farmácia é um pilar fulcral que se traduz no rendimento do trabalho dos farmacêuticos.

O farmacêutico comunitário como profissional de saúde apresenta uma série de responsabilidades. O seu conhecimento e aconselhamento é a chave no que toca à garantia da qualidade de vida dos utentes e é das profissões que mais interage com o doente no seu dia-a-dia. Tive a chance de me aperceber disso na FR.

Momentos bons e menos bons existiram e existirão sempre, mas mesmo assim tudo me fez crescer como futuro profissional, nunca irei esquecer os momentos que lá passei e com certeza que no futuro se decidir seguir farmácia comunitária, aplicarei os conhecimentos aqui aprendidos.

Parte 2

Desoxinivalenol em cereais

Resumo

O Desoxinivalenol (DON) é uma micotoxina pertencente à família dos tricotecenos produzida por fungos do género *Fusarium*, que aparece mais frequentemente no trigo e no milho. A infestação dos cereais por estes fungos é tanto maior quanto maior a humidade, e a baixas temperaturas segundo alguns investigadores como De Boevre *et al.*, (2012) na altura da floração, e entre 21°C e 25°C de acordo com Canady *et al.*, (2001).

O DON é também conhecido por vomitoxina devido aos seus efeitos eméticos em animais, como suínos, e em humanos.

Na década de 30 e 40, na URSS ocorreu um surto em grande escala de intoxicação alimentar após o consumo de trigo, milho e cevada com bolor. Devido à gravidade do surto, os alimentos foram alvo de estudo, descobrindo-se que continham fungos do género *Fusarium* produtores de tricotecenos. Mais tarde, no início dos anos 70 propuseram que uma dessas micotoxinas fosse o DON. Descobriram-se mais recentemente micotoxinas derivadas desta com o mesmo grau de toxicidade como o 3-acetildesoxinivalenol (3-ADON) e o 15-desoxinivalenol (15-ADON), e o Desoxinivalenol-3-beta-D-glicosídeo (DON-3-GLU) cujo grau de toxicidade e resposta do nosso organismo ainda não estão totalmente esclarecidos.

De maneira a controlar ativamente os níveis de DON nos alimentos destinados ao ser humano e aos animais, foram estabelecidos programas de monitorização e limites máximos (LM) a nível Europeu.

A ocorrência de DON em cereais é continuamente estudada em diferentes países com recurso a métodos adequados para a deteção e quantificação da toxina. Alguns desses estudos são aqui relatados e analisados, permitindo-nos estabelecer uma diferença no grau de contaminação do DON nos cereais de países em desenvolvimento quando comparados com países desenvolvidos. Os resultados da monitorização de cada país devem ser relatados periodicamente à EFSA, que tem o dever de publicar um relatório com a análise dos dados.

A mistura de água com acetonitrilo como solvente de extração do DON, as IACs, o HPLC-UV, são atualmente dos métodos mais utilizados para a purificação, deteção e quantificação do DON, respetivamente, no entanto a HPLC-MS obtém melhores resultados.

Certos países com laboratórios mais sofisticados começam a desenvolver novas técnicas para a deteção e quantificação do DON, com o objetivo de obter resultados mais sensíveis, em relação às técnicas atuais.

Palavras Chave: Desoxinivalenol, Cereais, Toxicidade, LM, Ocorrência, Deteção.

Abstract

Deoxynivalenol is a mycotoxin belonging to the trichothecenes family produced by fungi of the genus *Fusarium*, which appears more frequently in wheat and corn. The cereal infestation by these fungi is all the greater, the greater the humidity and at lower temperatures, according to some researchers like De Boevre, *et al.*, (2012) at the time of flowering and between 21°C and 25°C according to Canady *et al.*, (2001).

DON is also known as vomitoxin as a result of its emetic effects in humans and in animals, such as pigs.

In the 30's and 40's, a large-scale outbreak of food poisoning occurred after the consumption of wheat, corn and barley with mold. Due to the severity of the outbreak, foodstuffs were studied and found to contain trichothecenes produced by *Fusarium* fungi. Later, in the 70's one of these mycotoxins were proposed to be DON. More recently, mycotoxins derived from it have been found to have the same degree of toxicity such as 3-acetyldeoxynivalenol (3-ADON) and 15-acetyldeoxynivalenol (15-ADON), and Deoxynivalenol-3-glucoside (DON-3-GLU) whose degree of toxicity and our body's response to it, are not yet fully understood.

In order to actively control DON levels in humans and animals food, monitoring programs and maximum levels (ML) have been established at a European level.

The occurrence of DON in cereals is continuously studied in different countries using methods that are qualified for this mycotoxins detection and quantification. Some of these studies are reported and analyzed here, allowing us to establish a difference in the degree of contamination of DON in cereals from countries in development when compared to developed countries. The results of monitoring in each country should be periodically reported to EFSA, which has the duty to publish a report with the analysed data.

The mixture of water with acetonitrile as DON extraction solvent, IACs, HPLC and UV, are currently the most commonly used methods for the purification, quantification and detection of DON, respectively; however HPLC-MS achieves better results.

Some countries with more sophisticated laboratories are beginning to develop new techniques for the detection and quantification of DON in order to obtain more sensitive results compared to current techniques.

Keywords: Deoxynivalenol, Cereals, Toxicity, ML, Occurrence, Detection.

Lista de acrónimos

3-ADON – 3-acetildesoxinivalenol

15-ADON – 15-acetildesoxinivalenol

ac – Acetilo

ARfD – Dose de Referência Aguda

ATA – Leucopenia Tóxica Alimentar

aw – atividade de água

DON – Desoxinivalenol

DON-3-Glc – Desoxinivalenol-3-glicosídeo

CE – Comissão Europeia

EFSA – *European Food Safety Authority*

GC-ECD – Cromatografia Gasosa – Detetor de captura de eletrões

GC-MS – Cromatografia Gasosa – Espetrometria de Massa

HPLC-MS/MS – Cromatografia Líquida de alta performance– Espetrometria de Massa em tandem

IAC – Coluna de imunoafinidade

JECFA – *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*

LC-DAD – Cromatografia Líquida – Detetor de diodos

LC-MS – Cromatografia Líquida – Espetrometria de Massa

LC-UV – Cromatografia Líquida – Ultra-Violeta

LM – Limite Máximo

LOD – Limite de Deteção

mAb – Anticorpo monoclonal

p.c. – peso corporal

SCF – *Scientific Committee on Food*

TDI – Ingestão diária tolerável

UPLC-MS/MS – Cromatografia Líquida de ultra performance – Espetrometria de Massa em tandem

Introdução

O Desoxinivalenol (DON) é uma micotoxina pertencente à família dos tricotecenos do tipo B, produzida durante o desenvolvimento de fungos patogênicos do género *Fusarium*, maioritariamente pelas espécies *F. graminearum* e *F. culmorum* (Pestka, 2001).

Também conhecido por vomitoxina devido aos seus efeitos eméticos em animais, como suínos, e em humanos. Após o consumo o DON é transportado para o cérebro onde interage com os recetores dopaminérgicos (Sobrova *et al.*, 2010).

A infestação dos cereais por fungos do género *Fusarium* é tanto maior quanto maior a humidade, e a baixas temperaturas, segundo alguns investigadores como De Boevre *et al.*, (2012) na altura da floração, e entre 21°C e 25°C de acordo com Canady *et al.*, (2001). Esta infestação caracteriza-se pelo aparecimento de uma cor rosada nas sementes de trigo, que podem adotar uma forma de lápide, e um “rosa podre” no milho (Martins e Martins, 2008).

Os fungos produtores, *F. graminearum* e *F. culmorum*, apresentam condições ótimas de crescimento a 25°C com atividade de água (aw) superior a 0,88, e de 21°C com aw superior a 0,87, respetivamente (Canady *et al.*, 2001).

O DON aparece maioritariamente em grãos de cereais como trigo, aveia, centeio, milho e cevada, e em menor quantidade no arroz, sorgo e tritcale (híbrido produto do cruzamento de trigo e centeio). Estes cereais, podem ser contaminados tanto no campo como durante o armazenamento, em que a humidade apresenta um papel fulcral (Pestka, 2001).

Preocupados com a saúde humana, em 2002 o SCF definiu a ingestão diária tolerável (TDI) de DON em 1 µg/kg de peso corporal (p.c.) por dia. Mais tarde, em 2010, a JECFA incluiu os derivados acetilados de DON ao grupo, e definiu uma dose de referência aguda (ARfD) de 8 µg/kg de peso corporal (EFSA, 2013).

O 3-ADON e o 15-ADON são derivados acetilados (ac) de DON que podem coocorrer com este, mas em menores quantidades, no entanto, o Comité atribuiu-lhes o mesmo grau de toxicidade do DON (Malachova *et al.*, 2011).

O DON-3-Glc é um produto do metabolismo de algumas plantas durante o processo de auto desintoxicação, através da conjugação de substâncias polares, como é o caso da glicose, com o DON (Malachova *et al.*, 2011).

A toxicidade do DON-3-Glc ainda é desconhecida em mamíferos. Uma das principais preocupações em relação a este composto é a possível hidrólise do grupo glicosídeo por parte do sistema digestivo dos mamíferos, levando à formação do precursor DON. Existe desta forma, a oportunidade para o indivíduo que tenha ingerido um alimento contaminado

com DON venha a apresentar efeitos adversos mais severos do que aqueles que é suposto. A inesperada resposta a esta toxicidade elevada estará, neste caso, ligada à ocorrência de formas conjugadas não detetadas de micotoxinas, nomeadamente DON-3-Glc, aumentando desta forma a exposição à toxina e a um conseqüente aparecimento de efeitos adversos mais graves (Malachova *et al.*, 2011).

Pensa-se que o mesmo se passa com 3-ADON e 15-ADON. Estudos em animais e humanos sugerem que estes compostos são convertidos em DON, após hidrólise do grupo acetilo. No estudo de Ajandouz *et al.* (2016), com recurso a células humanas, chegaram à conclusão de que a desacetilação do 3-ADON e do 15-ADON no lúmen pelas enzimas digestivas e pelas bactérias é limitada. Conseguiram também demonstrar que o fígado e o intestino delgado possuem uma forte capacidade de desacetilação, quando comparados com o cólon e rins.

Na figura 1, podemos verificar possíveis locais para a ocorrência das desacetilações (Ajandouz *et al.*, 2016):

- (1) O 3- e o 15-ADON, podem não ser absorvidos diretamente pelas células epiteliais intestinais (CEI), necessitando de uma transformação no lúmen (por enzimas digestivas e / ou bactérias) antes de atravessar a parede intestinal.
- (2) As CEI podem ser capazes de absorber os 3/15-ADON e convertê-los em DON intracelularmente, resultando em que apenas o DON seja libertado na veia porta que liga o intestino ao fígado.
- (3) Parte ou todo o 3/15-ADON absorvido no intestino pode chegar ao fígado pela veia porta e pode ser submetida a desacetilação hepática antes da libertação para as veias hepáticas e para a circulação sanguínea sistémica.
- (4) Embora altamente improvável com base nos resultados experimentais, parte ou a totalidade do 3 /15ADON absorvido a nível intestinal pode atingir o sangue sistémico e ser convertido em DON nos rins (ou noutros tecidos).

Nenhuma dessas hipóteses exclui as outras, e uma mistura delas é possível (Ajandouz *et al.*, 2016).

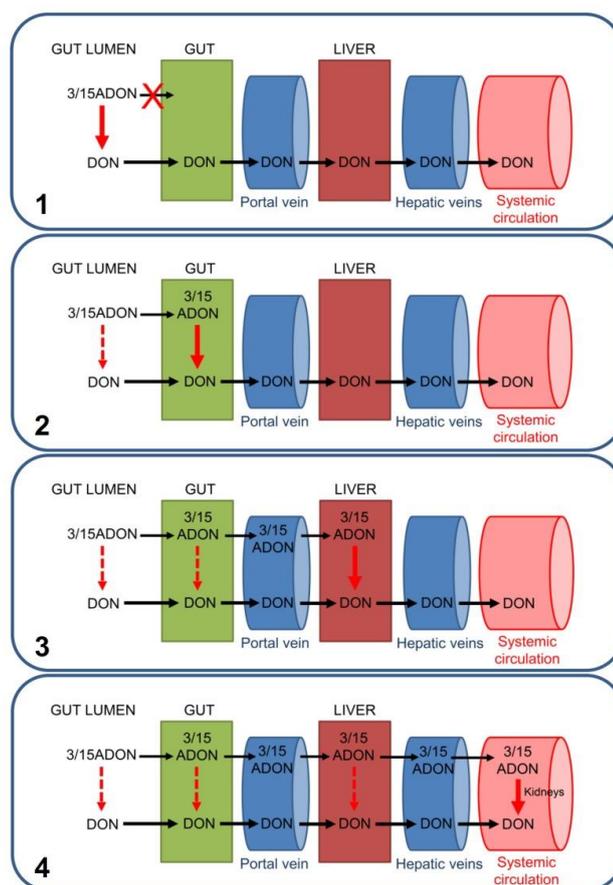


Figura 1 – Hipóteses relacionadas com os processos de desacetilação de 3-ADON e 15-ADON (adaptação de Ajandouz *et al.*, 2016).

A meio dos anos 80 surgiram especulações acerca da existência de micotoxinas como formas mascaradas que escapavam aos exames de rotina por várias razões. Por exemplo, no caso do DON-3-Glc, devido há sua elevada polaridade em comparação com a micotoxina precursora, a sua extração com os solventes habituais tornava-se difícil, e era muitas vezes perdido no processo de purificação. Além disso, os padrões analíticos também não existiam. Apenas em 2007 é que um padrão puro de DON-3-Glc foi introduzido no mercado, e começou-se a verificar um aumento da deteção e da coexistência deste com o DON em cereais (Malachova *et al.*, 2011).

Com base no conhecimento das pesquisas em curso relacionadas com a origem de micotoxinas mascaradas e do seu comportamento durante o processamento de alimentos, os níveis de DON-3-Glc nos produtos finais de alimentos processados parecem ser fortemente dependentes de dois fatores, a intensidade dos processos de desintoxicação das próprias plantas vivas (Berthiller *et al.*, 2005) e o tipo de tecnologia de processamento empregado no estudo (Lancova *et al.*, 2008).

A planta, durante o seu processo de desintoxicação auto protetor, vai acumulando e construindo um “armazém” de micotoxinas, que podem ser libertadas por processos

enzimáticos aquando da produção de alimentos, levando a um aumento dos níveis de DON-3-Glc nos produtos finais, e talvez até maiores do que nas respetivas matérias-primas (Lancova *et al.*, 2008).

Outra situação preocupante, não tem a ver com os derivados de DON, mas com o tipo de alimentos que são estudados, e pelo facto de que muitos estudos publicados sobre a monitorização deste grupo de micotoxinas se terem focado na análise de alimentos à base de cereais, maioritariamente para pequeno-almoço, como flocos de trigo/milho, farelo, pão, excluindo na sua maioria outros alimentos que poderão conter a micotoxina (Lancova *et al.*, 2008).

Esta micotoxina aparece em quantidades mais significativas nos EUA e no Canadá, apesar de ser das menos tóxicas, comparativamente às outras micotoxinas do grupo dos tricotecenos do grupo B. A manifestação mais comum do DON na América do Norte e na Europa remete para a perda da produção suína, enquanto na China e Índia ocorreram casos graves de intoxicação humana de natureza gastrointestinal (Haschek e Voss, 2013).

Características físico-químicas

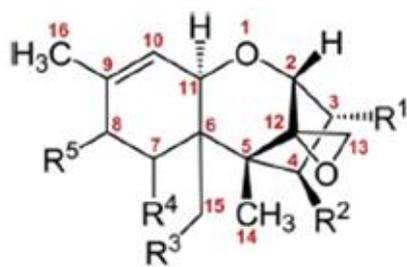
Os tricotecenos são estáveis a 120°C, moderadamente estáveis a 180°C, e decompõem-se dentro de 30–40 min a 210°C (Canady *et al.*, 2001).

Os tricotecenos estão divididos em macrocíclicos e não-macrocíclicos, baseado na presença, ou não, de um anel macrocíclico ligado a C-4 e C-15 com di-ésteres ou tri-ésteres (Haschek e Voss, 2013).

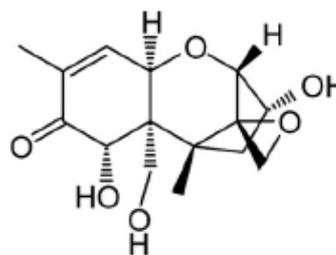
As micotoxinas tricotecénicas são possuidoras de uma estrutura sesquiterpénica tetracíclica, uma ligação olefina em C-9,10 e um grupo epóxido nas posições C-12,13 (Haschek e Voss, 2013).

Os tricotecenos dividem-se em 4 grupos, A, B, C e D. No grupo B, onde se inclui o DON, contém um grupo hidroxilo em C-7 e um grupo carbonilo em C-8 (Haschek e Voss, 2013) (Figura 2).

As características físico-químicas do DON, dos seus derivados acetilados e do derivado glicosilado encontram-se explicitadas na Tabela I.



Tricotecenos



Desoxinivalenol

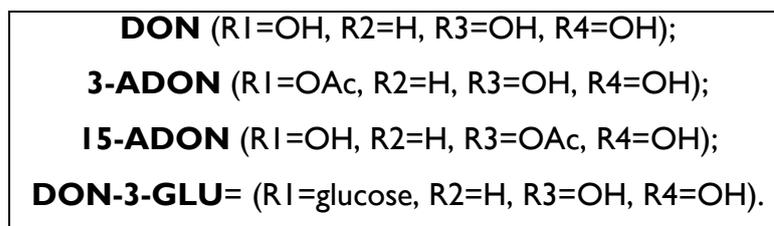
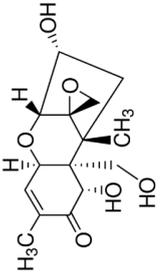
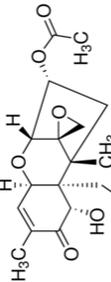
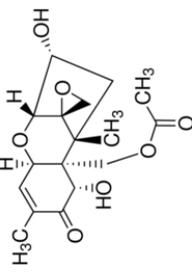
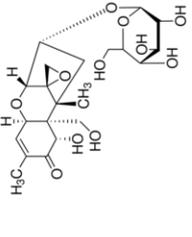


Figura 2 – Estrutura química geral dos tricotecenos e estrutura do Desoxinivalenol (12,13-epoxi-3 α , 7 α , 15-trihidroxi-9-tricotecen-8-ono), respetivamente, (adaptado de Haschek e Voss, 2013).

Tabela 1 – Características físico-químicas de DON e dos seus derivados (adaptado de NCIB, PubChem e T3DB).

Toxina	Nome Químico e estrutura	Fórmula Elementar	Peso Molecular	Área de superfície polar topológica	P.f.	Solubilidade	T _{1/2}
DON	Desoxinivalenol 	C ₁₅ H ₂₀ O ₆	296,319 g/mol	99,5 A ²	151-153°C	<u>Em água:</u> 36,0 mg/mL <u>Em solventes orgânicos:</u> metanol, etanol, clorofórmio, acetonitrilo. Via Oral: <u>Pico:</u> 15-30min <u>T_{1/2}:</u> 7.1h Via IV: <u>T_{1/2}:</u> 3.9h	
3-ADON	3-acetildesoxinivalenol 	C ₁₇ H ₂₂ O ₇	338,356 g/mol	106 A ²	185,5-186°C	<u>Em solventes orgânicos:</u> metanol, etanol, clorofórmio, acetonitrilo.	
15-ADON	15-acetildesoxinivalenol 	C ₁₇ H ₂₂ O ₇	338,356 g/mol	106 A ²	140-141°C	<u>Em solventes orgânicos:</u> metanol, etanol, clorofórmio, acetonitrilo.	
DON-3-GLU	Desoxinivalenol-3-glucósido 	C ₂₁ H ₃₀ O ₁₁	458,46 g/mol	179 A ²		<u>Em água</u> <u>Em solventes orgânicos:</u> metanol, etanol, clorofórmio, acetonitrilo.	

Toxicidade

Os tricotecenos podem ser absorvidos via gastrointestinal, respiratória e transdérmica. Haschek e Voss (2013) afirmam que a maior parte da informação toxicocinética existente advém de estudos de administração IV, pois, devido aos efeitos eméticos da micotoxina, os animais a partir de certa altura recusam a alimentação, tornando-se difícil estudar a via de exposição gastrointestinal e inalatória.

Estas toxinas não são extensivamente bioacumuláveis, sendo excretadas ao fim de algumas horas após a exposição. Os tricotecenos são metabolizados no nosso organismo por reações de hidrólise, hidroxilação, glucoronidação, onde são transformados em metabolitos menos tóxicos. Devido à grande influência de DON na suinicultura, a toxicocinética deste composto tem sido extensivamente estudada nos suínos (Haschek e Voss, 2013).

A administração intravenosa (i.v.) de 1 mg/kg de p.c. de micotoxina permitiu verificar que o DON foi rapidamente distribuído para todos os fluidos corporais e tecidos, e maioritariamente eliminada na urina e nas fezes. Após 24 h os níveis de DON baixaram para níveis desprezáveis, excepto na urina e bÍlis (Haschek e Voss, 2013).

O DON, mesmo sendo dos menos letais dos tricotecenos, é dos que aparece em maior quantidade, e os suínos são dos animais mais sensíveis a esta micotoxina. Quanto aos humanos, devido à limitação de dados existente, somos obrigados a recorrer às semelhanças anatómicas e fisiológicas entre os humanos e aqueles animais e fazer extrapolação de dados (Haschek e Voss, 2013).

Na década de 30 e 40, na URSS ocorreu um surto em grande escala de leucopenia tóxica alimentar (ATA) após o consumo de trigo, milho e cevada com bolor. Com o consumo crónico em baixas doses, começaram a surgir sintomas como retardamento do crescimento, anorexia e imunotoxicidade, enquanto que com elevadas doses ocorreram hemorragias, vómitos, diarreia, leucopenia e, nos casos mais graves, morte do tipo choque (Pestka, 2010).

Devido à gravidade do surto, os alimentos foram alvo de estudo, descobrindo-se que continham fungos do género *Fusarium* produtores de tricotecenos. Mais tarde propuseram que estes fossem agentes etiológicos de ATA. No início dos anos 70 uma das micotoxinas foi identificada e caracterizada como DON (Pestka, 2010).

Outros surtos foram também registados no Japão, Coreia e o mais grave, entre 1984-1991, na China afetando cerca de 130.000 pessoas (Pestka, 2010).

A manifestação dos efeitos adversos após exposição ao DON está dependente da quantidade ingerida e do tempo de exposição e pode ser classificada como:

- Aguda: quando o animal é exposto a uma única dose elevada da micotoxina.
- Crónica: aquando do contacto contínuo de baixas concentrações da micotoxina (Pestka, 2010).

Apesar do DON não ser das micotoxinas mais tóxicas dos tricotecenos, como já referi, aquando da exposição aguda a contaminação da ração animal é um fator de grande importância, que tem levado a grandes perdas económicas, principalmente na suinicultura, pelo fato deste animal ser dos mais sensíveis a esta micotoxina (Pestka, 2010).

A exposição de forma aguda a elevadas doses de DON, provoca emese, diarreia, aumento da salivação e dor abdominal. Nos suínos, o mais rápido a ocorrer é a emese (Pestka, 2010).

Por outro lado, aquando da exposição crónica a baixas doses de DON, o animal passa a ingerir alimentos cada vez com menos frequência, chegando até a privar-se, levando a reduções de peso corporal (Haschek e Voss, 2013).

Os efeitos fisiopatológicos associados à exposição com DON incluem sinalização neuroendocrina alterada, perturbação do eixo da hormona do crescimento, indução do gene pro-inflamatório e alteração da integridade intestinal (Pestka, 2010).

A nível celular, ao induzir stress ribotóxico, perturba a síntese de macromoléculas, a diferenciação, a proliferação, a sinalização celular e pode induzir a morte (Pestka, 2010).

Foram realizados estudos, tendo como principal preocupação a saúde humana, no entanto nos países desenvolvidos serão necessários testes epidemiológicos para determinar se existe uma relação entre o elevado consumo de DON e a incidência quer da gastroenterite quer dos potenciais efeitos crónicos (Pestka, 2010).

Verifica-se, no entanto, de forma universal um retardamento no crescimento em animais monogástricos, como gatos, ratos, cães e em porcos quando expostos de forma crónica a baixas doses da toxina (Haschek e Voss, 2013).

Não existem antídotos nem curativos. O único tratamento a fazer aquando da intoxicação é garantir a reposição de eletrólitos, portanto, evitar o contacto com a toxina, é a única medida preventiva. Em caso de contacto com a pele, os cremes antibióticos tópicos podem ajudar a prevenir dores e infeções oportunistas (Langford, 2004).

Com a compreensão da base molecular da toxina e do seu modo de ação, será mais fácil a previsão de potenciais efeitos adversos para a saúde humana no futuro, permitindo, baseando-nos na ciência, uma melhor e mais precisa avaliação e gestão dos riscos.

Legislação

Em 2010, a EFSA recebeu um mandato da Comissão Europeia (CE) para reunir e analisar de forma contínua, toda a informação disponível do DON nos alimentos e publicar o relatório com a análise dos dados. De maneira a controlar ativamente os níveis de DON, nos alimentos destinados ao consumo humano e alimentos para animais, foram estabelecidos programas de monitorização e limites máximos (LM) a nível Europeu. Os resultados da monitorização de cada país devem ser reportados à EFSA de forma regular (EFSA, 2013).

Durante um período de 6 anos, anteriores ao relatório EFSA (2013), foram obtidos 26613 resultados analíticos de 21 estados membros e da Noruega, onde apenas 6 países, de entre os quais, Portugal, não submeteram dados durante esse período (EFSA, 2013) (Figura 3).

País	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Austria	657	268	57	792	959	-	2733
Belgium	-	-	-	-	52	-	52
Cyprus	18	14	25	20	47	40	164
Czech Republic	42	-	28	78	91	354	593
Germany	2262	1955	2458	3582	3317	-	13574
Denmark	101	81	74	89	90	-	435
Estonia	-	1	3	4	4	-	12
Spain	119	118	45	-	-	-	282
Finland	-	127	101	159	36	-	423
France	-	-	-	121	719	-	840
United Kingdom	45	-	660	231	-	-	936
Greece	-	-	-	-	15	-	15
Hungary	-	207	209	151	845	-	1412
Ireland	-	77	95	40	41	-	253
Lithuania	50	31	7	17	23	-	128
Luxembourg	-	-	67	32	-	-	99
Latvia	-	12	18	-	-	-	30
Norway	75	237	197	150	-	-	659
Romania	-	-	-	-	692	199	891
Sweden	-	37	-	-	64	-	101
Slovenia	-	-	-	135	159	-	294
Slovakia	619	650	462	487	460	9	2687
Total	3988	3815	4506	6088	7614	602	26613

Figura 3 – Tabela representativa da quantidade de resultados analíticos submetidos pelos diferentes países da União Europeia (UE) e da Noruega à EFSA (EFSA, 2013).

Apenas 2 países submeteram dados nos 6 anos consecutivos. Por esta situação e pela cobertura desigual de informação na Europa, é induzido um possível viés na representatividade dos dados.

Na Tabela 2 estão representados os LM do DON e derivados acetilados, impostos pela CE para os diversos géneros (adaptado de REGULAMENTO (CE) N.º 1881/2006 DA COMISSÃO).

Tabela 2 – LMs do DON para os vários géneros alimentícios impostos pela CE (Regulamento N° 1881/2006 de 19 dezembro 2006).

Categoria	Género alimentar	DON (ug/kg)
1	Cereais não transformados com exceção de trigo duro, aveia e milho.	1250
2	Trigo duro e aveia não transformados.	1750
3	Milho não transformado, com exceção do milho não transformado destinado à moagem por via húmida.	1750
4	Cereais destinados ao consumo humano direto, farinha, sêmola e gérmen de cereais, enquanto produto final comercializado para consumo humano direto, com exceção dos géneros alimentícios referidos nos pontos 7, 8 e 9.	750
5	Massas alimentícias (secas).	750
6	Pão (incluindo pequenos produtos de panificação), produtos de pastelaria, bolachas, refeições leves à base de cereais e cereais para pequeno-almoço.	500
7	Alimentos transformados à base de cereais e alimentos para bebés destinados a lactentes e crianças jovens.	200
8	Frações de moagem do milho com partículas de dimensões > 500 micron abrangidas pelos códigos NC 1103 13 ou 1103 20 40 e outros produtos da moagem do milho com partículas de dimensões > 500 micron que não se destinem ao consumo humano direto abrangidos pelo código NC 1904 10 10.	750
9	Frações de moagem do milho com partículas de dimensões ≤ 500 micron abrangidas pelo código NC 1102 20 e outros produtos da moagem do milho com partículas de dimensões ≤ 500 micron que não se destinem ao consumo humano direto abrangidos pelo código NC 1904 10 10.	1250

CN – nomenclatura combinada

Para o DON-3-Glc não foram ainda estabelecidos o LM nem a TDI (EFSA, 2013).

Para produtos destinados à alimentação animal, os LMs do DON encontram-se representados na Figura 4.

Micotoxina	Produtos destinados à alimentação animal	Valor de orientação em mg/kg (ppm) de alimento para animais para um teor de humidade de 12 %
Desoxivalenol	Matérias-primas para alimentação animal (*)	
	— cereais e produtos à base de cereais (**) com exceção dos subprodutos do milho	8
	— subprodutos do milho	12
	Alimentos compostos para animais, com exceção de:	5
	— alimentos compostos para suínos	0,9
	— alimentos compostos para vitelos (< 4 meses), borregos, cabritos e cães	2

Figura 4 – LMs do DON destinados a alimentação animal (adaptado da Recomendação UE 2016/1319).

Ocorrência

A ocorrência de DON em diferentes cereais e derivados cultivados em diversos países observa-se na Tabela 3.

Na Tunísia, os cereais (maioritariamente trigo duro) correspondem a uma grande parte da agricultura, que estão muitas vezes contaminados por micotoxinas devido às condições climáticas do país. Estas são favoráveis ao crescimento e contaminação por *Fusarium* com o conseqüente aparecimento de DON nos respetivos grãos. Bensassi *et al.* (2010), usando o método de cromatografia líquida com deteção por Ultra-Violeta (LC-UV), avaliaram a presença de DON em trigo duro fresco e acabado de colher, nas principais áreas de cultivo do país (Bensassi *et al.*, 2010).

Sabendo que o limite Europeu é de 1750 µg/kg, com este estudo verificou-se que as quantidades de DON encontradas no trigo duro na Tunísia são elevadíssimas (Tabela 3), chegando a ser 17,5 vezes mais do que a permitida. Estes valores são justificados pelas condições climáticas da Tunísia que, em virtude de se tratar de um país mediterrânico, é caracterizado por um clima que favorece a proliferação de fungos e a acumulação de micotoxinas. Perante estes valores as autoridades devem tomar medidas para inverter esta situação.

Com o objetivo de estudar a ocorrência de DON no mercado catalão foram recolhidas, entre junho e julho de 2008, 479 amostras de alimentos de 6 super e hipermercados, das 12 principais cidades da Catalunha, representativos de 72% da

população. As amostras eram consideradas como das mais suscetíveis a serem contaminadas por esta micotoxina (Cano-Sancho *et al.*, 2011).

As amostras onde foi encontrada menor percentagem de toxina foram as de cerveja (1,4%) e as de milho doce (2,8%). As com maior percentagem foram as de massa (74,3%), os *snacks* de milho (78,9%) e o pão (100%) (Cano-Sancho *et al.*, 2011).

Com recurso à CG-ECD, GC-MS e LC-DAD, Cano-Sancho *et al.* (2011) descobriram uma quantidade elevada de DON em cereais no mercado da Catalunha em que 5 amostras continham teores acima do limite máximo permitido pela Comissão Europeia, nomeadamente no pão, na massa e nos flocos de milho com teores máximos de 0,739 µg/g, 0,946 µg/g e 0,580 µg/g respetivamente (Tabela 3), (Cano-Sancho *et al.*, 2011).

Na China um estudo concluiu que há uma maior deteção de DON no milho onde todas as amostras estudadas se encontram abaixo do limite máximo estipulado pela Comissão Europeia (Li *et al.*, 2012).

Para além de ter demonstrado boa precisão e exatidão, Li *et al.*, (2012): “Até à data, existem muitos métodos para a deteção de tricotecenos. No entanto, o nosso método demonstrou ser altamente sensível à determinação do DON em cereais com LOD de 0,0003 µg/g.

Sugerindo então, que este método é bem capaz de poder vir a monitorizar os níveis de DON nos cereais.

Martins e Martins (2001) quantificaram DON em alimentos à base de trigo, num total de 88 amostras de cereais de trigo para pequeno-almoço que foram compradas em diferentes supermercados em Lisboa. A quantificação foi efetuada com recurso a CL e deteção por UV. Verificou-se uma maior percentagem de amostras com níveis de contaminação na ordem dos 0,101 a 1 µg/g, (54,5%), no entanto 4 amostras de farelo de trigo apresentam valores superiores a 5 µg/g, que mesmo correspondendo a 4,6% do total das amostras, é um valor preocupante. Em média, as amostras analisadas apresentam valores altos, que eventualmente poderão acarretar riscos para o consumidor sugerindo que, antes do consumo, estes deveriam ser alvo de inspeção e deveria ser feita uma monitorização do produto final (Martins e Martins, 2001).

Malachova *et al.* (2011) determinaram o grau de contaminação de micotoxinas no mercado checo. Foi avaliado um total de 116 produtos à base de cereais, nas 4 maiores áreas comerciais da República Checa, em 2010. As amostras foram divididas em 5 grupos, que continham os seguintes ingredientes:

- Grupo 1, 17 produtos de farinha branca: torradas de pão branco, pão, e rolos de várias formas produzidas apenas de farinha de trigo branca.
- Grupo 2, 36 produtos só de milho e farinha mista: misturas de farinha de trigo e centeio com a adição de outros ingredientes, tais como farinha de aveia, trigo duro e cevada, malte, farelo, sementes de sésamo e sementes de linhaça.
- Grupo 3, 7 cereais de pequeno-almoço: flocos de aveia, trigo duro, trigo, e cevada, para preparados de puré e muesli, etc.
- Grupo 4, 34 “snacks”: fatias de pão crocantes (milho, trigo, centeio, espelta), “*puffed snacks*” preparados do arroz com ou sem a adição de sabor doce/salgado, ex: queijo, maçã, etc., e ainda biscoitos e *snacks* para festas, com ou sem sabor a alho, queijo, pizza, etc., preparados a partir de farinha de trigo.
- Grupo 5, 22 farinhas: farinha de trigo com grãos de várias dimensões, 3 amostras de farinha integral (espelta, trigo e centeio) e uma amostra farinha de pão de centeio.

Para garantir a representatividade das amostras, foram selecionadas 5 amostras dos grupos 1 e 2, 5 pacotes de cada amostra dos grupos 3 ao 5. As amostras foram homogeneizadas e moídas a partículas de 1mm. Recorrendo ao método de QuEChERS e à LC-MS, os autores detetaram DON e DON-3-Glc (Malachova *et al.*, 2011).

Na Tabela 3 observa-se a incidência e concentrações de DON e DON-3-Glc em diversos alimentos à base de cereais e, curiosamente, nos alimentos do grupo 3 e 4 a incidência de DON-3-Glc foi superior à de DON.

Em forma de análise, verificamos que em todos os alimentos, exceto nos do grupo 5, os níveis mais altos de DON variaram entre 0,320 e 0,431 µg/g, onde nenhum ultrapassou o limite estipulado pela Comissão Europeia. Para as farinhas do grupo 5, o nível mais alto detetado foi de 0,594 µg/g, que também esta dentro do limite legislativo para este produto. Para o DON-3-Glc, como já referi, não foram ainda estabelecidos o LM nem a TDI (EFSA, 2013).

Tabela 3 – Frequência (%) e níveis de detecção ($\mu\text{g/g}$) do DON e DON-3-Glc em cereais em diferentes países.

País/Região	Cereal	N° amostras	N° amostras contaminadas	Frequência de detecção	Min – Máx ($\mu\text{g/g}$)	Média ($\mu\text{g/g}$)	Bibliografia	
Tunísia	Trigo duro	65	54	83%	7,2 - 54	30,6	Bensassi et al., 2010	
	Flocos de trigo	27	20	74,1%	N – 0,437	0,190+/- 0,117		
Catalunha (Espanha)	Flocos de milho	65	49	73,4%	N – 0,580	0,109+/- 0,012		
	Cerveja	71	1	1,4%	0,012	0,012		
	Milho doce	72	2	2,8%	N – 0,139	0,114+/- 0,036	Cano-Sancho et al., 2011	
	Snacks de milho	71	56	78,9%	N – 0,304	0,153+/- 0,058		
	Massa	70	52	74,3%	N – 0,946	0,226+/- 0,177		
	Pão fatiado	72	12	16,7%	N – 0,098	0,068+/- 0,018		
	Pão	31	31	100%	N – 0,739	0,246+/- 0,158		
			Total: 479	Total: 223				
	China	Trigo	4	3		0,031-0,534	0,219	
		Arroz	14	5		0,007-0,096	0,033	
Milheto		7	3		0,018-0,096	0,054		
Milho		10	9		0,041-0,381	0,154		
Trigo serraceno		1	ND	52,5%	ND	ND	Li et al., 2012	
Sorgo chinês		1	ND		ND	ND		
Soja		1	ND		ND	ND		
Aveia		2	1		0,024	0,024		
			Total: 40	Total: 21				

N – valor não fornecido; ND – não detectado

Tabela 3 – Frequência (%) e níveis de deteção (µg/g) do DON e DON-3-Glc em cereais em diferentes países (continuação).

País/Região	Cereal	Nº Amostras	Nº Amostras contaminadas		Frequência de deteção		Min – Máx (µg/g)		Média (µg/g)	Bibliografia
			DON	D3G	DON	D3G	DON	D3G		
Portugal	Farelo de Trigo	24	16	14	94%	82%	0,013-0,350	0,005-0,030	0,125	Martins e Martins., 2001
	Flocos de Trigo	20	32	28	89%	78%	0,013-0,431	0,007-0,041	0,139	
	Trigo com frutas	44	2	6	28%	85%	0,031-0,347	0,019-0,066	0,189	
	Total: 88		16	28	62%	82%	0,013-0,320	0,011-0,094	0,124	
República Checa				15	73%	68%	0,028-0,594	0,005-0,072	0,103	Malachova et al., 2011
	Grupo 1	17	16	14	94%	82%	0,013-0,350	0,005-0,030	0,125	
	Grupo 2	36	32	28	89%	78%	0,013-0,431	0,007-0,041	0,139	
	Grupo 3	7	2	6	28%	85%	0,031-0,347	0,019-0,066	0,189	
	Grupo 4	34	21	28	62%	82%	0,013-0,320	0,011-0,094	0,124	
	Grupo 5	22	16	15	73%	68%	0,028-0,594	0,005-0,072	0,103	
	Total: 116		Total: 87	Total: 91						

N – valor não fornecido; ND – não detetado

Metodologias Analíticas

Os requerimentos e procedimentos para a colheita, preparação e análise de amostras, com o objetivo de monitorizar os níveis de DON em géneros alimentícios, estão detalhados na diretiva EC, N° 882/2004 do Parlamento Europeu.

Os laboratórios devem ser credenciados por um organismo reconhecido que opere com a ISO/IEC 17011:2004 para garantir a qualidade das suas operações.

Quando uma organização pretende realizar um estudo focado na quantificação e deteção da presença de DON em certa(s) amostra(s), executa uma série de atividades que por norma são a extração dos compostos alvo, a purificação, a deteção e quantificação da toxina.

Processos de extração

Este passo é normalmente de fácil execução. Como o DON possui alguma polaridade, este pode ser extraído dos cereais por agitação mecânica ou trituração com uma mistura de solventes de natureza hidrofílica como água/acetoneitrilo (fornece melhores extratos) ou água/metanol, como se pode verificar na Tabela 4. Outros como o polietilenoglicol, etanol, clorofórmio e metanol também são utilizados, no entanto os mais utilizados são os primeiramente referenciados (Trenholm *et al.*, 1985).

Atualmente tem sido utilizado o método QuEChERS (*QUick, Easy, CHeap, Effective, Rugged and Safe*), nomeadamente no estudo de Malachova *et al.* (2011), em que foram usados 7,5 ml de água desionizada com 10 ml de acetoneitrilo, com adição de 1 g de NaCl e 4 g MgSO₄, conseguindo detetar a presença de DON e DON-3-Glc como já tinha referido anteriormente. No entanto com este método obtiveram um limite de deteção para o DON-3-Glc insuficiente para quantificação. Malachova *et al.* (2011) tiveram de recorrer ao método clássico usando 25 ml acetoneitrilo-água (84:16 v/v) como solvente de extração e mais tarde, redissolveram com 1 ml de mistura metanol-água 1:1 v/v seguindo para LC-MS. Para que DON-3-Glc fosse quantificável recorreram à coluna cromatográfica *Hypersil GOLD Q*, devido à sua grande capacidade de reter analitos polares (Malachova *et al.*, 2011).

Processos de purificação

Nesta fase são usados vários métodos como extração em fase sólida, colunas de limpeza multifuncionais e colunas de imunoafinidade (IACs), sendo as últimas as mais utilizadas como podemos conferir na Tabela 4.

Há algumas décadas atrás, para detetar, quantificar e/ou purificar amostras de DON nos cereais, recorria-se a uma extração com coluna de fase sólida (SPE) como a coluna C18 e cartuchos HLB. Contudo, alguns analitos ficavam retidos devido a interações hidrofóbicas não específicas dos adsorventes de SPE (Li *et al.*, 2012).

Com o passar do tempo verificou-se que as IACs, suportadas em reações anticorpo-antígeno, forneciam resultados mais precisos e com recurso a menores volumes de amostra e de solvente orgânico relativamente à SPE com coluna C18 e cartuchos HLB (Li *et al.*, 2012).

Quando o extrato aquoso da amostra é aplicado na IAC, as moléculas do analito ligam-se aos anticorpos presos a um material de suporte orgânico. Antes da lavagem, desnaturam-se os anticorpos com solventes orgânicos puros com o objetivo de desacoplar as toxinas, sendo estas eluídas em solvente orgânico. No entanto, para um melhor aproveitamento do método e obtenção de melhores resultados, há quem associe a este, uma coluna de carvão-alumina-celite (Li *et al.*, 2012).

Li *et al.* (2012) usaram um novo anticorpo monoclonal (mAb), produzido nos seus laboratórios na China, para desenvolver a IAC usada no processo de purificação de DON onde também foi usado UPLC-MS/MS equipado com ionização por eletrospray (ESI) (Li *et al.*, 2012).

Processos de deteção e quantificação

Nos últimos anos tem sido usado mais frequentemente HPLC acoplado a ultra-violeta (UV), espectro de massa (MS) ou Fluorescência (FL). Este método é suportado já pelas IACs, contudo, a absorção UV de DON é fraca, onde alguns solventes orgânicos podem interferir com os resultados. Processos com deteção MS por outro lado, são usados para evitar falsos resultados (Li *et al.*, 2012).

Métodos quantitativos como ELISA e TLC eram utilizados para a determinação de DON, no entanto, o método ELISA é incapaz de distinguir entre 3-ADON e 15-ADON levando a que este tenha vindo a cair em desuso. Para a deteção de coocorrências de DON com outras micotoxinas, a GC é muito utilizada com detetor de captura de eletrões (ECD),

com detecção por ionização por chama, com detecção por MS ou MS em tandem. A escolha depende do tipo de tricoteceno a analisar (Li *et al.*, 2012).

Na tabela 4, está um resumo das técnicas utilizadas na obtenção dos dados apresentados na Tabela 3 nos diversos cereais.

Tabela 4 – Metodologias analíticas usadas na determinação de Desoxinivalenol em cereais.

Amostra	Extração	Purificação	Deteção e Quantificação	LOD (µg/g)	Bibliografia
Trigo Duro	água	IAC	LC-UV a 220 nm. <u>Fase móvel:</u> acetonitrilo/água (5:95, v/v)	0.01 µg/g	Benassi et al., 2010
1. flocos de milho e de trigo, snacks de milho e massa 2. pão 3. Pão fatiado, milho doce e cerveja.	acetonitrilo/água (84:16 v/v) com agitação	IAC	1. CG-ECD, Coluna de sílica capilar HP-5 2. GC-MS, Coluna de sílica capilar HP-5 3. LC-DAD Coluna Zorbax Eclipse Plus C18 UV a 220nm	N	Cano-Sancho et al, 2011
Trigo Arroz Milheto Milho Trigo serraceno Sorgo chinês Soja Aveia	metanol/água (20:80 v/v)	IAC	UPLC-MS/MS <u>Fase móvel:</u> água/acetonitrilo (88:12, v/v)	0.0003 µg/g	Li et al, 2012

N – Valor não fornecido

Tabela 4 – Metodologias analíticas usadas na determinação de DON em cereais (continuação).

Amostra	Extração	Purificação	Deteção e Quantificação	LOD ($\mu\text{g/g}$)	Bibliografia
farelo de trigo flocos de trigo trigo com frutas	água destilada	IAC	LC-UV a 218nm <u>Fase móvel:</u> acetoneitrilo em água	0.1 $\mu\text{g/g}$	Martins e Martins, 2001
Grupo 1 Grupo 2 Grupo 3 Grupo 4 Grupo 5	QuEChERS		UHLC-MS Coluna Hypersil GOLD Q <u>Fase móvel:</u> formiato de amónio (5mM) em água e metanol, em gradiente.	0.0000125 $\mu\text{g/g}$	Malachova <i>et al.</i> 2011

Atualmente na maior parte dos casos a detecção UV a 220nm acoplada a HPLC é dos processos mais utilizados, para a determinação de DON em alimentos/cereais. No entanto, conforme o anteriormente dito, não é dos mais eficazes (Li et al., 2012).

Josephs et al. (2010) apresentam dados interessantes na variedade de métodos, que aqui apresento, utilizados por vários laboratórios envolvidos na análise do DON com outras micotoxinas do gênero *Fusarium*. Este estudo englobou 28 laboratórios situados na Europa, EUA e Singapura, onde o DON foi purificado a partir de material cru, e determinado, de acordo com a tabela seguinte. Adicionei também à Tabela 5 o método HPLC-MS, que mesmo não tendo sido utilizado pelos laboratórios neste estudo, também é usado na atualidade.

Tabela 5 – Diferentes métodos de estudo e os respectivos limites de detecção típicos, usados pelos diferentes laboratórios.

Método	Nº de laboratórios	Limite de detecção (LOD) (ug/g)
HPLC-UV	6	0.1-1.6
HPLC-MS	ND	0,006-0,04
HPLC, detecção fluorescente	1	0.02
GC-ECD	5	0.02-0.05
GC-MS	2	0.005
ELISA	4	N
Extração em fase sólida, com colunas de carvão MycoSep™ ou Florisil-active	9	N
Colunas de imunoafinidade	2	N
Técnica Extrelut®, combinada com extração em fase sólida com purificação por Florisil	1	N

N – valor não fornecido, ND – método não usado

Com este estudo, e após analisar a performance dos resultados obtidos por esta variedade de métodos, concluíram que mesmo assim, os métodos utilizados na análise de coocorrências do DON com outras micotoxinas do gênero *Fusarium*, ainda não são satisfatórios. (Josephs et al., 2010).

Conclusão

Apesar de estarem a ser cada vez mais desenvolvidas novas técnicas para avaliação do grau de toxicidade e da permanência do DON nos cereais, em virtude de este ser um tema relativamente recente, muito há a esclarecer, como, a reação do nosso organismo à toxina e aos derivados desta, como prevenir a contaminação e saber distinguir uma gastroenterite de uma intoxicação por estas micotoxinas.

Devido à limitação de dados *in vivo*, somos obrigados a recorrer às semelhanças anatómicas e fisiológicas entre os humanos e os suínos, que são das cobaias mais constantes nestes estudos, e fazer a extrapolação de dados.

O controlo do crescimento e propagação dos fungos do género *Fusarium* passa tanto pelos agricultores como pelas entidades responsáveis pelo controlo da qualidade alimentar como, a vistoria das áreas de cultivo, da observação da própria plantação, e do cuidado empenhado no tratamento dos cereais para consumo.

Com a observação do relatório EFSA de 2013, verificamos que uma grande parte dos países membros ainda não deram a devida atenção ao assunto. Considero que seja fundamental o relato periódico dos resultados dos estudos à EFSA porque, com a colaboração total dos estados membros, conseguimos obter resultados mais fidedignos e representativos da realidade.

Os resultados da análise da contaminação dos cereais pelo DON estão também dependentes da qualidade das matérias primas e da aparelhagem usada na sua deteção e quantificação. A bagagem monetária do laboratório é dos fatores mais restritivos e dos que mais se faz sentir.

Com a observação dos resultados dos estudos de alguns países conseguimos aperceber da gravidade da situação atual, principalmente nos países em desenvolvimento como o caso da Tunísia que apresenta valores de contaminação completamente destacados de todos os outros.

Muitos autores defendem ainda que os métodos atuais ainda não são os mais adequados para o estudo desta matéria, no entanto, certos países com laboratórios mais sofisticados, nomeadamente, a China, começam já a desenvolver novas técnicas para a deteção e quantificação do DON com o objetivo de obter resultados mais sensíveis, em relação às técnicas atuais.

Por fim considero que com a compreensão da base molecular da toxina e do seu modo de ação e, se todos os países fossem capazes de executar estudos rotineiros e não apenas quando há suspeita de contaminação, seria mais fácil a previsão de potenciais efeitos

adversos para a saúde humana no futuro, permitindo, uma melhor e mais precisa avaliação e gestão dos riscos.

Referências Bibliográficas

Ajandouz E.H., Berdah S., Moutarduer V., Bege T., Birnbaum D.J., Perrier J., Pasquale E.D e Maresca M. - **Hydrolytic Fate of 3/15-Acetyldeoxynivalenol in Humans: Specific Deacetylation by the Small Intestine and Liver Revealed Using in Vitro and ex Vivo Approaches**, *Toxins* (Basel), (2016), Aug; 8(8): 232. Carlo Brera, Academic Editor. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4999848/>

Bensassi F., Zaied C., Abid S., Hajlaoui M., Bacha H., - **Occurrence of deoxynivalenol in durum wheat in Tunisia**. *Food Control* 21 (2010), 281–285.

Berthiller, F., Dall'Asta, C., Schuhmacher, R., Lemmens, M., Adam, G., & Krska, A. R. - **Masked mycotoxins: Determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2005), 53(9), 3421–3425.

Canady R. A., Coker R. D., Egan S. K., Krska R., Kuiper-Goodman T., Olse M., Pestka J., Resnik S. and Schlatter J. - **Deoxynivalenol**. Food and Drug Administration, Washington DC, USA (2001). Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je05.htm>.

Cano-Sancho, G., Valle-Algarra, F. M., Jiménez, M., Burdaspal, P., Legarda, T. M., Ramos, A. J., ... Marín, S. - **Presence of trichothecenes and co-occurrence in cereal-based food from Catalonia (Spain)**. *Food Control*, (2011), 22(3–4), 490–495.

Cartão saúde - **Quem tem um ponto ganha um desconto**. Disponível em: <http://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/Quem-tem-um-ponto-ganha-um-desconto.aspx>.

De Boevre, M., Di Mavungu, J. D., Maene, P., Audenaert, K., Deforce, D., Haesaert, G., De Saeger, S. - **Development and validation of an LC-MS/MS method for the simultaneous determination of deoxynivalenol, zearalenone, T-2-toxin and some masked metabolites in different cereals and cereal-derived food**. *Food Additives & Contaminants: (2012), Part A*, 29(5), 819–835.

EFSA. - **Statement on the risks for public health related to a possible increase of the maximum level of deoxynivalenol for certain semi-processed cereal products**. *EFSA Journal*, (2013), 11(12), 3490.

Estudantina Universitária de Coimbra. - **Balada da despedida do 5º ano jurídico 88/89**. Disponível em: <http://www.mat.uc.pt/~mat1177/letra.html>.

Food, E., & Authority, S. - **Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure**. *EFSA Journal*, (2013), 11(10) 1–8 and 20.

Haschek, W. M., & Voss, K. A. - **Mycotoxins**. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (Third Edition). Elsevier. (2013), Chapter 39, 1187–1258.

INFARMED - Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho, **aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar**. Disponível em: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a.

ISO/IEC 17011:2004 - **Conformity assessment - General requirements for accreditation bodies accrediting conformity assessment bodies.** Disponível em: <https://www.iso.org/standard/29332.html>.

Josephs, R. D., Schuhmacher R. & Krska R., - **International Interlaboratory Study for the Determination of the Fusarium Mycotoxins Zearalenone and Deoxynivalenol in Agricultural Commodities.** *Food Additives & Contaminants* (2010), 18(5): 417–430.

Kaizen institute - **O que é kaizen.** Disponível em: <https://pt.kaizen.com/quem-somos/significado-de-kaizen.html>.

Lancova, K., Hajslova, J., Poustka, J., Krplova, A., Zachariasova, M., Dostalek, P., & Sachambula, L. - **Transfer of *Fusarium* mycotoxins and “masked” deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barley through malt to beer.** *Food Additives & Contaminants: Part A*, (2008), 25(6), 732–744.

Langford, R. E. - **Introduction to Weapons of Mass Destruction Radiological, Chemical, and Biological.** (2004), Book, ISBN: 978-0-471-46560-7, p.182

Li, Y., Wang, Z., De Saeger, S., Shi, W., Li, C., Zhang, S., Shen, J. - **Determination of deoxynivalenol in cereals by immunoaffinity clean-up and ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry.** *Methods*, (2012), 56(2), 192–197.

Malachova, A., Dzuman, Z., Veprikova, Z., Vaclavikova, M., Zachariasova, M., & Hajslova, J. - **Deoxynivalenol, deoxynivalenol-3-glucoside, and enniatins: The major mycotoxins found in cereal-based products on the Czech market.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2011), 59(24), 12990–12997.

Martins, M. L., & Martins, H. M. **Determination of deoxynivalenol in wheat-based breakfast cereals marketed in Portugal.** *Journal of Food Protectors*, (2001), 64(11), 1848–1850.

PARLAMENTO EUROPEU e o CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA, REGULAMENTO (CE) N.º 882/2004, **relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais**, (29 de Abril de 2004).

Pestka, J. J. - **Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance.** *Archives of Toxicology*, (2010), 84(9), 663–679.

Portal Administração, - **Análise SWOT (Matriz) – Conceito e aplicação.** (2014). Disponível em: <http://www.portal-administracao.com/2014/01/analise-swot-conceito-e-aplicacao.html>.

PubChem, Sigmaaldrich e T3DB, **Imagens e informação dos compostos da Tabela 1: Desoxinivalenol, 3-acetildesoxinivalenol, 15-acetildesoxinivalenol e desoxinivalenol-3-glucósido**, retiradas de: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/deoxynivalenol296325148110811?lang=pt®ion=PT> e <http://www.t3db.ca/toxins/T3D36>

68,

http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/32927?lang=pt®ion=PT&cm_sp=Insite-_prodRecCold_xviews-_prodRecCold10-1 e <http://www.t3db.ca/toxins/T3D3700>,
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/32928?lang=pt®ion=PT> e
<http://www.t3db.ca/toxins/T3D3701> e
http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/32911?lang=pt®ion=PT&cm_sp=Insite-_prodRecCold_xviews-_prodRecCold10-6,
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71312510#section=Computed-Properties>,
respetivamente.

Recomendação (EU) 2016/1319 da Comissão, **que altera a Recomendação 2006/576/CE no que diz respeito ao desoxinivalenol, à zearalenona e à ocratoxina A nos alimentos para animais de companhia**, Jornal Oficial da União Europeia, (29 de julho de 2016), p.2. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016H1319&from=PT>.

REGULAMENTO (CE) N. o 1881/2006 DA COMISSÃO, **que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios**, Jornal Oficial da União Europeia, L 364/5. (dezembro 2006). Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:PT:PDF>.

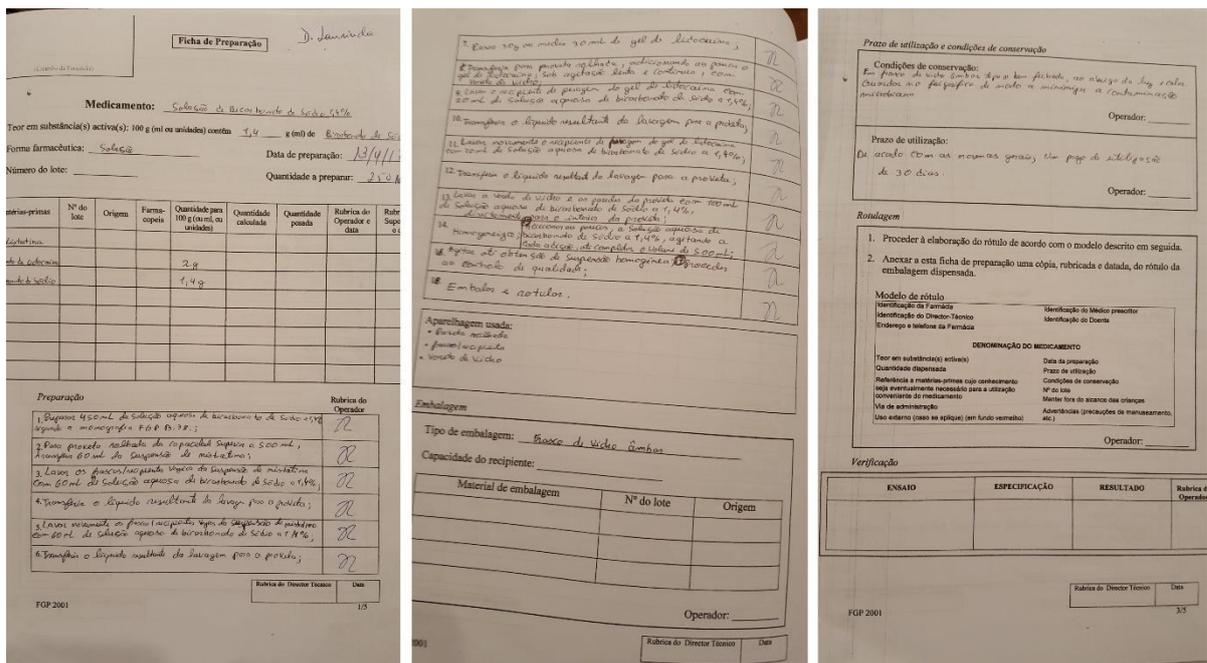
Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., & Kizek, R. - **Deoxynivalenol and its toxicity**. *Interdisciplinary Toxicology*, (2010), 3(3), 94–99.

Trenholm H.L., Warner R.M., Prelusky D.B. - **Assessment of extraction procedures in the analysis of naturally contaminated grain products for deoxynivalenol (vomitoxin)**. *Journal – Association of Official Analytical Chemists*. Jul-Aug (1985); 68(4):645–9. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4030633>.

Anexos



1 – Imagens promocionais e papéis demonstrativos das promoções em vigor na farmácia.



2 – Ficha de preparação de uma solução de Bicarbonato de Sódio a 1,4%.



3 – Diploma URIAGE, formação no Hotel Vila Galé.



4 – Congresso no Porto “Sol, Pele e Cancro cutâneo em 2017”.



5 – Quadro KAIZEN da FR.