



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Bruno Martins Lopes Alves

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Bruno Gaspar e do Dr. João Feteira e Monografia intitulada “A Era Pós-Antibiótica: Abordagens Terapêuticas Emergentes Para o Tratamento da Pneumonia Nosocomial” sob a orientação da Professora Doutora Eduarda Moreno Silveira, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Bruno Martins Lopes Alves

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Bruno Gaspar e do Dr. João Feteira e Monografia intitulada “A Era Pós-Antibiótica: Abordagens Terapêuticas Emergentes Para o Tratamento da Pneumonia Nosocomial” sob a orientação da Professora Doutora Eduarda Moreno Silveira, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2023

Eu, Bruno Martins Lopes Alves, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018295799, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “A Era Pós-Antibiótica: Abordagens Terapêuticas Emergentes Para o Tratamento da Pneumonia Nosocomial” apresentado 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, 8 de setembro de 2023

Bruno Martins Lopes Alves

(Bruno Martins Lopes Alves)

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo amor incondicional, apoio constante e por acreditarem em mim desde o início.

Ao meu irmão, no meio de brigas e alegrias, por ser um companheiro e amigo ao longo da vida.

Às minhas avós, pela preocupação e carinho, bem como as suas histórias que me inspiram.

À restante família, por estar sempre presente, nos bons e maus momentos.

Aos amigos que fiz em Coimbra, pelas risadas, apoio mútuo, memórias inesquecíveis e que levo comigo para a vida. Sem vocês estes 5 anos não seriam inesquecíveis.

Aos meus padrinhos e afilhados, de faculdade e de tuna, por serem a minha segunda família e tornarem a minha experiência em Coimbra tão especial.

À Casa da Laura onde ficaram, entre 4 paredes, muitas, mas muitas histórias.

À Phartuna, por proporcionar muitos momentos de alegria, música, convívio, amizade e, acima de tudo, crescimento pessoal.

À FFUC, pelo crescimento pessoal e académico, bem como por toda a bagagem de conhecimentos que levo comigo

A ti, Coimbra, por me acolheres de braços abertos e fazeres-me sentir em casa.

À Professora Doutora Eduarda Silveira, pela compreensão, dedicação e orientação ao longo da elaboração da monografia.

Ao Dr. Bruno Gaspar, pelo seu acompanhamento e profissionalismo exemplares, bem como à restante equipa da Farmácia do Fórum por toda a experiência enriquecedora.

Ao Dr. João Feteira, pela sua visão na Indústria Farmacêutica, e ao restante departamento de formulação pelos momentos incríveis ao vosso lado.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram, de uma forma ou de outra, para a realização deste curso, bem como deste trabalho. O vosso apoio e presença fizeram toda a diferença.

Índice

Capítulo I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	8
1. Introdução.....	9
2. Farmácia do Fórum.....	9
3. Análise SWOT.....	10
3.1. Pontos Fortes.....	10
3.1.1. Horário e Localização da Farmácia.....	10
3.1.2. Dinâmica da equipa.....	11
3.1.3. Plano de estágio.....	11
3.1.4. Equipamentos e tecnologias.....	12
3.1.5. Prestação de vários serviços.....	13
3.2. Pontos Fracos.....	13
3.2.1. Sistemas Informáticos.....	13
3.2.2. Rotatividade horária da equipa.....	14
3.3. Oportunidades.....	14
3.3.1. Formação contínua.....	14
3.3.2. Sistema de reservas e campanhas.....	15
3.3.3. Inventário.....	15
3.3.4. Reuniões comerciais e gestão de compras.....	16
3.4. Ameaças.....	16
3.4.1. Concorrência.....	16
3.4.2. PVP elevado e rutura de stock.....	16
3.4.3. <i>Internet</i> como fonte de informação do utente.....	17
3.4.4. Receitas Manuais.....	17
4. Considerações Finais.....	18
5. Referências Bibliográficas.....	19
6. Anexos.....	21
Anexo I – Dispositivo multicompartimental da Preparação Individualizada de Medicação (PIM).....	21
Anexo II – Ficha de preparação de um medicamento manipulado e respetivo rótulo.....	22
Anexo III – Casos Práticos.....	23
Caso Prático 1: Preparação Individualizada de Medicação.....	23
Caso Prático 2: Tosse com expetoração.....	25
Caso 3: Grávida com congestão nasal.....	26
Caso Prático 4: Incontinência urinária.....	27
Caso Prático 5: Infestação de pulgas.....	28

Capítulo II: Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas.....	30
1. Introdução.....	31
2. Bluepharma.....	31
2.1. Departamento de Desenvolvimento de Produto – Unidade de Formulação.....	32
3. Análise SWOT.....	33
3.1. Pontos Fortes.....	33

3.1.1. Integração de novos colaboradores	33
3.1.2. Equipamentos e material de trabalho.....	34
3.1.3. Plano de Estágio	34
3.1.4. Formação Contínua.....	35
3.2. Pontos Fortes.....	36
3.2.1. Período de estágio limitado.....	36
3.3. Oportunidades.....	37
3.3.1. Plano curricular do MICF.....	37
3.3.2. Contacto com outros departamentos	37
3.3.3. Estágio na Unidade Industrial de Eiras	38
3.3.4. Acompanhamento em reuniões comerciais	38
3.4. Ameaças	39
3.4.1. Constrangimentos ao planeamento semanal.....	39
3.4.2. Enquadramento do Farmacêutico e do Estágio Curricular na IF.....	39
4. Considerações Finais	40
5. Referências Bibliográficas.....	41
6. Anexos.....	43
Anexo I – Apresentação final do trabalho “Maybe Excipients Are Not As Inert As We Thought: Impact On Drug Metabolism And Efflux Transport”.....	43
Anexo II – Apresentação final do trabalho “Scale-up: Dry Granulation Roller Compactor Simulation by Styl’One Evolution”	44
Capítulo III: Monografia	
Resumo	46
Abstract	47
Abreviaturas.....	48
1. Introdução.....	51
2. Pneumonia nosocomial: uma ameaça crescente.....	52
2.1. Classificação	52
2.2. Epidemiologia	54
2.3. Etiologia.....	56
2.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	56
2.3.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	59
2.3.3. <i>Acinetobacter baumannii</i>	59
2.3.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
2.3.5. <i>Enterobacter spp.</i>	62
2.4. Avaliação clínica da Pneumonia Nosocomial	62
2.5. Prevenção da VAP: implementação dos <i>bundles</i> e novas abordagens preventivas.....	64
3. Antibioterapia: a abordagem atual da Pneumonia Nosocomial	65
4. Terapia Fágica.....	69
4.1. Princípios da Terapia Fágica versus Antibioterapia.....	71
4.2.1. Adaptações do recetor	72
4.2.2. Sistemas de defesa do hospedeiro.....	73
5. Terapia com péptidos antimicrobianos	77
5.1. Atividade antimicrobiana dos AMPs e as suas limitações.....	77
5.2. Perspetivas futuras dos péptidos antimicrobianos.....	78

6. Conclusões	80
7. Referências Bibliográficas.....	81

Índice de Figuras da Monografia

Figura 1 - Exemplo de imagem obtida por radiografia torácica	63
Figura 2 - Representação esquemática de alguns sistemas de defesa reconhecidos do hospedeiro	74
Figura 3 - Representação esquemática de sistemas de defesa derivados de fagos	75

Índice de Tabelas da Monografia

Tabela 1 - Taxas de pneumonia adquirida em UCI associadas à intubação por país/network (EU/EEA), 2019.	55
Tabela 2 - Número de isolados e percentagens dos 10 microrganismos isolados mais frequentes de episódios de pneumonia adquirida em UCI, por país/network (EU/EEA), 2019.....	55
Tabela 3 - Estirpes prioritárias para o desenvolvimento de novos antibióticos.....	56
Tabela 4 - Materiais antimicrobianos aplicados em ETTs e respetivas abordagens preventivas em desenvolvimento nos últimos 20 anos.....	65

Capítulo I



Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia do Fórum

Estágio sob a orientação do Dr. Bruno Gaspar

Abreviaturas

BPF – Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária

EC – Estágio Curricular

FC – Farmácia Comunitária

FEFO – do inglês, *first expired, first out*

FF – Farmácia do Fórum

MM – Medicamentos Manipulados

OTC – do inglês, *over-the-counter*

PCHC – Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal (PCHC)

PIM – Preparação Individualizada da Medicação

PVP – Preço de Venda ao Público

RM – Receitas Manuais

SWOT – do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O Estágio Curricular (EC) é uma etapa crucial na formação de qualquer estudante de Ciências Farmacêuticas, pois é nesta fase académica que se aplicam os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, no contexto do medicamento e da saúde, conferindo as competências e valências necessárias para exercer profissionalmente em diversas áreas de atividade, como farmácia comunitária (FC), farmácia hospitalar, distribuição farmacêutica, indústria farmacêutica, análises clínicas, assuntos regulamentares, ensino farmacêutico, entre outras¹.

Como profissionais da saúde, os farmacêuticos comunitários têm a responsabilidade de garantir o bem-estar dos utentes, recorrendo a uma variedade de ferramentas e serviços disponíveis na FC, a fim de os educar sobre a importância da promoção da saúde e de garantir a segurança, eficácia e qualidade de sua terapêutica. Na maioria das vezes, este é o local onde os utentes se dirigem para resolver transtornos menores de saúde ou para obter aconselhamento. Além disso, a versatilidade do ato farmacêutico permite a administração de medicamentos injetáveis, a determinação de parâmetros bioquímicos, a realização de testes *point-of-care*, entre outros serviços, desempenhando assim um papel fundamental na prevenção, gestão e promoção da saúde.

Este estágio foi realizado na Farmácia do Fórum, em Coimbra, sob a orientação do Farmacêutico Dr. Bruno Gaspar, desde 9 de janeiro a 28 de abril de 2023. Coincidentemente, durante este período, o setor da saúde enfrentou alguns constrangimentos, como a rutura de *stock* de diversos medicamentos, o aumento dos preços de venda ao público (PVP) e greves que afetaram consultas nos centros de saúde, hospitais e serviços de urgência, impactando de certa forma algumas atividades realizadas ao longo deste estágio em FC.

2. Farmácia do Fórum

A Farmácia do Fórum (FF) está localizada num dos centros comerciais da cidade de Coimbra, tendo como Diretora Técnica a Dr^a. Laura Coelho. O Fórum Coimbra trata-se de uma zona comercial que oferece uma vasta gama de serviços, incluindo lojas, restaurantes, supermercado, clínica dentária, entre outros, o que faz com que a FF esteja numa localização estratégica, próxima a outros serviços que atraem um grande fluxo de pessoas, todos os dias.

Trata-se de uma farmácia de grandes dimensões e com grande capacidade de aprovisionamento, munida de oito balcões de atendimento ao público e um gabinete de consultas onde são prestados vários serviços entre os quais: consultas de nutrição e podologia,

rastreios, administração de medicamentos injetáveis ou de vacinas e ainda medição de parâmetros bioquímicos. A ampla sala de atendimento permite a exposição de diversos produtos como medicamentos *over-the-counter* (OTC), suplementos alimentares, produtos de puericultura, nutrição, veterinária, ortopedia, bucodentários e ainda produtos cosméticos e de higiene corporal (PCHC). No *backoffice*, para além da área de receção de encomendas e armazenamento, também possui um laboratório para preparação de medicamentos manipulados (MM) e a preparação individualizada de medicação (PIM), um gabinete e uma sala de descanso, onde ocorrem formações aos colaboradores com alguma regularidade.

3. Análise SWOT

De forma a transmitir a experiência e competências adquiridas, destaco neste relatório, por meio de uma análise SWOT, os pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) na realização deste estágio. Adicionalmente, no campo dos Anexos apresentarei alguns casos clínicos relativos a atendimentos que realizei e considereei pertinentes no âmbito deste relatório.

Tabela I - Esquema ilustrativo da análise SWOT referente ao estágio na Farmácia do Fórum.

<i>Strengths</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Horário e localização da farmácia • Dinâmica da equipa • Plano de estágio • Equipamentos e tecnologias • Prestação de vários serviços
<i>Weaknesses</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Sistemas Informáticos • Rotatividade horária da equipa
<i>Opportunities</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Formação contínua • Sistema de reservas e campanhas • Inventário • Reuniões comerciais e gestão de compras.
<i>Threats</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Concorrência • PVP elevado e rutura de <i>stock</i> • Internet como fonte de informação do utente • Receitas manuais

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Horário e Localização da Farmácia

A FF encontra-se situada no piso 0 do centro comercial Fórum Coimbra. Um dos aspetos distintivos da FF é o seu horário de funcionamento, que se destaca em comparação com muitas outras farmácias da zona. Com abertura diária das 8h00 às 00h00, a farmácia oferece um horário alargado, proporcionando acesso aos serviços farmacêuticos durante uma extensa parte do dia.

Essa disponibilidade horária diversificada reflete-se na variedade de utentes que frequentam o estabelecimento. A natureza do público oscila consideravelmente, influenciada pela hora do dia, bem como por fatores socioeconómicos, faixa etária e dinâmicas sociais. Nas primeiras horas da manhã, por exemplo, é frequente observar pessoas que procuram levantar medicação habitual e, à medida que o dia avança e se aproxima do horário de encerramento, a farmácia atrai aqueles que buscam aconselhamento cosmético ou que vêm de serviços de urgência. A presença de utentes em busca de tratamentos para condições de saúde menores é constante ao longo do dia.

Importa referir também que existe uma notável afluência de utentes e um número significativo de utentes fidelizados. Assim, considerando todos estes fatores, a realização do estágio em diferentes horários e o contacto com diferentes públicos revelou-se uma mais-valia, proporcionando uma heterogeneidade de atendimentos, permitindo-me construir bases sólidas em cada campo da FC.

3.1.2. Dinâmica da equipa

A equipa, composta por mais de duas dezenas de colaboradores, a maioria dos quais farmacêuticos, demonstrou bom dinamismo e profissionalismo, proporcionando um ambiente estimulante para o desenvolvimento das minhas capacidades. Neste contexto, o facto de existir uma delegação de tarefas e responsabilidades entre toda a equipa, nomeadamente a gestão de marcas pelos vários colaboradores, fomentou a minha participação ativa e interesse na medida em que obtive formações regulares sobre diversos produtos e serviços da FF, como administração e manipulação de medicamentos. Assim, considero que a FF demonstrou um compromisso sólido com as Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF), ressaltando a sua importância.

Por fim, a confiança em mim depositada e a transmissão de valores e conhecimentos permitiram que abordasse, com bastante autonomia, todas as atividades propostas, enriquecendo meu crescimento pessoal e a minha aprendizagem prática.

3.1.3. Plano de estágio

O plano de estágio foi concebido pelo meu orientador, Dr. Bruno Gaspar, com uma abordagem progressiva e estruturada, permitindo-me uma transição gradual entre diferentes funções e tarefas, até atingir autonomia suficiente para o atendimento ao público. Nas primeiras semanas, a minha atividade consistiu em tarefas voltadas ao *backoffice*, envolvendo a receção de encomendas e a organização de medicamentos, por exemplo. Deste modo, dada a dimensão da farmácia e a extensa capacidade de *stock*, foi-me proporcionada a oportunidade

única de explorar o vasto portefólio de produtos e medicamentos, dando margem para me familiarizar com os diferentes nomes e marcas de medicamentos, rever as classes farmacológicas e as suas indicações farmacêuticas, estabelecendo uma base sólida para uma interação com os utentes nos balcões de atendimento. Adicionalmente, também executei tarefas no âmbito da gestão de encomendas e *stocks*, gestão do *robot*, tarefas relativas a documentação como organização e regularização de notas de encomenda e notas de crédito e conferência de receituário.

Como parte do plano de estágio, o meu orientador incentivou-me a explorar as BPF, a fim de compreender as atividades e exigências inerentes ao contexto da farmácia. Conforme o crescimento da confiança no meu trabalho e a minha familiarização com o ritmo da farmácia, a transição para a assistência aos atendimentos ocorreu de forma natural. O estágio foi estruturado de forma a permitir-me observar diversos atendimentos até sentir-me seguro para interagir diretamente com os utentes, um processo que se revelou ágil. Adicionalmente, participei em todos os serviços farmacêuticos disponíveis na farmácia, contribuindo para uma experiência abrangente e enriquecedora durante todo o período.

3.1.4. Equipamentos e tecnologias

A contínua evolução e inovação tecnológica permitiu às farmácias a adoção de tecnologias para otimizar os processos logísticos, resultando numa menor margem para erros e numa redução do tempo dedicado a essas tarefas. Neste contexto, a FF possui várias tecnologias, incluindo sistemas informáticos, uma montra digital e um sistema de senhas que prioriza utentes vindos de serviços de urgência.

Além destes, a FF emprega dois equipamentos fundamentais para uma operação eficaz e gestão eficiente de recursos. O *robot* assume um papel central, armazenando e dispensando medicamentos mediante solicitação do farmacêutico através do sistema informático. Esta tecnologia agiliza a arrumação dos medicamentos, ao identificar e alocar produtos através da leitura dos códigos de barras ou *datamatrix*. Ao seguir o princípio "*first expired, first out*" (FEFO), o *robot* prioriza a dispensa dos medicamentos com prazos de validade mais curtos, otimizando a gestão do *stock* e reduzindo potenciais erros. O segundo equipamento é o sistema *CashGuard* que facilita as transações financeiras, reforçando a eficiência operacional e o compromisso com a excelência no atendimento ao público. Este sistema automatiza a gestão de dinheiro, calculando automaticamente o troco correto, agilizando o tempo de cada atendimento, e proporcionando um registo detalhado de todas as entradas e saídas de dinheiro.

3.1.5. Prestação de vários serviços

Durante o meu EC tive a oportunidade de participar numa variedade de serviços que a farmácia usufrui e que o farmacêutico pode prestar, enriquecendo a minha experiência profissional. Uma dessas oportunidades foi o acompanhamento da administração de medicamentos injetáveis e vacinas, compreendendo a abordagem do farmacêutico com o utente, atendendo às considerações de segurança envolvidas.

Pude também participar num rastreio osteoarticular com recurso à termografia infravermelha, um método não invasivo que permite reconhecer, através da deteção de pequenas variações de temperatura do corpo humano, possíveis pontos de inflamação. No âmbito de rastreios, embora considere que tenha sido com pouca frequência, pude realizar monitorizações de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, incluindo pressão arterial, glicémia e colesterol total, contribuindo para uma prestação de cuidados de saúde mais abrangente.

No contexto laboratorial da farmácia, também me cruzei com duas competências farmacêuticas: a PIM e a manipulação de medicamentos. A PIM é fundamental para assegurar a utilização adequada e eficaz dos medicamentos, promovendo a adesão à terapêutica e evitando o desperdício de recursos de saúde. A essência desse processo envolve a organização cuidadosa das formas farmacêuticas sólidas, utilizando dispositivos de múltiplos compartimentos que são selados na própria farmácia (Anexo I) e, posteriormente, cedidos ao utente^{2; 3; 4}. Durante este processo, envolvi-me ativamente em todas as fases, desde a recolha minuciosa de informações sobre o utente e da sua terapêutica, até à gestão da medicação e preparação propriamente dita, como descrito no Caso Clínico I do Anexo III.

No que diz respeito à preparação de MM, desenvolvi competências práticas na área da farmácia galénica. Durante o estágio, participei ativamente na preparação de diferentes tipos de MM, envolvendo tarefas como o preenchimento da ficha de preparação, cálculo do PVP e rotulagem. Algumas das preparações que tive a oportunidade de acompanhar incluíram a produção de cápsulas de Minoxidil 2.5 mg, indicadas para distúrbios capilares como a alopecia, bem como a preparação de uma pomada de enxofre a 5%, destinada ao tratamento da escabiose. O Anexo II é um exemplo de ficha de preparação de um MM que preparei na FF.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Sistemas Informáticos

A Farmácia do Fórum adota o *Sifarma*[®] como o sistema de gestão e atendimento, desenvolvido pela Glintt, que oferece vantagens substanciais na otimização de atividades e

economia de tempo⁵. O novo módulo de atendimento do *Sifarma*[®] representa um passo inovador, embora com algumas lacunas a serem preenchidas. Durante o processo de adaptação inicial na farmácia, deparei-me com algumas dúvidas, nomeadamente no módulo mais antigo, e erros informáticos que contribuíram para atendimentos mais demorados. Situações como realizar uma campanha, consultar histórico de vendas por utente ou tarefas realizadas no âmbito da gestão da farmácia, revelaram ser alguns desses desafios, dado à falta de contacto prévio com o sistema antigo. Adicionalmente, existe a incompatibilidade do sistema de gestão com o sistema de senhas e o sistema que gere os cartões de fidelização, esquecendo muitas das vezes de adicionar os pontos relativos à compra, o que levou ao descontentamento dos utentes nalguns atendimentos que realizei. No entanto, a FF explorou gradualmente as novas atualizações e recursos do novo módulo, o que representou uma oportunidade de aprendizagem para toda a equipa e superação desta questão.

3.2.2. Rotatividade horária da equipa

Como referido anteriormente, a FF opera com um horário alargado, o que implica que os colaboradores tenham diferentes horários de trabalho. Embora o meu horário tenha sido relativamente constante, salvo exceções em que trabalhei durante os fins de semana e durante o período noturno, muitas vezes não coincidia com o horário do meu orientador, o principal responsável na delegação das minhas tarefas e partilha de informações necessárias. Essa falta de sincronização nos horários com o orientador resultou, por vezes, no atraso da partilha de algumas informações críticas relacionadas ao funcionamento da farmácia, a procedimentos específicos ou a atualizações importantes que eram muitas vezes transmitidas por canais de comunicação internos da equipa aos quais não tinha acesso. Deste modo, considero este fator como um ponto fraco do meu estágio, visto que a atualização de algumas informações chegava ao meu conhecimento com algum desfasamento temporal, traduzindo-se em pequenos entraves na realização de algumas tarefas.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Formação contínua

Dentro do enquadramento estabelecido pelas BPF, o compromisso do farmacêutico com a atualização contínua de conhecimentos em âmbitos científicos, éticos e legais é de primordial importância para assegurar a eficiência e competência na prática profissional⁶. Durante o período do estágio, esta abordagem à formação constante foi uma oportunidade que se traduziu em mais de 20 sessões formativas, tanto na própria FF quanto em encontros

externos com diversos profissionais, que incluíram delegados de informação médica, farmacêuticos e médicos, por exemplo.

A gama de temas foi diversificada, englobando tópicos como a dermocosmética, saúde íntima feminina, nutrição infantil, cessação tabágica, medicamentos de uso veterinário, suplementação alimentar, entre outros. Além das formações externas, também participei em sessões com membros da equipa da FF, incluindo o meu orientador, que aprofundaram áreas não abordadas nas sessões externas, como os produtos bucodentários. Além disso, como grande parte do meu estágio foi realizado sem a presença de outro estagiário, foi possível à equipa formar-me com um maior foco, adaptado às minhas capacidades e conhecimentos.

De um modo geral, esta capacidade da FF providenciar um grande número formações aos estagiários, tanto internas como externas, reforçou a minha confiança no aconselhamento ao público e enriqueceu a minha bagagem de conhecimentos.

3.3.2. Sistema de reservas e campanhas

No âmbito da melhoria contínua e eficiência no trabalho, a FF explorou as novas funcionalidades do sistema *Sifarma*[®], nomeadamente no que diz respeito ao sistema de reservas e ao sistema de campanhas comerciais. Aprofundando todas as potencialidades do novo sistema informático, a FF transitou, no decorrer do meu estágio, de um modelo de reservas em papel para um formato digital incluído no próprio sistema. Para além disso, a otimização deste processo permitiu que toda a informação relativa às reservas ficasse acessível a todos os colaboradores nos vários computadores da farmácia, evitando o desperdício de papel e tempo. Adicionalmente, todas as campanhas de desconto de produtos também foram registadas na plataforma, o que evitou desde aí recorrer ao *Sifarma 2000*[®] e à realização de cálculos durante os atendimentos.

3.3.3. Inventário

Dada a extensa variedade de produtos e *stock* substancial nesta farmácia, revelou-se um desafio adquirir conhecimento abrangente sobre todos produtos. Como parte da prática comum neste espaço, a FF realiza um inventário anual, que coincidiu com o meu período de estágio. A oportunidade de participar ativamente neste processo revelou-se altamente benéfica, pois permitiu-me familiarizar com produtos de rotação mais lenta, bem como com marcas e gamas (nomeadamente cosméticas) que ainda não tinha tido a oportunidade de explorar. Essa experiência fortaleceu significativamente a minha perceção perante a gestão de inventário e da farmácia com um amplo leque de produtos.

3.3.4. Reuniões comerciais e gestão de compras

A gestão de compras desempenha um papel crucial na manutenção de um *stock* equilibrado e na garantia de que os produtos certos estão disponíveis para os utentes. Durante o meu estágio na Farmácia do Fórum, tive a oportunidade de acompanhar reuniões comerciais com representantes de diferentes marcas e laboratórios, onde eram revistos o desempenho e tendências de vendas de produtos específicos, e discutidas estratégias para promover campanhas e produtos. Essas interações proporcionaram uma compreensão valiosa de como as decisões de compras eram tomadas, levando em consideração não apenas as preferências dos utentes, mas também a viabilidade comercial de cada produto.

3.4. Ameaças

3.4.1. Concorrência

Uma vez localizada num grande centro comercial, a FF compete diretamente com uma ampla gama de estabelecimentos que oferecem produtos de saúde e bem-estar, desde medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), produtos cosméticos, alimentação infantil, entre outros. No entanto, o grande diferencial da FF reside na capacidade dos farmacêuticos e técnicos em fornecer um aconselhamento personalizado e profissional aos utentes.

É relevante destacar que, em alguns atendimentos que realizei, as pessoas optaram por recorrer a outros locais devido a preços potencialmente mais baixos, mesmo após terem obtido o aconselhamento farmacêutico, as instruções de utilização ou outras informações pertinentes. Noutras ocasiões, nem foi possível realizar qualquer tipo de aconselhamento, uma vez que após questionarem pelo preço de determinados produtos, os utentes demonstravam de imediato desinteresse na sua aquisição. Infelizmente, torna-se desafiador para a FF competir em termos de preços, especialmente com lojas *online* que podem oferecer produtos a preços mais acessíveis. Deste modo, é por vezes complicado chegar a um equilíbrio entre a sustentabilidade económica e os preços praticados na farmácia, com a satisfação geral e concretização de venda com os utentes, uma vez que a decisão de compra é fortemente influenciada pelo fator económico, independentemente de um bom aconselhamento ou não.

3.4.2. PVP elevado e rutura de stock

Durante o estágio enfrentei alguns entraves que afetaram a minha interação com o público e nas demais atividades na farmácia. Destas situações destaco a revisão anual de preços de medicamentos no mercado ambulatorio, o que se traduziu em aumentos de PVP numa

esmagadora maioria de medicamentos⁷. Esta alteração nos preços, particularmente nos medicamentos de preço fixo, implicou uma atenção extra durante o processo de receção de encomendas, visando evitar quaisquer erros no sistema informático e na dispensa de medicamentos com preço atualizado, sem escoar primeiramente os medicamentos com preços anteriores. Durante este período, nem sempre foi possível aplicar a metodologia FEFO na gestão e escoamento de *stock*, uma vez que a prioridade era não o prazo de validade, mas o PVP mais antigo. É de notar que em muitos dos atendimentos que realizei, o preço do produto a dispensar não coincidia com o preço no *Sifarma*[®], devendo ter o cuidado de realizar uma verificação constante na triagem dos medicamentos.

Outra das principais dificuldades encontradas relaciona-se com a falta de disponibilidade de diversos medicamentos, muitos utilizados em tratamentos crónicos, e sem alternativa no mercado. Esta situação resultou nalgum descontentamento por parte dos utentes, apesar dos esforços da FF para lidar com o problema por meio da implementação de uma "lista de reservas" destinada a gerir as escassas dispensas desses medicamentos. Assim, foi necessário racionar e ratear a quantidade de embalagens a dispensar por utente, com o objetivo de assegurar o acesso à terapêutica para o maior número possível de pessoas.

3.4.3. Internet como fonte de informação do utente

O recurso à *internet* como ampla fonte de informação na comunidade apresentou-se numa grande exigência a ultrapassar durante diversos atendimentos, uma vez que, a facilidade de acesso dos utentes a informações sobre saúde e medicamentos suscitou a questões e preocupações que chegaram até ao balcão da farmácia. Lidar com essas informações, nem sempre confiáveis, exigia capacidades adicionais de comunicação, devendo explicar de forma clara e objetiva as informações corretas ao utente.

Grande parte das situações eram voltadas a produtos naturais que alegavam ser benéficos para a saúde, recorrendo muitas das vezes aos seus telemóveis para mostrar se tínhamos o dito produto. Perante estas circunstâncias, tentei compreender as necessidades dos utentes procurando e aconselhando medidas farmacológicas ou não farmacológicas para as respetivas questões. O facto de ter formações com regularidade, e de dispor de um diversificado leque de produtos, permitiu-me atuar neste tipo de situações com a maior transparência e com recomendações baseadas em evidências científicas.

3.4.4. Receitas Manuais

Apesar das receitas manuais (RM) terem sido substituídas pelas prescrições eletrónicas, as RM ainda desempenham um papel excecional, sendo recorridas em situações atípicas no

momento da prescrição, como em cenários de falhas informáticas, inadaptação do prescritor ao sistema eletrónico ou para casos de prescrições domiciliares⁶. No entanto, esse sistema apresenta-se como um obstáculo na dinâmica e integridade do atendimento, visto que frequentemente tende a atrasar este mesmo processo. A necessidade de verificar sua conformidade e adequação à dispensa acrescenta um maior nível de complexidade, além dos desafios que podem surgir devido à legibilidade da caligrafia do prescritor, tendo sentido a necessidade, em diversas ocasiões, de recorrer ao auxílio de um outro colega. Além disso, aceitar RM com erros ou omissões nos campos preenchidos, como quantidade, data ou assinatura, podem comprometer a qualidade e eficiência do atendimento prestado e levar à recusa por parte da Administração Central do Sistema de Saúde, I. P., responsável pela validação do receituário⁸.

4. Considerações Finais

O estágio realizado no último semestre do MICF constitui uma etapa fundamental para consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso. Durante os meus quatro meses passados na FF, tive a oportunidade de integrar uma equipa de profissionais comprometidos com a excelência no atendimento e nas tarefas diárias, permitindo-me explorar e tirar todo o partido desta experiência em farmácia comunitária.

Sem dúvida, o foco no estagiário foi um dos destaques deste estágio, resultando no desenvolvimento de novas competências e no aprofundamento dos meus conhecimentos. Todas as tarefas propostas foram executadas com êxito e autonomia, e senti uma evolução constante, motivando-me a querer aprender mais. Assim, é crucial adotar medidas que nos permitam expandir o nosso conhecimento e aprimorar as nossas capacidades, especialmente numa profissão de vital importância para a promoção da saúde e bem-estar.

Além disso, é fundamental valorizar a nossa profissão, e nós, farmacêuticos, somos os primeiros responsáveis em fazê-lo. Reconhecer a importância do nosso papel na sociedade e o impacto que podemos ter na vida das pessoas é essencial para continuar a contribuir para o bem-estar e a saúde da comunidade. Portanto, encaro este estágio como um passo significativo no meu percurso académico e agradeço à Farmácia do Fórum por isso.

5. Referências Bibliográficas

1. PARLAMENTO EUROPEU E CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA - **Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013.** Jornal Oficial da União Europeia. 2013:2013) 132–170. [Consult. 6 fev. 2023]. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:354:0132:0170:pt:PDF>.
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Norma Geral - Preparação Individualizada de Medicação (PIM)** [Consult. 30 ago. 2023]. Disponível em https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf.
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 97/2018, de 09 de abril - «Primeira alteração à Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro, que define os serviços farmacêuticos que podem ser prestados pelas farmácias».** Diário da República Portuguesa. [Consult. 30 ago. 2023]. Disponível em <https://files.diariodarepublica.pt/1s/2018/04/06900/0155601557>
4. VENALINK - **Venalink** [Consult. 30 ago. 2023]. Disponível em <https://www.venalink.es/>.
5. GLINTT - **O que fazemos** [Consult. 30 ago. 2023] Disponível em <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>.
6. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária.** [Consul. 30 ago. 2023]. https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas_praticas_farmaceuticas_para_a_farmacia_comunitaria_2009_20853220715ab14785a01e8.pdf.
7. INFARMED, I. P. - **Circular Informativa - Revisão Anual de Preços (RAP) – 2023.** [Consult. 6 fev. 2023]. Disponível em <https://www.infarmed.pt/documents/15786/8073749/Circular+Informativa+no.+13/4f1be808-f626-d834-cf27-341d0aaf8bbf?version=1.1>.
8. INFARMED, I. P. - **Portaria n.º 223/2015, de 27 de julho. Regula o procedimento de pagamento da comparticipação do Estado no preço de venda ao público (PVP) dos medicamentos dispensados a beneficiários do Serviço Nacional de Saúde (SNS).** [Consult. 30 ago. 2023]. Disponível em https://www.infarmed.pt/documents/15786/1072289/113D1A2_Port_223_2015_IALT_FV.pdf.
9. DIÁRIO DA REPÚBLICA - **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêutico Regulamento n. 1015/2021.** [Consult. 31 ago. 2023] Disponível em https://ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/0014300159_469595878620679aa0a805.pdf.
10. ZAMBON - **Fluimucil®.** [Consult. 31 ago. 2023] Disponível em <https://www>.

fluumucil.pt/medicamento-expectorante-fluumucil/fluumucil-xarope-crianca.

11. INFARMED I. P. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Fluumucil 2%, 20 mg/ml solução oral. 5 ml** [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>.

12. SIMÓN, Aurora - **A Tosse**. Revista da Ordem dos Farmacêuticos. doi: 10.1002/14651858.CD001831.pub4.15.

13. INFARMED, I. P. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO - Nasorhinathiol 0,5 mg/ml gotas nasais, solução**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml;jsessionid=iqOFeY-EPFRJMDeZmNhlFVeb42XMZjN_yUbU2Ub8.fo2.

14. TILMAN - **Eucalyplus®**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://tilmanportugal.com.pt/eucalyplus/>.

15. MENARINI - **Confymol®**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://www.confymol.pt/formula-go-less-vitamina-d-selenio/>.

16. MENARINI - **Confymol | Como os exercícios de Kegel podem ajudar com a incontinência urinária**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://www.confymol.pt/testemunhos-e-dicas-relacionados/como-os-exercicios-de-kegel-podem-ajudar-com-a-incontinencia-urinaria/>.

17. ENNA - **Enna Pelvic Ball®**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://ennawomen.com/enna-pelvic-ball/>.

18. KUNKLE, Bruce N. *et al.* - **Assessment of the onset of action of afoxolaner against existing adult flea (Ctenocephalides felis) infestations on dogs**. Veterinary Parasitology. ISSN 18732550. 201:3–4 (2014) 204–206. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.02.023.

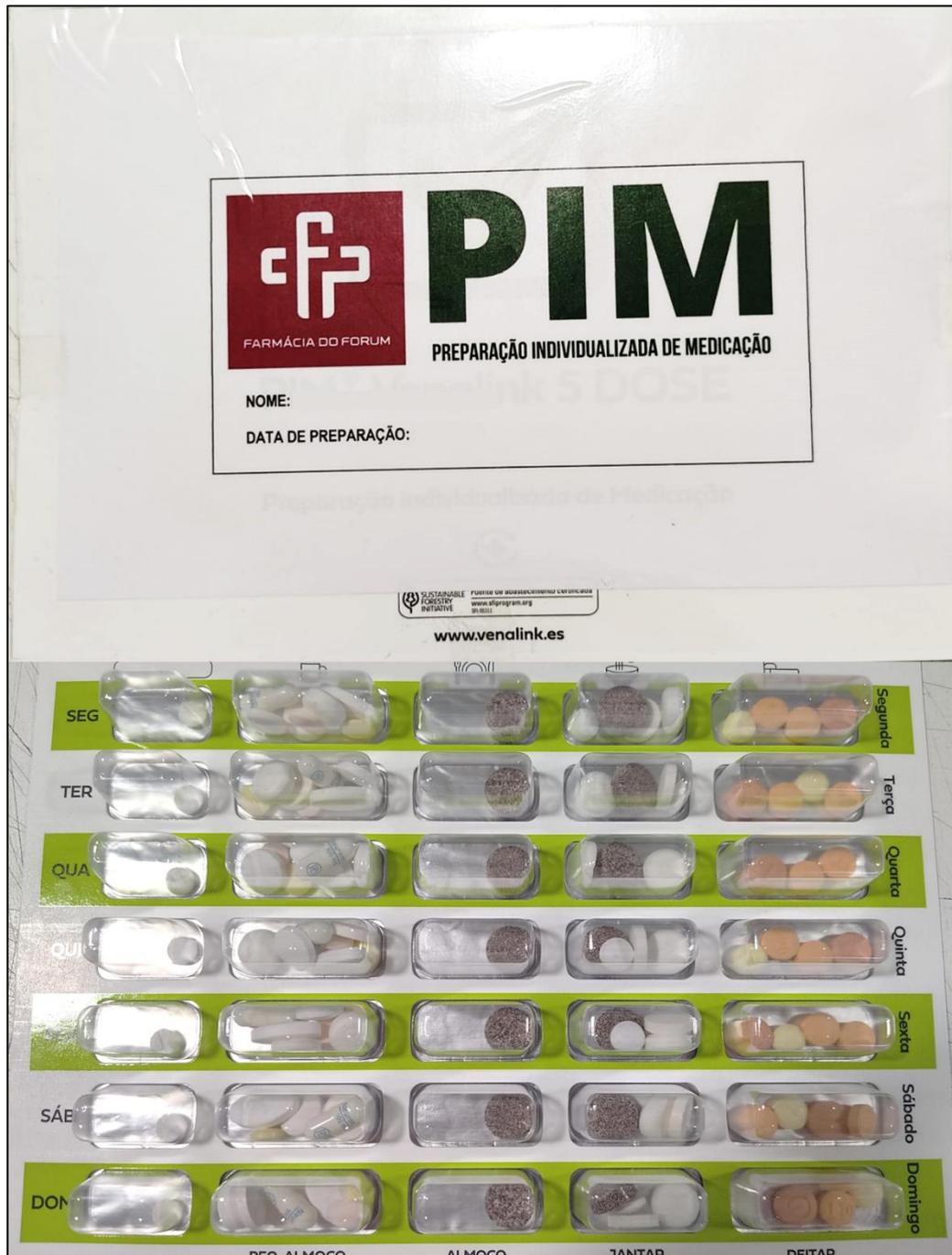
19. AGÊNCIA EUROPEIA DE MEDICAMENTOS - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO - FRONTPRO 68 mg Afoxolaner comprimidos mastigáveis para cães > 10-25 kg**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://frontline.pt/sites/default/files/2023-01/FRONTPRO.pdf>.

20. AGÊNCIA EUROPEIA DE MEDICAMENTOS - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO - Frontline Combo Spot-On Cães**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://frontline.pt/sites/default/files/2023-01/FRONTLINE-COMBO-Caes.pdf>.

21. FRONTLINE - **FRONTLINE HOMEGARD®**. [Consult. 31 ago. 2023]. Disponível em <https://frontline.pt/produtos/tratamento-domestico/frontline-homegard>.

6. Anexos

Anexo I – Dispositivo multicompartimental da Preparação Individualizada de Medicação (PIM)



Anexo II – Ficha de preparação de um medicamento manipulado e respetivo rótulo.

FARMÁCIA DO FORUM Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados Página 1 de 2

Medicamento: Pomada de enxofre 5% em vaselina

Tor em substância(s) activa(s): 10g

Forma farmacéutica: Pomada Data de preparação: 30/01/2023

Número do lote: 21/2023 Quantidade a preparar: 200g

Materias-primas	Lote nº	Origem	Farmacopeia	Quantidade para 100g (ou ml, ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do Operador e data	Rubrica do Supervisor e data
Enxofre	224270	Fábrica	PT	5g	10g	10g		
Vaselina líq.	001181/9	Venúculo	PT	10g	20g	20g		
Vaselina sólida	220181/1	Acipoma	PT	q.b. 100g	q.b. 200g	q.b. 200g		

Preparação Rubrica do Operador

1. Limpeza da bancada e do material de trabalho
2. Pesagem do enxofre e a sua incorporação em vaselina líquida
3. Homogeneizar o produto com a vaselina de vidro.
4. Pesar a quantidade a preparar com o vaselina sólida
5. Agitação mecânica no sistema Unguentor durante 4min, a vel. 8
6. Análise das características organolépticas, aparência, cor e textura.

Embalagem

Tipo de embalagem:
Capacidade do recipiente:

Material de embalagem	Nº do lote	Origem
Recipiente Unguentor 200g		GRA KO

Operador: _____

Rubricação Director Técnico _____ Data 30/01/23

IMP.10.2

FARMÁCIA DO FORUM Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados Página 2 de 2

Prazo de utilização e Condições de conservação

Condições de conservação:
Local fresco e seco. Operador: _____

Prazo de utilização:
30 dias Operador: _____

Verificação

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do Operador
Cor	Amarelo claro	conforme	
Textura/Aspecto	Homogénea	conforme	

Aprovado Rejeitado

Supervisor: _____ Data 30/01/23

Nome, morada e telefone do doente _____

Nome do prescriptor _____

Anotações _____

Rubricação Director Técnico _____ Data 30/01/23

IMP.10.2

FARMÁCIA DO FORUM Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados Página 3 de 3

Cálculo do preço de venda

MATERIAS-PRIMAS:							
materias-primas	embalagem existente em armazém		preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (q/VA)		quantidade a usar	factor multiplicativo	valor da matéria-prima utilizada na preparação
	quantidade adquirida	preço de aquisição (q/VA)	quantidade unitária	preço			
Enxofre	500g	15,21€	1g	0,03€	10g	1,9	0,57€
Vaselina líquida	851g	5,43€	1g	0,01€	20g	1,9	0,38€
Vaselina sólida	1000g	7,23€	1g	0,01€	170g	1,6	2,72€
subtotal A							3,67€

HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:					
valor referente à quantidade base valoracional	forma farmacéutica	quantidade	F (K)	factormultiplicativo	valor
	Pomada	100g	5,52	3	16,56€
		100g	5,52	0,01	5,52€
subtotal B					22,08€

MATERIAL DE EMBALAGEM:				
material de embalagem	preço de aquisição (q/VA)	quantidade	factor multiplicativo	valor
Recipiente Unguentor 200ml	1,74	1	1,2	1,692€
subtotal C				1,692€

PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO: (A + B + C) x 1,3 = 35,675
+ IVA = 2,14
D = 37,815€

DISPOSITIVOS AUXILIARES DE ADMINISTRAÇÃO:			
dispositivo	preço unitário	quantidade	valor
E			

PREÇO FINAL: D+E = 37,80€

Operador: _____ Supervisor: _____

Rubricação Director Técnico _____ Data 30/01/23

IMP.10.2

FARMÁCIA DO FORUM	
MANIPULADO: POMADA DE ENXOFRE 5% EM VASELINA, 200 G	
DATA: 30/01/2023	PRAZO DE UTILIZAÇÃO: 01/03/2023
LOTE: 021/2023	PREÇO: 37.80€
UTENTE:	
POSOLOGIA: DE ACORDO COM INDICAÇÃO MÉDICA.	
CONSERVAÇÃO: Local fresco e seco. Manter bem fechado.	
Uso Externo	
DIRECÇÃO TÉCNICA DRA. LAURA MARIA DOS SANTOS COELHO C.C.FORUM COIMBRA, LI 043 – 3040-389 COIMBRA – T 239800610	

Anexo III – Casos Práticos

Caso Prático I: Preparação Individualizada de Medicação

Uma senhora de 78 anos de idade, utente já conhecida na farmácia, vem com a intenção de levantar a sua medicação habitual. Pede auxílio para verificar o que tem nas prescrições médicas, admitindo alguma dificuldade em saber a medicação que tem disponível. Após análise da receita, verifico que é uma utente polimedicada e que possui algumas prescrições com prazo de validade expirado. Questiono qual a medicação que pretendia levantar de acordo com a disponibilidade da prescrição que traz com ela, mas a utente revelou alguma dificuldade em saber quais os medicamentos que tinham acabado ou em vias de terminar.

Com o decorrer do atendimento, a utente mostra-se bastante confusa acerca dos medicamentos que toma, dado o seu número e complexidade, uma vez que tem de dividir comprimidos ao meio, não sabendo se está a tomar tudo conforme indicado pelo médico. Assume ainda que vive sozinha, tendo um familiar que a visita semanalmente e que a ajuda em questões com as quais não consegue lidar sozinha.

Tendo em consideração toda a conversa com a senhora, o esquema terapêutico complexo verificado e a possível não adesão à terapêutica não intencional, abordo a utente acerca do serviço de preparação individualizada de medicação (PIM), um serviço que foi implementado na Farmácia do Fórum em dezembro de 2022. A utente desconhece o serviço e, após explicar no que consistia, assume que seria uma mais-valia, mostrando total interesse em aderir.

Desta forma, questiono se prefere que a questão seja abordada com o familiar mencionado, de forma a proceder ao registo da utente no serviço e recolher a informação farmacoterapêutica, ao que responde afirmativamente. Neste sentido, solicitei que viesse acompanhada do familiar cuidador e da medicação que tinha em casa para iniciar o processo, indicando a utente que tentará voltar no dia seguinte.

O atendimento termina com a utente a levar uma embalagem de cada medicamento disponível na receita, transmitindo-lhe novamente que deveria trazer todas as embalagens que tinha em casa.

A utente volta no dia seguinte com o cuidador, ficando a realização da entrevista ao encargo do farmacêutico afeto ao serviço, tendo eu tido a oportunidade de estar presente no decurso da mesma.

Considerações Finais: as dificuldades no processo de uso de medicamentos, por exemplo, esquecimento, sobredosagem ou confusão posológica, são uma situação muito comum na população idosa ou em pessoas com pouca autonomia, polimedicadas e com regimes terapêuticos complexos. Dada a disponibilidade do serviço na farmácia e por estar contextualizado com a Norma Geral “Preparação Individualizada da Medicação (PIM)” da Ordem dos Farmacêuticos², consegui apresentar uma alternativa à utente para melhorar a adesão à terapêutica e apoio na gestão da medicação.

Caso Prático 2: Tosse com expetoração

Senhor de nacionalidade brasileira, na faixa etária dos 35 anos dirige-se à farmácia com um papel de um bloco de notas escrito com a palavra “Salbutamol”, solicitando esse mesmo medicamento. Neste sentido realizo uma série de questões como: “Toma com indicação médica?”, “É para si?”, “Em que circunstâncias utiliza esta medicação?”. O utente assume que costuma adquirir o medicamento no Brasil sem indicação médica e administra à filha, de 7 anos, quando a mesma apresenta tosse com expetoração. Além disso, friso a questão “A sua filha foi diagnosticada com algum problema respiratório como asma ou doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), por exemplo?” à qual o utente responde que não.

Deste modo, segundo a alínea I, do Artigo 26.º, do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, o qual remete para a “Liberdade do Farmacêutico”, recusei-me a ceder o medicamento, dado a informação ser incompleta e mal fundamentada⁹. Expliquei ao pai que o medicamento era sujeito a receita médica em Portugal e, além disso, não é indicado para esse tipo de situações. Neste sentido, perguntei há quanto tempo a criança tinha os sintomas e aconselhei um medicamento não sujeito a receita médica (MNSRM), ao contrário do solicitado.

Comecei por explicar que a tosse, nestas situações, surge na dificuldade em expulsar o muco através deste mecanismo, pelo que o mais apropriado seria atuar na causa em vez de inibir o sintoma, podendo nessa situação provocar um agravamento respiratório por espessamento do muco. O aconselhamento passou pela solução oral de acetilcisteína a 2% realizada em 3 tomas diárias de 5 ml, e pela implementação de medidas não farmacológicas, como ingestão de água. A acetilcisteína é uma molécula utilizada como adjuvante mucolítica na terapêutica de problemas respiratórios que reduz a viscosidade do muco, expulsando-o com facilidade e, além disso, favorece a depuração mucociliar^{10; 11; 12}.

Caso Prático 3: Grávida com congestão nasal

Senhora de 30 anos dirige-se à farmácia e refere que está com o nariz congestionado há algum tempo e que já lhe tinham aconselhado noutra farmácia *Nasorhinathiol*[®]. Refere que tem vindo a usar desde então, mas não resolveu o problema. Procura uma solução para a questão, afirmando ter tido COVID-19 nas duas semanas anteriores e que se encontra grávida de 3 meses. Também refere que apenas contactou o médico no início da doença e que ainda não conseguiu uma consulta.

Comecei por dar algumas informações antes de avançar para uma indicação farmacêutica. Expliquei à doente que o *Nasorhinathiol*[®] é composto por cloridrato de oximetazolina, e que a administração recorrente dessa substância poderia causar um efeito *rebound*, resultando numa vasoconstrição intensa. Além disso, a substância não é recomendada em caso de gravidez por não existirem estudos sobre os seus efeitos nessa situação¹³.

O aconselhamento passou por um produto com perfil de segurança nas grávidas, *Eucalyplus*[®], constituído à base de óleos essenciais de eucalipto, murta e camomila, com efeito anti-inflamatório, descongestionante, antisséptico e hidratante. Tratando-se uma solução hipertónica, auxilia na limpeza e desobstrução da cavidade nasal, não causando habituação nem dependência¹⁴.

Por fim, recomendei a obtenção de ajuda médica dada a persistência dos sintomas e o período de gestação.

Caso Prático 4: Incontinência urinária

Senhora com 45 anos procura esclarecimentos sobre produtos naturais para a incontinência urinária. Revela que sofre de perdas urinárias ocasionais desde que entrou na menopausa e que está a afetar a sua qualidade de vida.

Atendendo à situação, começo por explicar que as perdas involuntárias da urina podem ser um dos sintomas da menopausa e que, dada a idade, podíamos recorrer a várias abordagens. A minha recomendação passou por combinar suplementação alimentar com exercícios de fortalecimento dos músculos do pavimento pélvico. Sugeri 2 comprimidos de *Confymo*[®] ao dia, um produto que contém uma combinação de extrato seco de sementes de abóbora e extrato de gérmen de soja, que reduzem a sensação de pressão na bexiga e a frequência urinária, bem como as perdas residuais de urina. Esta fórmula, aliada à vitamina D e selénio, promove um melhor conforto urinário, contribuindo para um normal funcionamento muscular, fortalecendo os músculos que dão suporte à bexiga e contribuindo para um melhor controlo da função urinária¹⁵.

Além do suplemento alimentar, sugeri a realização de exercícios *Kegel*, que são exercícios mecânicos de fortalecimento dos músculos do pavimento pélvico e que contribuem igualmente para um melhor controlo da bexiga. Esta musculatura enfraquece e perde elasticidade com o passar do tempo, bem como com outros fatores incluindo a gravidez, o parto, a prática de desporto de alto impacto, entre outros¹⁶. Assim, recomendei o uso da *Enna Pelvic Ball*[®], um dispositivo projetado especificamente para auxiliar na realização deste tipo de exercícios, fazendo com que estes músculos contraíam através da vibração que a esfera produz com o movimento, exercitando-os¹⁷.

Por fim, referi que seria importante uma consulta com um médico de modo a descartar quaisquer causas subjacentes da incontinência urinária.

Caso Prático 5: Infestação de pulgas

Um casal deslocou-se à farmácia, preocupado com uma infestação de pulgas em casa. Tinham reparado que o animal doméstico, um cão, tinha contraído pulgas durante um passeio à rua. Questiono se o casal tem tomado medidas preventivas, no qual assumem aplicar umas pipetas da *Frontline*[®] de 2 em 2 meses, aproximadamente. A fim de obter todas as informações, questiono acerca do peso do animal e se existem outros animais por casa, no qual afirmam que apenas têm este cão e que tem aproximadamente 14 kg.

A minha intervenção passou por 3 etapas: primeiramente, apresentar uma abordagem rápida e eficaz para desparasitar o animal; depois, educar o casal acerca da correta utilização das pipetas *Frontline*[®]; e, por fim, tratar da infestação na casa.

Comecei por recomendar o *FrontPro*[®], comprimidos mastigáveis com 68 mg de afoxolaner, sendo a dosagem recomendada para o peso do animal. O afoxolaner, um composto pertencente à família da isoxazolina, é caracterizado pela sua rápida absorção sistémica após a administração, eliminando 87,8% das pulgas após 4 horas e 99,5% em 8 horas¹⁸. Quando este composto entra em contacto com o parasita externo, resulta numa hiperatividade do sistema nervoso central do parasita, levando à sua subsequente morte¹⁹. Por outro lado, poderiam continuar a utilizar as pipetas *Frontline*[®], mas de modo correto. As pipetas são constituídas por duas substâncias ativas, fipronil e (S)-metropeno, que atuam pelo contacto direto com o parasita externo e não por ação sistémica, como acontece com o afoxolaner. O fipronil, pertencente à família dos fenilpirazóis, acumula-se nas glândulas sebáceas do animal, resultando numa libertação prolongada ao longo do tempo até um máximo de 4 semanas, e o (S)-metropeno inibe o desenvolvimento de ovos e larvas de pulga²⁰. Deste modo, a aplicação das pipetas deve ser mensal, e não de 2 em 2 meses, tendo em atenção que os animais não podem tomar banho nas 48 horas subsequentes à aplicação. Da mesma forma, os comprimidos mastigáveis devem ser dados ao animal mensalmente.

Para a desinfestação da casa, aconselhei *Frontline Homegard*[®], um produto que inclui na sua composição (S)-metropeno e permetrina e que alega possuir 6 meses de eficácia residual. Assim, com este produto, é possível eliminar não só os seres adultos, como também inibir o desenvolvimento dos ovos e larvas de pulga, que não são visíveis a olho nu e que poderão desencadear uma nova infestação na casa se não forem eliminados²¹.

Capítulo II



Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Bluepharma Indústria, S.A.

Desenvolvimento de Produto – Unidade de Formulação

Estágio sob a orientação do Dr. João Feteira

Abreviaturas

API – Princípio Ativo, do inglês *Active Pharmaceutical Ingredient*

BF – Biofarmácia e Farmacocinética

CEO – do inglês, *Chief Executive Officer*

CMAs – Atributos Críticos dos Materiais

CPPs – Parâmetros Críticos do Processo

CV – *Curriculum Vitae*

DF – Desenvolvimento de Produto – Unidade de Formulação

EC – Estágio Curricular

EIs – Equipamentos Informáticos

EMA – *European Agency Medicines*

EPIs – Equipamentos de Proteção Individual

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

GGQ – Gestão e Garantia de Qualidade

HME – *Hot Melt Extrusion*

IF – Indústria Farmacêutica

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

QTTP – do inglês, *Quality Target Product Profile*

RH – Recursos Humanos

RP – Produto de Referência

SMB – São Martinho do Bispo

SOP – do inglês, *Standard Operating Procedure*

SWOT – do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

TEC I – Tecnologia Farmacêutica I

TiO₂ – Dióxido de Titânio

UCs – Unidades Curriculares

I. Introdução

No último semestre do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), é proposto aos estudantes a realização de um Estágio Curricular (EC) obrigatório em Farmácia Comunitária²¹. No entanto, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) oferece a possibilidade de realizar um estágio opcional numa outra área relacionada com o campo farmacêutico, permitindo aos seus alunos uma melhor qualificação profissional e ainda maior reconhecimento no mercado de trabalho. Tal é possível na medida em que este curso possui um plano curricular com conteúdos programáticos bastante abrangentes, traduzindo-se em diversas saídas profissionais, sendo estas direcionadas para o “Ato Farmacêutico”, nomeadamente na Indústria Farmacêutica (IF), uma área bastante vasta onde o farmacêutico desempenha um papel fundamental.

Neste contexto e com o meu interesse nesta área candidatei-me a um estágio na Bluepharma Indústria, S.A. (BLPH), uma empresa farmacêutica que oferece a possibilidade aos estudantes finalistas de se candidatarem a diferentes departamentos: i) Investigação & Inovação; ii) Desenvolvimento de Produto – Unidade de Formulação iii) Desenvolvimento de Produto – Unidade Analítica; iv) Controlo de Qualidade; v) Direção Industrial; vi) Fabricação; vii) Garantia de Qualidade; viii) *Compliance*; ix) Desenvolvimento de Negócio; x) Assuntos Regulamentares; xi) *Scale-up*; xii) Qualificação e Validação de Sistemas; xiii) Embalagem; e xiv) Parcerias Estratégicas. Depois de selecionar três áreas de interesse, fui sujeito a um processo de recrutamento através de entrevista, no qual fui colocado no departamento de Desenvolvimento de Produto – Unidade de Formulação (DF), onde foi possível aplicar conhecimentos teórico-práticos de diversas unidades curriculares.

Deste modo, neste relatório será feito um enquadramento da BLPH e do DF, seguindo-se uma análise SWOT, onde serão descritos os pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) do meu estágio, que decorreu de 2 de maio de 2023 a 28 de julho de 2023, sob a orientação do Dr. João Feteira.

2. Bluepharma

A Bluepharma Indústria, S.A. é uma empresa farmacêutica pertencente ao Grupo Bluepharma, um grupo português do setor farmacêutico, internacionalizado, constituído por 20 empresas que atuam em diferentes fases da cadeia do medicamento, e é sediada em São Martinho do Bispo (SMB), em Coimbra. Esta empresa possui uma forte abordagem no

desenvolvimento do produto e na inovação, bem como uma visão estratégica no que concerne ao desenvolvimento de parcerias²².

Recentemente, foi inaugurada uma nova unidade industrial em Eiras (Coimbra), resultado de uma colaboração estratégica, denominada OnConcept[®], entre três empresas farmacêuticas europeias independentes e certificadas (Bluepharma, Helm e Welding). Esta parceria providencia uma diversidade de serviços, dos quais se destaca o desenvolvimento e produção de formas farmacêuticas de sólidos orais de alta potência, maioritariamente virados para a área oncológica^{23; 24; 25}.

2.1. Departamento de Desenvolvimento de Produto – Unidade de Formulação

O DF, como o próprio nome indica, é responsável por desenvolver formulações de novos produtos genéricos, principalmente de sólidos orais, mas também produtos diferenciados como soluções orais e injetáveis complexos, de modo a garantir a sua bioequivalência em ensaio clínico com o produto de referência (RP). Os trabalhos neste departamento iniciam-se desde a fase de pré-formulação, onde é feita a caracterização do RP, identificação dos parâmetros críticos do processo (CPPs) e dos atributos críticos dos materiais (CMAs), de modo a definir o perfil do produto (*Quality Target Product Profile* (QTTP)). É necessária uma avaliação das interações entre diferentes matérias-primas, de modo a desenvolver uma formulação estável, e um processo de fabrico com os parâmetros ideais à obtenção de um produto genérico que garanta um perfil de segurança e eficácia terapêutica com equivalência farmacocinética ao RP. Seguem-se as fases de desenvolvimento de formulação e de processo, onde se planeiam diferentes testes (*trials*) com diferentes objetivos de estudo, de forma a ganhar conhecimento e otimizar o processo, até obter um protótipo que garanta confiança para avançar para a fase seguinte, o *Scale-up*.

3. Análise SWOT

De forma a transmitir a experiência e competências adquiridas, destaco neste relatório, por meio de uma análise SWOT, os pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) na realização deste estágio.

Tabela I - Esquema ilustrativo da análise SWOT referente ao estágio na Bluepharma Indústria, S.A.

<i>Strengths</i>	<ul style="list-style-type: none">• Integração de novos colaboradores• Equipamentos e material de trabalho• Formação contínua• Plano de Estágio
<i>Weaknesses</i>	<ul style="list-style-type: none">• Período de estágio limitado
<i>Opportunities</i>	<ul style="list-style-type: none">• Plano curricular do MICF• Contacto com outros departamentos• Realização de testes na Unidade Industrial de Eiras• Acompanhamento em reuniões comerciais
<i>Threats</i>	<ul style="list-style-type: none">• Constrangimentos ao planeamento semanal• Enquadramento do Farmacêutico e do Estágio Curricular na IF

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Integração de novos colaboradores

A BLPH recebe os novos estagiários com uma sessão de acolhimento organizada pela equipa de Recursos Humanos (RH), onde fazem uma abordagem geral da empresa, incluindo uma contextualização histórica da mesma, apresentação da missão, objetivos e valores da BLPH, explicação da organização estrutural e modo de funcionamento da empresa. Posteriormente, foi também realizada outra sessão, moderada pelo *Chief Executive Officer* (CEO), Dr. Paulo Barradas, onde se deu a conhecer, fazendo uma pequena conversa com os novos colaboradores acerca do departamento ao qual ingressaram, desejando o maior sucesso profissional na empresa.

A cada estagiário foi atribuído um tutor do respetivo departamento de modo a apresentar a dinâmica de trabalho e da equipa, a orientá-lo ao longo do período do estágio e prestar auxílio nas tarefas propostas, bem como esclarecer eventuais questões. No meu caso, foi destacado o Dr. João Feteira para desempenhar esse papel, que me atribuiu diferentes tarefas e mostrou todo o apoio na execução das mesmas. Relativamente à restante equipa do DF, todos se demonstraram disponíveis para me integrar e inteirar de assuntos intrínsecos ao

departamento. Este fator foi extremamente importante, na medida em que o meu estágio se baseou na formação e acompanhamento de processos de desenvolvimento com os diferentes membros integrantes da equipa.

Ainda no âmbito de integração aos recentes colaboradores, as equipas de Segurança no Trabalho e de RH promoveram uma visita às instalações de SMB, onde foi possível conhecer o trabalho desenvolvido nos diferentes departamentos. Foi um momento onde foi possível conhecer outros colaboradores da BLPH, facilitando a interação e contacto com os mesmos durante os 3 meses de estágio.

3.1.2. Equipamentos e material de trabalho

Para executar todas as tarefas propostas no DF, foram-me fornecidos diversos recursos que se estendiam desde equipamentos informáticos (EIs) a equipamentos de proteção individual (EPIs), contribuindo desta forma para a qualidade e segurança das atividades realizadas. Relativamente aos EIs, foi-me atribuído um computador portátil e acesso às plataformas digitais internas, necessárias para desempenhar todas as tarefas documentais, realizar formações e poder integrar em reuniões, como por exemplo, o *kaizen* diário. O *Kaizen*TM trata-se de uma metodologia centrada na melhoria contínua do departamento, onde é feita uma retrospectiva do trabalho realizado para identificar possíveis problemas e implementar soluções²⁶. Além disso, permite que o departamento se atualize perante assuntos relevantes para o bom funcionamento das tarefas. No que diz respeito aos EPIs, foi-me cedida uma farda e equipamentos associados e adequados, como por exemplo, equipamentos de proteção respiratória que permitam uma manipulação segura de substâncias químicas (nomeadamente de alta toxicidade), visto ter acompanhado processos de desenvolvimento de sólidos orais potentes.

3.1.3. Plano de Estágio

O estágio foi realizado tanto em um contexto documental quanto laboratorial. Dessa forma, a elaboração de um plano de estágio no DF proporcionou uma base sólida e abrangente sobre as diversas atividades nesta área. Ao longo dos 3 meses, acompanhei os vários formuladores na realização de testes em diferentes fases do desenvolvimento de medicamentos genéricos, o que me permitiu conhecer a maioria dos processos, os efeitos resultantes da variação de formulações bem como das características de diferentes pós para o mesmo processo e o impacto dos parâmetros do processo no produto final.

Para além do acompanhamento laboratorial, foram-me propostos dois trabalhos de pesquisa. Primeiramente, realizei a atualização de um *poster* científico elaborado por

colaboradores da BLPH denominado “*Maybe Excipients Are Not As Inert As We Thought: Impact On Drug Metabolism And Efflux Transport*”. Sendo os excipientes constituintes necessários de uma formulação, e que por vezes até se encontram em concentrações superiores à do princípio ativo (API), é importante avaliar o seu impacto nos mecanismos biológicos, nomeadamente nas interações com as enzimas de metabolização de fase I e II e com os transportadores gastrointestinais^{27; 28}. Deste modo, realizei uma pesquisa bibliográfica relativa a estudos, compreendidos entre 2020 e 2023, que evidenciassem ou não o impacto dos excipientes no metabolismo de diferentes fármacos e nos transportadores de efluxo. No final, o *poster* atualizado e as novas conclusões e evidências foram compiladas e resumidas numa apresentação *PowerPoint* (Anexo I), e posteriormente apresentadas por mim à equipa do DF.

O segundo projeto que pude desenvolver no âmbito do meu plano de estágio foi relativo a processos de granulação a seco, intitulado de “*Scale-up: Dry Granulation | Roller Compactor Simulation by Styl’One Evolution*”. Este projeto teve como objetivo estudar o modelo de simulação de um equipamento adquirido pela BLPH (*Styl’One Evolution*) para a área de investigação e desenvolvimento (R&D) que simula a compactação por rolos dos equipamentos presentes na área produtiva (AlexanderWerk WPI20 e Böhle BRC25) através da compressão entre dois punções verticais com face retangular plana²⁹. A necessidade em simular este processo decorre principalmente de 3 motivos: em primeiro, este processo pode consumir muito material através da compactação por rolo, sendo que, numa fase inicial de desenvolvimento de um novo produto, a quantidade do API para a realização de testes costuma ser baixa; em segundo, pode ser útil para a transição de equipamentos de pequena escala (presentes no laboratório do DF) para grande escala (presentes na Produção); e, por fim, obter mais conhecimento sobre o processo de modo a otimizá-lo³⁰. De igual forma ao trabalho anterior, toda a informação recolhida foi compilada numa apresentação (Anexo II) e apresentada internamente, ao DF, tirando-se a conclusão de que mais trabalhos seriam necessários, nomeadamente planear e executar testes em ambas as escalas para otimizar e uniformizar o mais possível esta transição com vista a obter produtos com características idênticas e reproduzíveis, resultando em formas farmacêuticas com a performance e qualidade desejáveis.

3.1.4. Formação Contínua

Cada colaborador que inicie funções na BLPH possui um plano de formações iniciais com o objetivo de os introduzir a diferentes temáticas, transversais a qualquer colaborador independentemente da área, tais como segurança no trabalho, boas práticas documentais, ou breves explicações sobre as diferentes funções de diversos departamentos. Estas formações,

geralmente em formato digital, são feitas com recurso a uma plataforma interna, sendo o colaborador sujeito a um questionário de avaliação dos conhecimentos adquiridos.

Para além destas, no início do estágio foi-me fornecido um plano de integração que incluía diversos procedimentos (*Standard Operating Procedure – SOP*) de leitura obrigatória antes de iniciar qualquer função. Além de alguns SOPs gerais para qualquer colaborador, a maioria dos SOPs do plano de integração são selecionados atentando ao departamento em questão e funções a desempenhar. No meu caso (e dos restantes colegas do DF), abrangiam informações relativas a procedimentos de operação e limpeza de vários equipamentos, muitos dos quais iria contactar durante o estágio, procedimento de amostragem, realização de controlos durante o processo (*In-Process Control – IPC*), entre outros. Além disso, os SOPs são armazenados num sistema de gestão documental (*Veeva Vault*), o qual poderia consultar a qualquer momento do estágio para melhor compreensão e consolidação de conhecimentos relativamente aos equipamentos com que lidava diariamente.

Ao longo do tempo também realizei diversas formações, tanto digitais como em sala, estando associado geralmente um teste de conhecimentos. Destaco neste caso a formação “Manipulação em Sistemas de Contenção”, uma sessão de cariz obrigatório para conseguir aceder ao laboratório de produtos potentes e acompanhar testes de desenvolvimento.

Além destes conjuntos de formações, obtive formação *on-the-job* por parte dos formuladores, relativamente aos projetos alocados a cada um, abordando aspetos como formulação, operação com os equipamentos e IPCs, por exemplo.

3.2. Pontos Fortes

3.2.1. Período de estágio limitado

O período de estágio, com a duração limitada a apenas 3 meses, representou um ponto negativo, dada à complexidade da área. Considero que este período foi insuficiente na medida em que, para um colaborador não estagiário que inicie funções nesta empresa possui de um período de adaptação relativamente demorado, sendo um ponto importante na aprendizagem de todas as tarefas inerentes ao DF. Essa restrição temporal foi ainda agravada pelas distintas fases de desenvolvimento dos projetos (pré-formulação, formulação e *scale-up*). Ou seja, não existindo outros projetos com os mesmos processos e estando o único projeto em curso numa fase final, não me foi possível acompanhar alguns processos, como aconteceu no desenvolvimento de um medicamento genérico que envolve o enchimento de cápsulas.

Além disso, este fator impediu a minha imersão em projetos de médio a longo prazo na empresa, como no caso do projeto relativo à simulação de um processo de granulação a

seco, no qual auxiliei na apresentação de um fundamento teórico, mas não pude estar presente na realização dos testes e aplicações propriamente ditos, devido ao término do estágio. Deste modo, um período alargado de estágio teria proporcionado a oportunidade de envolvimento mais profunda no departamento, permitindo uma exploração completa das atividades.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Plano curricular do MICF

Como já mencionado anteriormente, o plano de estudos vasto e abrangente do MICF permite ao farmacêutico atuar em diversas áreas do medicamento²¹. Neste contexto, durante o EC percebi que essas bases curriculares representaram uma mais-valia para a execução das tarefas propostas. Muitos dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso, nomeadamente das unidades curriculares (UCs) como Tecnologia Farmacêutica I (TEC I), Gestão e Garantia de Qualidade (GGQ), Biofarmácia e Farmacocinética (BF) ou Farmacologia foram de grande utilidade. Entre essas UCs, destaco a relevância da TEC I para a realização deste estágio. O contacto prévio com processos de mistura de pós, tamisação, granulação a seco, granulação húmida, compressão, revestimento, entre outros, foi um fator distintivo pois permitiu-me abordar as tarefas com maior confiança e autonomia. Desta forma, a oportunidade de aplicar conhecimentos teóricos adquiridos em contexto académico num ambiente real de trabalho em IF, traduziu-se em sucesso na realização das tarefas e permitiu valorizar o meu *Curriculum Vitae* (CV).

3.3.2. Contacto com outros departamentos

No âmbito das minhas atividades no DF, principalmente em contexto laboratorial, e pelo facto de este departamento interagir diariamente com muitos outros, em diversos momentos do EC contactei com diferentes áreas, adquirindo uma perspetiva abrangente sobre a IF, e em especial a BLPH. Deste modo, surgiu a possibilidade de visitar a área de Produção com o intuito de conhecer todo o processo de fabrico e compreender as diferenças entre trabalhar em diferentes escalas (laboratorial e industrial). Durante a visita, fui conduzido pelo trajeto efetuado na área de produção de medicamentos, desde a pesagem das matérias-primas até ao embalamento, onde houve uma explicação detalhada de todos os equipamentos e dos passos críticos envolvidos.

Adicionalmente, existiram outros momentos no decorrer do EC em que contactei com outros departamentos, no início de novos projetos. Por exemplo, antes de se iniciar para o desenvolvimento do produto propriamente dito, é feita uma reunião interdepartamental denominada de “*Bluevaluation*”, moderada pela equipa de Gestão de Projetos, em que os vários

departamentos envolvidos apresentam os trabalhos que terão de ser desenvolvidos no decorrer das diferentes fases do *lifecycle* do produto.

3.3.3. Estágio na Unidade Industrial de Eiras

A nova Unidade Industrial foi inaugurada em março de 2023, representando uma expansão da BLPH em parceria com duas empresas farmacêuticas alemãs e capacitando-a a desenvolver e produzir produtos de alta potência²⁵. Uma vez que o DF já está imerso no desenvolvimento de projetos voltados para a área oncológica nas instalações de SMB, estes vão ser, posteriormente, transferidos para a nova unidade produtiva em Eiras. Como parte da minha experiência, assim como visitei a área de Produção na sede, também tive a oportunidade de conhecer as novas instalações. Durante a visita, alguns colegas do DF elucidaram-me acerca do funcionamento dos equipamentos tecnológicos ali existentes, bem como as diversas áreas técnicas.

Dado que os conhecimentos abrangidos pelo DF se estendem a tecnologias emergentes e menos comuns, foi incluído no meu plano de estágio a participação na condução de testes relacionados à técnica de extrusão por fusão a quente (*Hot Melt Extrusion – HME*) no equipamento da nova unidade industrial. Isso visou comparar o produto obtido com aqueles provenientes de um equipamento de escala laboratorial em SMB. O HME é uma tecnologia emergente na IF com várias vantagens, incluindo a melhoria da solubilidade e biodisponibilidade dos materiais. Esta técnica altera as propriedades físicas dos materiais, ao passo que são conduzidos por parafusos rotativos, aquecendo o material até que fique num estado viscoso para, então, ser extrudado através de um orifício e solidificar rapidamente³¹. Importa mencionar que, durante a minha frequência às UCs do MICF, não existiu contacto com esta técnica o que, com este EC, me permitiu adquirir conhecimentos sobre o tema.

3.3.4. Acompanhamento em reuniões comerciais

Ao longo do período do estágio, beneficieei de uma experiência enriquecedora ao participar ativamente em reuniões comerciais com fornecedores de matérias-primas como a JRS Pharma®, a Biogrand® e a Naturex®. Essas oportunidades permitiram-me obter um panorama realista acerca do ambiente comercial e das interações cruciais entre os formuladores e os fornecedores de matérias-primas e tecnologias. As diferentes empresas apostam em diferentes abordagens de excipientes inovadores e altamente funcionais, de modo que os clientes como a BLPH possam desenvolver as suas formulações únicas, diferenciadoras e de rápida colocação no mercado^{32; 33; 34}.

Durante as reuniões, observei em primeira mão as discussões estratégicas e técnicas que moldam o desenvolvimento de produtos farmacêuticos e, além disso, a interação com estes delegados ampliou o meu conhecimento acerca das tendências emergentes e de novas questões regulatórias, como por exemplo, a utilização de dióxido de titânio (TiO₂) como opacificante para revestimentos de comprimidos. Esta substância química foi já proibida no setor alimentar e a sua utilização no setor farmacêutico encontra-se ameaçada. Assim, apesar de a IF ter autorização provisória para o fabrico de medicamentos com TiO₂, a *European Agency Medicines* (EMA) aconselha-a a procurar alternativas a este excipiente^{35: 36}.

3.4. Ameaças

3.4.1. Constrangimentos ao planeamento semanal

Um desafio que me acompanhou ao longo do estágio relaciona-se com a ocorrência de certos imprevistos e constrangimentos após ter sido elaborado o plano semanal. Para delinear o plano semanal no laboratório, é necessário considerar fatores cruciais incluindo a alocação de RH, a disponibilidade dos equipamentos necessários e das matérias-primas, bem como a necessidade em cumprir prazos estipulados. As mudanças frequentes nos planos traçados pelos formuladores, seja de antecipação ou de atraso de tarefas, resultou num efeito cascata que afetou também o meu próprio plano e envolvimento, perdendo a oportunidade de acompanhar novas atividades. Assim, foi necessário gerir e alocar o tempo para outras atividades tendo em conta estas imprevisibilidades de modo a garantir a execução das tarefas de forma fluída e eficiente.

3.4.2. Enquadramento do Farmacêutico e do Estágio Curricular na IF

Os critérios para a obtenção do título de farmacêutico são especificados na alínea 2 do Artigo 44.º, secção 7, capítulo 3 da Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho. Esses critérios estabelecem um percurso formativo de, pelo menos, cinco anos, dos quais quatro são dedicados à formação teórica e o último, ou parte dele, é destinado a um estágio de seis meses em farmácia comunitária (FC), podendo ser ainda realizado um estágio em farmácia hospitalar¹. A ausência de estágio em IF como requisito necessário para ser farmacêutico leva a que muitos estudantes descartarem essa possibilidade, apesar de possuírem todas as valências necessárias. Apesar da mais-valia da FFUC proporcionar protocolos de estágio facultativos com várias empresas do ramo farmacêutico, estes exigem maior esforço aos estudantes, comparativamente àqueles que optem apenas pela realização do estágio obrigatório em FC.

4. Considerações Finais

O farmacêutico é dotado de um amplo leque de competências, estando preparado para enfrentar os mais variados desafios nas áreas que pode atuar. Como futuros farmacêuticos, devemos ter como missão constante elevar e aprimorar os nossos conhecimentos para nos tornarmos profissionais cada vez mais capacitados. Neste contexto, o EC na BLPH representou uma janela única de oportunidade, onde me permitiu colocar em prática o conhecimento que adquiri ao longo do curso, e ainda adquirir novos, nomeadamente no processo de desenvolvimento de formulações de medicamentos genéricos.

O DF é um departamento que assume grande complexidade e, no contexto deste setor em Portugal, não existem muitas empresas com uma área tão “ativa” e “desenvolvida” como na BLPH. Por fim, para além de me ter proporcionado uma base sólida acerca do ciclo de vida do medicamento, principalmente na fase de desenvolvimento, fomentou também a minha motivação em ingressar no mercado de trabalho nesta área.

5. Referências Bibliográficas

1. COIMBRA, Universidade De - **Plano de Estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas** [Consult. 20 ago. 2023]. Disponível em <https://apps.uc.pt/courses/PT/programme/1172/2022-2023>.
2. BLUEPHARMA - **Sobre Nós** [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.bluepharmagroup.com/pt/sobre-nos/empresa>.
3. BLUEPHARMA - **Brochuras: ONConcept**. [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.bluepharmagroup.com/pt/comunicacao/downloads>.
4. ONCONCEPT® - **ONConcept®** [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.onconceptpharma.com/>.
5. PORTUGUESA, Governo Da República - **Notícias: Bluepharma inaugura primeira fábrica de medicamentos de formas orais sólidas potentes**. [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.portugal.gov.pt/pt/gc23/comunicacao/noticia?i=bluepharma-inaugura-primeira-fabrica-de-medicamentos-de-formas-orais-solidas-potentes>.
6. KAIZEN™ INSTITUTE - **O que é o Kaizen™**. [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://pt.kaizen.com/o-que-e-kaizen>.
7. ZHANG, Wenpeng *et al.* - **The Effects of Pharmaceutical Excipients on Gastrointestinal Tract Metabolic Enzymes and Transporters—an Update**. *AAPS Journal*. ISSN 15507416. 18:4 (2016) 830–843. doi: 10.1208/s12248-016-9928-8.
8. RUIZ-PICAZO, Alejandro *et al.* - **Effect of excipients on oral absorption process according to the different gastrointestinal segments**. *Expert Opinion on Drug Delivery*. ISSN 17447593. 18:8 (2021) 1005–1024. doi: 10.1080/17425247.2020.1813108.
9. BLUEPHARMA - **Brochuras: Development & Manufacturing**. [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.bluepharmagroup.com/pt/comunicacao/downloads>.
10. REIMER, Hannah L.; KLEINEBUDDE, Peter - **Hybrid modeling of roll compaction processes with the Styl'One Evolution**. *Powder Technology*. ISSN 1873328X. 341:2019) 66–74. doi: 10.1016/j.powtec.2018.02.052.
11. PATIL, Hemlata; TIWARI, Roshan V.; REPKA, Michael A. - **Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation**. *AAPS PharmSciTech*. ISSN 15309932. 17:1 (2016) 20–42. doi: 10.1208/s12249-015-0360-7.

12. JRS PHARMA - **About Us** [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em https://www.jrspharma.com/pharma_en/company.php.
13. BIOGRUND - **Products** [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.biogrund.com/products/?lang=en>.
14. NATUREX - **What We Do** [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.naturex.com/WHAT-WE-DO/Sourcing>.
15. EUROPEAN MEDICINES AGENCY - **Final feedback from European Medicine Agency (EMA) to the EU Commission request to evaluate the impact of the removal of titanium dioxide from the list of authorised food additives on medicinal products**. 31:September (2021). [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/final-feedback-european-medicine-agency-ema-eu-commission-request-evaluate-impact-removal-titanium_en.pdf.
16. BIOGRUND - **Titanium dioxide free film coating systems** [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://www.biogrund.com/tio2/?lang=en>.
17. PARLAMENTO EUROPEU E CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA - **Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013**. Jornal Oficial da União Europeia. 2013:2013) 132–170. [Consult. 21 jul. 2023]. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:354:0132:0170:pt:PDF>.

6. Anexos

Anexo I – Apresentação final do trabalho “Maybe Excipients Are Not As Inert As We Thought: Impact On Drug Metabolism And Efflux Transport”



INTRODUCTION

Excipients are present in most pharmaceutical products, in order to enhance its performance, safety, stability, and ease of use. However, not all excipients are inert. Some of them may interact with the drug, affecting its pharmacokinetics and pharmacodynamics. This review aims to highlight the most common interactions between excipients and drugs, focusing on drug metabolism and efflux transport.

METHODS

From a literature search, we identified 100 articles related to excipients and drug metabolism/efflux transport. After screening, 40 articles were selected for full-text analysis. The data were organized into a table, and the most relevant findings were summarized.

RESULTS

After analyzing the extracted papers based on their functionality, 100% were found to be associated with their effect on drug metabolism and efflux transport.

OVERVIEW

Function	Excipient	Systems	Phase I (CYP3A4/3A5, P-gp, etc.)	Phase II (UGT, SOD, etc.)	Phase III (P-gp, etc.)	Pharmacokinetics	Pharmacodynamics
Surfactants	SLS, Tween 80, etc.	Oral, Parenteral, etc.	↑ CYP3A4/3A5 activity	↓ UGT activity	↓ P-gp activity	↑ AUC, ↑ C _{max}	↑ Toxicity
Binders	PVP, HPMC, etc.	Oral	↓ CYP3A4/3A5 activity	↑ UGT activity	↑ P-gp activity	↓ AUC, ↓ C _{max}	↓ Toxicity
Emulsifiers	Polysorbate 80, etc.	Parenteral	↑ CYP3A4/3A5 activity	↓ UGT activity	↓ P-gp activity	↑ AUC, ↑ C _{max}	↑ Toxicity
Flavoring agents	Vanillin, etc.	Oral	↓ CYP3A4/3A5 activity	↑ UGT activity	↑ P-gp activity	↓ AUC, ↓ C _{max}	↓ Toxicity

EXCIPIENTS INTERACTION

- direct inhibition
- regulation of enzyme expression (↑ or ↓)
- regulation of protein expression (↑ or ↓)

PHASE I (CYP3A4/3A5)

Responsible for the metabolism of 70% of drugs

- CYP3A4
- CYP3A5
- CYP2D6
- CYP2C19
- CYP2C8
- Many others

PHASE II (UGT, SOD, etc.)

- UGT glucuronosyltransferase (UGT)
- Sulfotransferase (SULT)
- Glucosyltransferase (GT)
- Glutathione S-transferase (GST), etc.

PHASE III (P-gp, etc.)

- ↑ expression of P-gp
- Modifying membrane proteins (MDR)
- Organ anion transporting polypeptide (OATP)
- Broad-spectrum protein (BSP)

Excipients can increase or decrease the activity of these enzymes and transporters, leading to changes in drug pharmacokinetics and pharmacodynamics.

EXCIPIENTS REVISED | Surfactants

Excipient	Function	Interaction	Effect
SLS	Surfactant	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Tween 80	Surfactant	↓ UGT activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Polysorbate 80	Emulsifier	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Surfactants

Excipient	Function	Interaction	Effect
SLS	Surfactant	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Tween 80	Surfactant	↓ UGT activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Polysorbate 80	Emulsifier	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Surfactants

Excipient	Function	Interaction	Effect
SLS	Surfactant	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Tween 80	Surfactant	↓ UGT activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Polysorbate 80	Emulsifier	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Surfactants

Excipient	Function	Interaction	Effect
SLS	Surfactant	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Tween 80	Surfactant	↓ UGT activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Polysorbate 80	Emulsifier	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Surfactants

Excipient	Function	Interaction	Effect
SLS	Surfactant	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Tween 80	Surfactant	↓ UGT activity	↑ AUC, ↑ C _{max}
Polysorbate 80	Emulsifier	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Binders

Excipient	Function	Interaction	Effect
PVP	Binder	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}
HPMC	Binder	↑ UGT activity	↓ AUC, ↓ C _{max}
Starch	Binder	↑ P-gp activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Fatty acids/salts

Excipient	Function	Interaction	Effect
Stearic acid	Excipient	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Emulsifiers

Excipient	Function	Interaction	Effect
Polysorbate 80	Emulsifier	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Lubricant

Excipient	Function	Interaction	Effect
Magnesium stearate	Lubricant	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Glycolides and its Acid Derivatives

Excipient	Function	Interaction	Effect
Diethylene glycol	Excipient	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Emulsifying agent

Excipient	Function	Interaction	Effect
Polysorbate 80	Emulsifying agent	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Adjuvant

Excipient	Function	Interaction	Effect
Aluminum hydroxide	Adjuvant	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Bile Acids

Excipient	Function	Interaction	Effect
Cholic acid	Bile acid	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Emulsifying agent

Excipient	Function	Interaction	Effect
Polysorbate 80	Emulsifying agent	↑ CYP3A4/3A5 activity	↑ AUC, ↑ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Adjuvant

Excipient	Function	Interaction	Effect
Aluminum hydroxide	Adjuvant	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Coloring Agents

Excipient	Function	Interaction	Effect
FD&C Yellow No. 6	Coloring agent	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Film forming agents

Excipient	Function	Interaction	Effect
HPMC	Film forming agent	↑ UGT activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Flavoring agents

Excipient	Function	Interaction	Effect
Vanillin	Flavoring agent	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

EXCIPIENTS REVISED | Fillers

Excipient	Function	Interaction	Effect
Microcrystalline cellulose	Filler	↓ CYP3A4/3A5 activity	↓ AUC, ↓ C _{max}

CONCLUSION

From a literature search, we identified 100 articles related to excipients and drug metabolism/efflux transport. After screening, 40 articles were selected for full-text analysis. The data were organized into a table, and the most relevant findings were summarized.

Excipients can increase or decrease the activity of these enzymes and transporters, leading to changes in drug pharmacokinetics and pharmacodynamics.

Excipients can also interact with drug molecules, leading to changes in drug stability and efficacy.

Therefore, it is important to consider the potential interactions between excipients and drugs during the development of pharmaceutical products.

BIBLIOGRAPHY

1. Smith, J. D., & Jones, K. L. (2018). The impact of excipients on drug metabolism and efflux transport. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(1), 1-10.

2. Brown, M. A., & Green, P. R. (2019). Excipients and drug metabolism: A review. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 34(1), 1-10.

3. White, R. J., & Black, S. L. (2020). Excipients and drug efflux transport: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(1), 1-10.

4. Lee, H. J., & Kim, Y. S. (2021). Excipients and drug metabolism: A review. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 36(1), 1-10.

5. Park, S. H., & Lee, J. H. (2022). Excipients and drug efflux transport: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 111(1), 1-10.

BIBLIOGRAPHY

6. Smith, J. D., & Jones, K. L. (2018). The impact of excipients on drug metabolism and efflux transport. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(1), 1-10.

7. Brown, M. A., & Green, P. R. (2019). Excipients and drug metabolism: A review. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 34(1), 1-10.

8. White, R. J., & Black, S. L. (2020). Excipients and drug efflux transport: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(1), 1-10.

9. Lee, H. J., & Kim, Y. S. (2021). Excipients and drug metabolism: A review. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 36(1), 1-10.

10. Park, S. H., & Lee, J. H. (2022). Excipients and drug efflux transport: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 111(1), 1-10.

BIBLIOGRAPHY

11. Smith, J. D., & Jones, K. L. (2018). The impact of excipients on drug metabolism and efflux transport. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(1), 1-10.

12. Brown, M. A., & Green, P. R. (2019). Excipients and drug metabolism: A review. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 34(1), 1-10.

13. White, R. J., & Black, S. L. (2020). Excipients and drug efflux transport: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(1), 1-10.

14. Lee, H. J., & Kim, Y. S. (2021). Excipients and drug metabolism: A review. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 36(1), 1-10.

15. Park, S. H., & Lee, J. H. (2022). Excipients and drug efflux transport: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 111(1), 1-10.



Anexo II – Apresentação final do trabalho “Scale-up: Dry Granulation | Roller Compactor Simulation by Styl’One Evolution”



Dry Granulation/Roll Compaction

Roller Compaction

Notes:

- Roller width: 2000mm
- Roller speed: 200mm/min

Roller Design:

- 2 rollers in tandem
- Roller speed: 200mm/min
- Roller width: 2000mm

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Rectangular (20 mm x 10 mm) for best case 2 particles

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Materials

Material Properties:

- Microcrystalline cellulose (MCC)
- Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)
- Starch (S)
- Starch (S)
- Starch (S)

Storage of materials and samples: under controlled temperature and humidity conditions (21 °C, 45% RH)

Characterization of starting materials: powder density (g/ml) and residual moisture (%)

Characterization of ribbons and ribblots

Roller function:

Specific compression force

Solid fraction

Roller width

Solid fraction

$SF [N] = \frac{F_{solid}}{F_{total}} \times 100$



Dry Granulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Dry Granulation/Roll Compaction

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll compaction

Experimentation

Roller surface

Roller width

Roller speed

Roller pressure

Roller temperature

Roller humidity

Correction factor Kp

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Verification of the correction factor Kp

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Dry Granulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Dry Granulation/Roll Compaction

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Dry Granulation/Roll Compaction

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Plan

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll compaction

Experimentation

Roller surface

Roller width

Roller speed

Roller pressure

Roller temperature

Roller humidity

Verification of the correction factor Kp

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Hybrid modeling

Experimentation

Roller surface

Roller width

Roller speed

Roller pressure

Roller temperature

Roller humidity

Dry Granulation/Roll Compaction

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Roll Compaction Simulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Plan

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Hybrid modeling

Experimentation

Roller surface

Roller width

Roller speed

Roller pressure

Roller temperature

Roller humidity

Missing of an API Containing Formulation

Hybrid modeling

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Flow of the granules: Roll normally for the best case

Capítulo III

Monografia

“A Era Pós-Antibiótica: Abordagens Terapêuticas Emergentes Para o Tratamento da Pneumonia Nosocomial”

Orientado pela Professora Doutora Maria Eduarda Moreno da Silveira

Resumo

A descoberta dos primeiros antibióticos marcou um ponto de viragem no tratamento de infeções bacterianas, muitas das quais, até então, apresentavam prognósticos desfavoráveis. Desde esse momento, abriram-se as portas para uma melhoria significativa da esperança média de vida e para imensos avanços científicos na área, notando-se um aumento significativo de descoberta de novas classes de antibióticos e novas substâncias. Por outro lado, acompanhando um uso desmedido destes compostos, começaram-se a reportar os primeiros casos de microrganismos resistentes à terapêutica, iniciando-se uma competição constante entre a descoberta de novos antimicrobianos e o desenvolvimento de novos mecanismos de resistência por parte dos agentes patogénicos. Atualmente, encontramos-nos perante uma das maiores emergências do século XXI, caracterizada pela presença de espécies bacterianas multirresistentes a diversas classes de antibióticos, forçando os profissionais de saúde a recorrer cada vez mais a fármacos considerados como última linha de tratamento, sendo cada vez mais ténue a razão entre benefício e risco dos tratamentos para infeções bacterianas. Um dos ambientes mais propícios para o desenvolvimento destes organismos multirresistentes é, ironicamente, no meio hospitalar, onde a origem de bactérias resistentes se vê muitas vezes associada a terapias inadequadas. Este trabalho pretende focar-se nos agentes etiológicos responsáveis pela pneumonia nosocomial e nos diferentes mecanismos de resistência, na sua prevalência e nas medidas terapêuticas emergentes para o seu combate. Além das opções de tratamento atuais, no âmbito do desenvolvimento de *guidelines* internacionais para uma harmonização terapêutica a nível global, serão também mencionadas diferentes estratégias a aplicar para o diagnóstico e avaliação clínica da pneumonia nosocomial, bem como medidas preventivas a adotar para reduzir a sua incidência. Por fim, serão apresentados alguns exemplos de terapêuticas inovadoras, que poderão potenciar, ou mesmo substituir a antibioterapia convencional e que são consideradas alternativas eficazes na terapêutica de infeções por bactérias portadoras de resistência aos antimicrobianos.

Palavras-Chave: pneumonia nosocomial, HAP, VAP, MDRO, antibioterapia, diagnóstico, terapia fágica, AMPs.

Abstract

The discovery of the first antibiotics has marked a turning point in the treatment of bacterial infections, many of which, until then, presented unfavourable prognosis. Since that moment, the doors were opened for a significant increase of average life expectancy and for several scientific advancements in the field, with a noticeable increase in the discovery of new antibiotic classes and new substances. On another hand, along with an excessive use of these compounds, the first reports were made regarding therapeutical resistant microorganisms, commencing a competition between the discovery of new antimicrobials and the development of resistance mechanisms by the pathogenic agents. Nowadays, we face one of the greatest emergencies of the 21st century, characterized by the presence of multi-resistant bacterial species towards several antibiotic classes, forcing healthcare professionals to rely more and more on last line of treatment drugs, making the balance between benefit and risk of bacterial infection treatments increasingly tenuous. One of the most favourable environments for the development of multi-resistant organisms is, ironically, in the hospital environment, where the origin of resistant bacteria is often associated with inadequate therapies. This work intends to focus on the etiological agents responsible for nosocomial pneumonia and the different resistance mechanisms, their prevalence, and the emerging therapeutical approaches to combat them. Besides the current treatment options, in scope of the development of international guidelines for the harmonization of therapeutics on a global scale, different strategies will also be mentioned for the diagnosis and clinical evaluation of nosocomial pneumonia, along with the preventive measures to adopt in order to diminish its occurrence. Finally, some examples of innovative therapies will be presented which could potentiate, or replace altogether, conventional antibiotic therapy and are considered effective alternatives in the treatment of infections caused by bacteria resistant to antimicrobials.

Keywords: nosocomial pneumonia, HAP, VAP, MDRO, antibiotic therapy, diagnosis, phage therapy, AMPs.

Abreviaturas

Abi – Infecção abortiva

ALAT – Latin American Thoracic Association

AMPs – Péptidos antimicrobianos

Atl – Autolisina

ATP – Adenosina trifosfato

ATS – American Thoracic Society

BF – Bacteriófago

BGN – Bactérias gram-negativas

CBASS – Sistema de sinalização antifágica baseada em oligonucleotídeos cíclicos

CDC – Centre of Disease and Prevention

CPIS – Clinical Pulmonary Infection Score

DGS – Direção Geral da Saúde

ECDC – *European Centre of Disease and Prevention*

EEA – Área Económica Europeia

EMA – Agência Europeia do Medicamento

EO-HAP/VAP – HAP/VAP de início precoce, do inglês *early-onset HAP/VAP*

EPS – Substâncias poliméricas extracelulares

ERS – European Respiratory Society

ESBL – β -lactamases de espectro alargado

ESCMID – European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

ESICM – European Society of Intensive Care Medicine

ESKAPE – *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*

ETT – Tubo endotraqueal, do inglês endotracheal tube

EU – União Europeia

EUA – Estados Unidos da América

FV – Fator de virulência

HAP – Pneumonia adquirida em meio hospitalar, do inglês *hospital-acquired pneumonia*

IACS – Infecções associadas a Cuidados de Saúde

IDSA – Infectious Diseases Society of America

ITRI – Infecção do trato respiratório inferior

ITRS – Infecção do trato respiratório superior

LO-HAP/VAP – HAP/VAP de início tardio, do inglês *late-onset HAP/VAP*

LOS – Lipooligosacarídeos

LPS – Lipopolissacarídeo

MDR – Multiresistente, do inglês *Multidrug resistant*

MDRO – Organismos multirresistentes, do inglês *Multidrug resistant organism*

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSSA – *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina

MTase – Metiltransferase

NV-ICUAP – Pneumonia adquirida em unidade de terapia intensiva não ventilada

OGM – Organismo geneticamente modificado

OMPs – Proteínas de membrana externa, do inglês *outer membrane proteins*

OMS – Organização Mundial da Saúde

OMV – Vesícula da membrana externa

PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos

PBP-2 – Proteína de ligação à penicilina 2

PN – Pneumonia nosocomial

PVC – Cloreto de policloroetano

QS – *Quórum sensing*

REases – Endonucleases de restrição

RTX – Radiografia torácica

SA – *Staphylococcus aureus*

Sie – Exclusão de superinfecção

Sistemas RM – Sistemas de Modificação de Restrição

T4P – Pili tipo IV

TF – Terapia fágica

TLRs – Recetores tipo Toll

TRI – Trato respiratório inferior

Trp – Triptofano

UCI – Unidade de Cuidados Intensivos

v.g. – do latim, *verbi gratia*

VAP – Pneumonia associada à ventilação mecânica, do inglês *ventilator-acquired pneumonia*

vHAP – Pneumonia adquirida em meio hospitalar ventilada, do inglês *ventilated hospital-acquired pneumonia*

I. Introdução

O aparecimento dos antibióticos foi um passo histórico na medicina moderna, revolucionando o tratamento de doenças infecciosas e, por sua vez, aumentando a esperança média de vida. Foi com a descoberta da penicilina que se iniciou a dita “Era de Ouro” da descoberta dos antibióticos, desencadeando uma verdadeira revolução na prática clínica e abrindo portas para a descoberta de várias classes de antibióticos de origem natural nas décadas seguintes¹.

Com os resultados positivos desta nova terapia, os antibióticos foram desenvolvidos em larga escala e amplamente utilizados durante a Segunda Guerra Mundial para tratar inúmeras vítimas. Consequentemente, observou-se desde então um uso excessivo e imprudente destes fármacos, fazendo com que as previsões de cientistas pioneiros – como Alexander Fleming – sobre o potencial surgimento de bactérias resistentes, fossem confirmadas^{2,3,4}.

Durante as décadas seguintes, num esforço para tentar contornar esta questão, foram descobertas novas classes de antibióticos. Contudo, a inovação e o desenvolvimento de novas moléculas decaiu desde 1950, sendo que a descoberta de novos antibióticos nas duas últimas décadas tem se vindo a limitar nas melhorias dos já existentes ou na junção de duas ou mais moléculas com espectros químicos complementares, por exemplo, na conjugação com um inibidor de β -lactamases^{1,4,5,6,7}. Um entrave que se tem vindo a constatar, é o facto de o interesse em desenvolver novos antibióticos por parte da indústria farmacêutica ser limitado pelos elevados custos de investimento na investigação e fracos lucros, aos preços de venda relativamente baixos dos antibióticos e à prescrição de forma desmedida que culmina em mais resistências^{2,5,6}.

Portanto, foi nesse sentido que a Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou uma lista de patógenos prioritários na tentativa de promover uma investigação crescente neste campo, sendo o foco nas bactérias multirresistentes listadas, nomeadamente, as prevalentes em meio hospitalar, que podem causar infeções graves como a pneumonia^{2,4,8,9}. Um resultado disso, foi a descoberta da combinação ceftazidima/avibactam, aprovada no mercado europeu e americano, indicada no tratamento da pneumonia adquirida em hospital, incluindo, a associada à ventilação. Esta combinação atua contra as bactérias gram-negativas (BGN), incluindo *Enterobacterales* e *Pseudomonas aeruginosa*, mas, estudos já revelaram que 50,9% das estirpes de *P. aeruginosa* extensivamente resistentes são resistentes a esta combinação^{7,10}.

Assim, sendo a resistência bacteriana um problema multifatorial complexo, é crucial explorar novas abordagens terapêuticas efetivas diante da atual era pós-antibiótica, nomeadamente aquelas que possam preencher a lacuna no combate às infecções bacterianas nosocomiais. Estas têm-se vindo a tornar um perigo crescente, dado os reservatórios de bactérias patogénicas multirresistentes (MDR) existentes em meio hospitalar, sendo a pneumonia nosocomial (PN) a principal causa de morte por infeção hospitalar^{9; 11}. Neste contexto, a presente monografia aborda, para além da antibioterapia convencional e abordagens preventivas, a fagoterapia e a terapia com péptidos antimicrobianos (AMPs) como estratégias promissoras, que podem mudar o paradigma no tratamento dessas infeções, mitigando a resistência aos antibióticos e melhorando os resultados clínicos.

2. Pneumonia nosocomial: uma ameaça crescente

2.1. Classificação

O tratamento de infeções respiratórias representa um grande desafio a superar devido à rápida disseminação de bactérias MDR, manifestando-se de diferentes formas e com epidemiologias variadas (regiões geográficas, grupos específicos de indivíduos, comportamentos de risco, entre outros)^{11; 12}. Dentro deste contexto, as infeções bacterianas pulmonares podem ser classificadas em infeções do trato respiratório superior (ITRSs) e infeções do trato respiratório inferior (ITRIs), sendo estas últimas as que afetam as regiões mais profundas das vias aéreas e, conseqüentemente, as mais desafiadoras de tratar, uma vez que tendem a exacerbar doenças pulmonares pré-existentes. A pneumonia bacteriana é um exemplo de ITRI, podendo ser classificada em 3 tipos dependendo da sua origem: a pneumonia adquirida na comunidade, a pneumonia nosocomial e a pneumonia por aspiração¹¹.

Dentro destas infeções do trato respiratório, a PN é a que emerge como uma preocupação crescente devido à sua natureza particularmente desafiadora e ao seu impacto significativo no paciente e no sistema de saúde, uma vez que a sua disseminação se relaciona com os cuidados médicos^{5; 13}. Trata-se de uma infeção no parênquima pulmonar por microrganismos patogénicos presentes em ambientes hospitalares, podendo-se assim chamar também de pneumonia hospitalar.¹⁴ Esta forma de infeção pode ser classificada em 2 subtipos, sendo elas a pneumonia adquirida no hospital propriamente dita (HAP) e a pneumonia associada à ventilação mecânica (VAP). Adicionalmente, o primeiro subtipo ainda se pode categorizar em pneumonia adquirida no hospital que requer ventilação mecânica ou HAP ventilada (vHAP), diferindo da VAP por esta ser adquirida através de dispositivos invasivos¹³:

¹⁴. Por fim, no caso de se tratar de uma pneumonia diagnosticada em unidades de cuidados intensivos (UCIs), denomina-se de pneumonia adquirida em unidade de terapia intensiva não ventilada (NV-ICUPA), dado que a VAP já decorre nas UCI^{15; 16}.

A HAP e a VAP não são homogêneas, podendo variar em termos clínicos, de gravidade, de microrganismos envolvidos, entre outros fatores, exigindo abordagens terapêuticas e medidas de prevenção específicas. O período de incubação é de 2 dias em ambos os tipos, sendo que a HAP se desenvolve 48 horas após a admissão hospitalar, enquanto que a VAP ocorre quando se inicia ventilação mecânica com intubação endotraqueal, havendo amostras respiratórias positivas após 48 horas desses procedimentos invasivos^{13,15,17}. A figura 1 hierarquiza os diferentes tipos e subtipos de pneumonia.

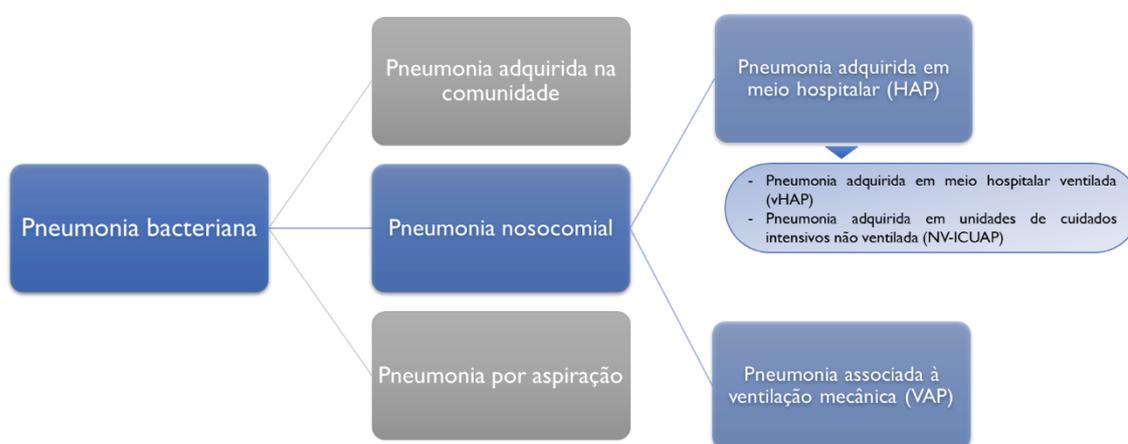


Figura 1 - Classificação da Pneumonia Nosocomial.

Os diferentes tipos da PN não se manifestam todos da mesma forma. Na Figura 2, é feita uma abordagem da doença tendo em conta o local onde é adquirida, seguindo uma linha progressiva da gravidade (verde – menor severidade; a vermelho – maior severidade)^{15; 16}. As várias condições da PN não se apresentam de forma independente, sendo que estas estão interligadas, podendo

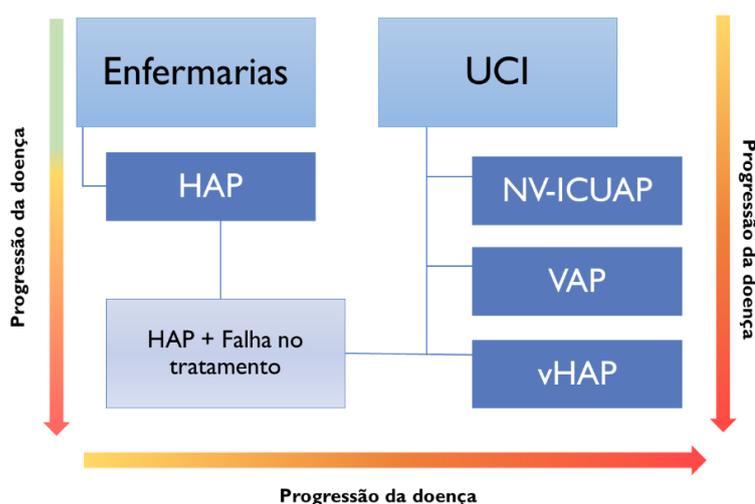


Figura 2 - Progressão da severidade da pneumonia nosocomial em pacientes hospitalizados.

HAP - Pneumonia adquirida no hospital; vHAP - pneumonia adquirida no hospital ventilada; NV-ICUPA - pneumonia adquirida em UCI não ventilada; VAP - pneumonia adquirida por ventilação. Adaptado de (16).

uma ser resultado da progressão de outra. As formas mais severas da PN estão estritamente relacionadas à ventilação, sendo a vHAP a que revela maiores índices de mortalidade¹⁶.

2.2. Epidemiologia

Em termos de prevalência de infecções hospitalares, a HAP é a segunda infecção nosocomial mais comum neste ambiente e é responsável por uma taxa significativa de mortalidade. A HAP apresenta uma maior incidência em pacientes imunodeprimidos, pacientes sujeitos a intervenção cirúrgica e idosos, variando a sua ocorrência de 5 a mais de 20 casos por 1000 internamentos¹⁴. Há muitos outros fatores de risco incluindo estado sedativo, comorbidades associadas, como Diabetes *Mellitus*, doenças pulmonares, doença renal em estágio terminal, terapia antimicrobiana nos 90 dias anteriores ao internamento nas UCIs, uso prévio de antibióticos de largo espectro, entre outros. No entanto, é nas UCIs, que os fatores de risco se amplificam, juntamente com a gravidade de infecção devido ao uso frequente de dispositivos invasivos, que podem servir como reservatórios para organismos multirresistentes (MDRO) facilitando a transmissão entre pacientes^{16; 17}.

A agência *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), tendo por base dados de 2019 sobre doenças transmissíveis em 10 Estados Membros da União Europeia (EU) e da Área Económica Europeia (EEA), reportou uma análise sobre a prevalência da pneumonia adquirida nas diversas UCI desses países (Tabela I), bem como os principais agentes etiológicos (Tabela 2). Numa amostra de 120 446 pacientes de vários países europeus, cujo período de permanência em UCIs foi superior a dois dias, 7,4% foi diagnosticada com uma doença infecciosa nosocomial, sendo que 3,9% teve pelo menos um episódio de pneumonia. Neste sentido, a pneumonia destacou-se como a infecção mais prevalente, uma vez que, mesmo sendo um período de internamento curto, a ocorrência foi significativa¹⁸.

Deste modo, a partir da análise da Tabela I, concluiu-se que, em média, ocorrem 7,8 episódios de pneumonia associada a ventilação por 1000 dias de intubação, sendo a Bélgica o país que apresenta maior taxa média (14,4) e o Reino Unido-Escócia com a menor (2,5).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, a prevalência dos microrganismos patogénicos é variável consoante a área geográfica, sendo as espécies mais frequentemente isoladas a *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*¹⁸. No entanto, estes microrganismos não são os únicos envolvidos na HAP/VAP, dado que noutros países, como Espanha por exemplo, são identificados isolados de *Acinetobacter baumannii*^{13; 15;}

^{17; 19}.

Tabela II - Taxas de pneumonia adquirida em UCI associadas à intubação por país/network (EU/EEA), 2019. Adaptado de (18).

País	Uso de intubação (média de dias de intubação por 100 pacientes/dia)	Taxa de pneumonia associada à intubação (episódios por 1000 dias de intubação)
		Média por país
Áustria	44,4	3,7
Bélgica	34,7	14,4
França	46,6	12,8
Hungria	57,2	6,9
Italy-SPIN-UTI	56,9	6,0
Italy-GiViTI	59,9	10,8
Lituânia	37,3	8,3
Portugal	61,7	7,4
Espanha	39,6	4,9
Reino Unido - Escócia	53,9	2,5

Tabela III - Número de isolados e percentagens dos 10 microrganismos isolados mais frequentes de episódios de pneumonia adquirida em UCI, por país/network (EU/EEA), 2019. Adaptado de (18)

Microrganismo	País/network (n)											
	Áustria (n=654)	Bélgica (n=34)	França (n=1099)	Alemanha (n=5395)	Hungria (n=51)	Italy-GiViTI (n=1281)	Italy-SPIN-UTI (n=107)	Lituânia (n=144)	Portugal (n=354)	Espanha (n=519)	Reino Unido - Escócia (n=105)	Total (n=9743)
<i>Klebsiella spp.</i>	16,1	17,6	11,4	20	17,6	37,4	19,2	26,4	25,4	15,2	13,3	18,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,0	14,7	20,8	19,2	11,8	14,0	20,1	31,9	15,0	15,8	31,4	18,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13,5	11,8	20,0	13,1	43,1	17,8	19,4	14,6	27,4	26,8	3,8	16,1
<i>Escherichia coli</i>	10,1	23,5	11,6	16,0	7,8	6,5	10,9	9,7	5,6	7,1	8,6	13,3
<i>Enterobacter spp.</i>	6,4	2,9	13,3	9,0	3,9	6,5	8,7	11,1	9,0	12,7	11,4	9,4
<i>Serratia spp.</i>	4,9	11,8	5,2	6,4	5,9	5,6	5,7	1,4	4,8	6,2	1,0	5,9
<i>Haemophilus spp.</i>	2,0	5,9	6,4	3,4	0,0	4,7	6,9	0,0	4,5	6,2	17,1	4,4
<i>Proteus spp.</i>	2,0	5,9	3,0	4,5	2,0	3,7	3,1	4,9	2,8	1,9	1,0	3,7
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3,2	5,9	4,9	3,4	2,0	1,9	3,1	0,0	2,8	7,5	1,0	3,6

n = número de isolados

2.3. Etiologia

Entre os MDROs referidos como causa da PN, algumas estirpes foram listadas pela OMS (2017) e pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2019) como de elevada prioridade no que concerne ao desenvolvimento de novos antimicrobianos. A Tabela 3 evidencia algumas dessas estirpes, listadas por essas agências, em relação à sua classificação de prioridade^{9; 20; 21}.

Tabela 3 - Estirpes prioritárias para o desenvolvimento de novos antibióticos. Adaptado de (9) e (20).

Patógenos	Nível de prioridade	
	OMS, 2017	CDC, 2019
<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina e vancomicina	Alto	Sério
<i>Klebsiella pneumoniae</i> resistentes a carbapenemos e cefalosporinas de 3ª geração	Crítico	Sério/Urgente
<i>Acinetobacter baumannii</i> resistentes a carbapenemos	Crítico	Urgente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistentes a carbapenemos	Crítico	Sério
<i>Enterobacteriales</i> resistentes a carbapenemos e cefalosporinas de 3ª geração	Crítico	Sério/Urgente

Estas estirpes fazem parte de um grupo de espécies classificadas como o grupo “ESKAPE”, um acrônimo muito utilizado na literatura científica para referenciar os patógenos (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter spp.*) responsáveis pela maioria das infecções e que conseguem escapar da ação antimicrobiana^{5; 20; 22}.

Sendo a pneumonia uma doença infecciosa complexa e a sua terapêutica um desafio, é crucial conhecer os microrganismos responsáveis pela doença e o modo como eles contornam os tratamentos atuais através de fatores de resistência. Atendendo igualmente aos fatores de risco, severidade e ao MDRO adquirido, essa compreensão é fundamental para o desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico e para a seleção da melhor abordagem terapêutica no tratamento da PN¹⁵.

2.3.1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus pertence à família *Staphylococcaceae* e é uma das três principais bactérias predominantes nas infecções associadas à prestação de cuidados de saúde¹⁸. Trata-se de uma bactéria gram-positiva e, morfológicamente, é uma célula arredondada, podendo-se dispor em forma de cachos irregulares²⁰. Não possui flagelos como tantas outras bactérias nem forma esporos, e é geralmente portadora de cápsula, um dos seus principais fatores de virulência (FV). Contudo, e maioritariamente nos Estados Unidos da América (EUA), no âmbito de desenvolvimento de vacinas à base de antígenos da cápsula, já foi possível identificar estirpes

de *S. aureus* nas quais não foi possível detetar a existência de cápsula (como por exemplo, USA300 e USA500)²³.

Desde a descoberta e administração clínica da penicilina, num curto espaço de tempo foi possível identificar a presença de *S. aureus* portadores de resistência a este antibiótico. Numa tentativa de superar este percalço, foi desenvolvida uma nova substância do grupo das penicilinas, a meticilina. Tal como o seu antecessor, muito rapidamente começaram a surgir registos de resistências à meticilina, dando origem a dois diferentes grupos de *S. aureus* (SA), os sensíveis à meticilina (MSSA), e os resistentes à meticilina (MRSA)^{20: 24}. Esta nova estirpe resistente é, frequentemente, associada a infeções nosocomiais e a elevadas taxas de mortalidade. Revela-se também como um microrganismo altamente resistente a praticamente todos os β -lactâmicos, estando o seu tratamento, em muitos dos casos, dependente de antibióticos considerados como de última linha terapêutica, como vancomicina e linezolida²⁴.

Apesar de poder colonizar diversas zonas do corpo humano de forma assintomática, *S. aureus* é responsável por provocar diversas infeções graves a nível cardíaco, pulmonar, na pele e mesmo no sistema nervoso, devido a uma ampla gama de FV já identificados e com evidências da sua intervenção na patogénese, como a adesão às células do hospedeiro, formação e manutenção de biofilme, promoção da evasão ou indução de citotoxicidade e morte celular. Uma das possíveis vias de infeção respiratória tem por base a capacidade de adesão e formação de biofilme, por parte da *S. aureus*, nas superfícies plásticas dos dispositivos médicos utilizados para ventilação invasiva em meios hospitalares. Esta função deve-se à ação de polissacarídeos (PIA/PNAG), um dos principais componentes da matriz do biofilme, em conjunto com proteínas específicas geradas pela autolisina (Atl), uma enzima responsável por promover a agregação celular e estabilizar o biofilme²⁵.

De modo a causar uma infeção sistémica, é necessário ocorrer danificação e invasão do tecido epitelial, por ação de compostos como a α -toxina (ou hemolisina- α), capaz de formar poros ao nível das membranas celulares e de quebrar E-caderinas, degradando junções celulares a nível do epitélio²⁵. As hemolisinas pertencem a uma das três principais classes de toxinas da *S. aureus*, as toxinas formadoras de poros, sendo também responsáveis por citotoxicidade e lise de células sanguíneas e do sistema imunológico. As restantes duas classes, também com capacidade de danificação de tecidos e de desencadear respostas imunitárias, correspondem às toxinas esfoliativas (maioritariamente responsáveis por infeções da pele, por uma forte ação de degradação de junções celulares da epiderme), e à classe dos superantígenos, envolvidos no desencadeamento de respostas imunológicas exacerbadas (como é o caso TSST-I, associada à síndrome do choque tóxico)^{20: 25}.

Uma vez dentro do nosso organismo, a *S. aureus* torna-se agora num alvo para o nosso sistema imunitário, nomeadamente por parte de neutrófilos, uma vez que se apresentam em maior quantidade dentro da população leucocitária. No entanto, este microrganismo possui diversos mecanismos de evasão das células fagocitárias, de entre os quais se pode destacar a inibição da ativação de neutrófilos, através da secreção de lipases de modo a diminuir a atividade de padrões moleculares associados a patogéneos (PAMPs), impedindo o seu reconhecimento por recetores tipo Toll (TLRs)^{20; 24}. Possui também mecanismos mais ativos, garantindo a continuidade da infeção através da destruição de neutrófilos, pela secreção de leucocidinas (como PVL, LukAB/GH ou LukED), responsáveis pela formação de poros, ou de hemolisinas, como a já referida α -toxina. Esta toxina, além de fundamental para permitir a invasão sistémica, tem um papel fulcral na sobrevivência da *S. aureus*, sendo capaz de induzir uma resposta mediada por inflamassomas, levando à morte celular dos neutrófilos, mesmo após fagocitose²⁵.

Como mencionado, após a descoberta e administração de antibióticos β -lactâmicos, como a penicilina, começaram a ser reportados inúmeros casos de redução de eficácia da terapêutica. Desde então, estas ocorrências transcendem a classe de β -lactâmicos, havendo diversos mecanismos de resistência por parte da *S. aureus*, que põem em causa a terapia antibiótica com outros compostos como fluoroquinolonas, tetraciclina ou aminoglicosídeos²⁶. Munida de vários mecanismos intrínsecos, a produção de β -lactamases foi uma das primeiras estratégias a ser reportada por parte deste microrganismo, em que por ação destas enzimas, os compostos β -lactâmicos sofrem hidrólise e perdem a sua atividade terapêutica²⁵. Esta classe de antibióticos atua por ligação à proteína de ligação de penicilina (PBP-2), onde inativam o seu alvo terapêutico, a transpeptidase, impedindo a síntese de peptidoglicanos e comprometendo a membrana celular das bactérias. Com a administração de metilicilina e com o surgimento de MRSA, observou-se nesta estirpe a presença de um análogo da PBP-2, a PBP-2A, na qual a transpeptidase se encontra inacessível aos β -lactâmicos. Através de uma modificação conformacional, esta nova estirpe resistente tornou o alvo terapêutico desta classe de antibióticos inalcançável, tornando obsoleta a sua eficácia terapêutica²⁶. Estes microrganismos estão também equipados com bombas de efluxo, atribuindo-lhes uma capacidade de mediação de resistência a diversas classes, como fluoroquinolonas ou tetraciclina, recorrendo a um consumo de adenosina trifosfato (ATP) ou a um gradiente eletroquímico por troca de prótons, para afastar estes antibióticos dos seus alvos intracelulares (v.g. ribossomas, DNA girase)^{25; 26; 27}.

2.3.2. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae é uma bactéria oportunista Gram-negativa altamente prevalente, conhecida por causar PN. Possui uma morfologia encapsulada e forma colônias mucoides. Entre os seus FV, destaca-se a presença de uma cápsula composta por lipopolissacarídeos (LPS), que protege a bactéria contra a fagocitose e interfere na ativação do sistema complemento, resultando na redução da resposta inflamatória. Além disso, a *K. pneumoniae* possui fímbrias, adesinas e proteínas de membrana externa que facilitam a adesão às células do hospedeiro e promovem a formação de biofilme^{20; 28}.

Esta bactéria é capaz de produzir toxinas que causam danos às células hospedeiras e contribuem para a evasão do sistema imunológico. Além disso, apresenta alta capacidade de produção de proteases, enzimas proteolíticas, que degradam os tecidos e favorecem a disseminação bacteriana. No que diz respeito aos mecanismos de resistência, a *K. pneumoniae* é proficiente na produção de β -lactamases, possui bombas de efluxo na membrana, que ajudam a eliminar os antibióticos do interior da célula e pode sofrer mutações genéticas, resultando em modificações nos alvos dos antibióticos, tornando-os menos eficazes^{20; 28}.

Assim como outras bactérias, a *K. pneumoniae* utiliza um sistema de comunicação chamado *quorum sensing* (QS) para regular os seus FV. Nesse sistema, pequenas moléculas sinalizadoras, conhecidas como auto-indutores, são sintetizadas e permitem a comunicação e coordenação entre as bactérias em resposta a mudanças na densidade populacional e nas condições ambientais. Esta estratégia de comunicação e regulação dos FV compromete a eficácia da antibioterapia²⁸.

2.3.3. *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii é uma BGN, tratando-se de cocobacilos, que podem ser encontrados aos pares ou agrupados. Um dos principais FV é a presença de cápsula, permitindo a retenção de água e evitando a dessecação. A membrana externa é composta por lipooligosacarídeos (LOS), que também auxilia nessa função, garantindo a retenção de nutrientes dentro da célula bacteriana^{20; 29}.

A capacidade de formação de biofilme é um FV adicional, permitindo a resistência a stresses ambientais, assim como a antimicrobianos, incluindo biocidas. Apresenta também em seu redor projeções dependentes de ATPase citoplasmática (pili tipo IV), conferindo-lhe locomoção por deslizamento. Por outro lado, também possui proteínas da membrana externa (OMPs), que atuam como canais de influxo de nutrientes e de pequenas moléculas essenciais

para o crescimento bacteriano. As OMPs estão também envolvidas na resistência aos antimicrobianos, no sentido em que o influxo de alguns antibióticos como os β -lactâmicos depende destas proteínas, e também na interação com as células do hospedeiro, uma vez que podem promover maior adesão aos tecidos. *A. baumannii* também possui sistemas de secreção de modo a exportar proteínas e toxinas do citoplasma bacteriano para o ambiente extracelular. O sistema QS também é uma estratégia utilizada por esta bactéria, permitindo-lhe modular a sua virulência^{20; 29; 30}.

Além destes FV intrínsecos, que também são responsáveis pela resistência de *A. baumannii* a diversas famílias de antibióticos, é adicionalmente capaz de desenvolver outros mecanismos de resistência para sobreviver em ambientes hostis. Esses mecanismos incluem alterações na estrutura membranar, expressão de bombas de efluxo, alteração enzimática e/ou alteração do local alvo. Um dos mecanismos de resistência mais comuns em *A. baumannii* é a expressão e produção de β -lactamases, responsáveis pela inativação dos β -lactâmicos, enquanto a expressão de proteínas codificadoras de bombas de efluxo medeiam a resistência a várias classes de antibacterianos. Por fim, a modificação do Lípido A do LOS confere resistência à colistina, que é um antibiótico utilizado como última opção contra BGN multirresistentes comprometendo a eficácia terapêutica^{20; 29; 30}.

2.3.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Um dos agentes etiológicos mais preocupantes na PN e no que concerne à resistência antibiótica é a *Pseudomonas aeruginosa*, uma BGN em forma de bastonete, com uma capacidade de se adaptar a diversos *stresses* ambientais. Esta bactéria possui diversos FV desde estruturas na sua superfície a fatores secretados pela própria bactéria, como por exemplo, adesinas, proteases, fenazinas e exotoxinas, e ainda interações com o hospedeiro, no entanto, estas últimas ainda são pouco compreendidas^{13; 15; 31; 32}. Além destes, a *P. aeruginosa* possui um genoma muito grande (5 a 7 Mb), fator esse que contribui consideravelmente para a sua capacidade adaptativa³³.

Morfologicamente, a *P. aeruginosa* possui uma membrana externa composta por LPS, fímbrias e flagelo e mais de 300 OMPs com diversas funções. O LPS desempenha um papel importante na célula bacteriana e na resposta imune do hospedeiro, sendo diferentes porções (lípido A, núcleo ou O-polissacarídeo) responsáveis pela endotoxicidade, respostas inflamatórias, proteção contra fagocitose, *stress* oxidativo e ainda na formação de biofilme³³. Relativamente ao flagelo presente num dos polos da membrana, permite-lhe que tenha mobilidade, enquanto as fímbrias presentes ao longo de toda a face externa permitem que

tenha uma melhor e maior adesão às células epiteliais hospedeiras, nomeadamente do trato respiratório, ou superfícies ambientais³⁴. Por fim, as OMPs são importantes para o transporte de aminoácidos, péptidos e fontes de carbono, permitindo a nutrição e crescimento da bactéria³¹.

Os FV produzidos pela bactéria são sintetizados no seu citoplasma e, em seguida, são secretados para o espaço extracelular ou introduzidos diretamente nas células hospedeiras através de complexos de secreção, contornando a atividade imunológica do hospedeiro. O mecanismo dos sistemas de secreção pode ser apenas de uma etapa, transferindo as proteínas diretamente da matriz citoplasmática bacteriana para a superfície celular, ou de duas etapas, em que ocorre armazenamento temporário das proteínas no espaço periplasmático antes de sua libertação. Outras substâncias que também podem ser sujeitas a secreção são as lectinas (LecA, associada a efeitos citotóxicos, e a LecB associada à biogénese do pilus e à atividade de proteases) e os sideróforos (pioverdina) com um papel importante na captação de ferro (nutriente essencial para o crescimento bacteriano), na proteção celular através da formação do biofilme e na competição bacteriana através da sua atividade quelante^{32; 33}. Tem também a capacidade de sintetizar e secretar exotoxinas, como a exotoxina A (uma citotoxina que causa necrose), e exopolissacarídeos, essenciais para a formação do biofilme^{28; 31; 33; 35}. Não obstante, a restrição de ferro permite à *P. aeruginosa* a produção de ramnolípidos, principalmente nos pulmões, pois funcionam como surfactante pulmonar diminuindo a tensão superficial, facilitando a sua motilidade^{32; 33}.

Relativamente ao genoma da *P. aeruginosa*, este é composto por duas partes distintas: o genoma *core* – uma região onde se encontram sequências genéticas que se associam ao perfil de resistência intrínseca da bactéria, como bombas de efluxo e as enzimas inativadoras de antibióticos – e o genoma acessório – composto por elementos extracromossómicos, como os plasmídeos, que podem conter genes relacionados à virulência e resistência a antibióticos^{28; 31}.

São vários os antibióticos a que a *P. aeruginosa* é resistente, tais como os aminoglicosídeos, as quinolonas e os β -lactâmicos, havendo ainda estirpes produtoras de carbapenemases que degradam uma classe importante de antibióticos, os carbapenemos. Tal como a *K. pneumoniae* e *A. baumannii*, esta bactéria também possui a estratégia do QS de forma a regular a expressão genética, permitindo que os patogéneos coordenem a atividade contra o hospedeiro^{31; 34}.

2.3.5. *Enterobacter spp.*

As *Enterobacter spp.* classifica-se como uma BGN, estando os FV desta bactéria pouco elucidados na literatura científica e os que existem são referentes a *Enterobacter cloacae*. Esta espécie é capaz de aderir e invadir células epiteliais, podendo levar à sua apoptose. A invasão das células do hospedeiro ocorre por meio da expressão de diferentes toxinas, como a hemolisina, uma enzima responsável em causar a lise dos eritrócitos, ou então uma toxina (*Shiga* Tipo I) que inibe a síntese proteica da célula hospedeira²⁰.

Ainda assim, sabe-se que também possui um sistema de secreção tipo III (T3SS) munindo a bactéria de resistência contra respostas imunológicas, e ainda possui fímbrias que desempenham grande importância na adesão celular e na formação do biofilme²⁰.

2.4. Avaliação clínica da Pneumonia Nosocomial

Um obstáculo fundamental no diagnóstico da HAP/VAP e que gere controvérsia é o facto de não existir um método ideal, que seja rápido, sensível e específico, dado que a apresentação clínica da doença é muito variada. Por esse motivo, diferentes abordagens têm sido aplicadas na Europa e nos EUA^{14; 36}. Segundo orientações internacionais¹⁴, o diagnóstico deve-se basear na presença de um novo infiltrado pulmonar e na evidência clínica de que esse infiltrado é a causa infecciosa da PN. Também sugerem uma abordagem baseada no *Clinical Pulmonary Infection Score* (CPIS), um score clínico baseado em 6 variáveis: temperatura corporal, contagem de leucócitos, volume e carácter das secreções traqueais, oxigenação arterial, radiografia torácica (RTX), resultados da coloração de Gram e resultados da cultura de amostras de aspirado traqueal. Embora esta ferramenta seja sensível, não é amplamente utilizada uma vez que apresenta baixa especificidade comparativamente a culturas de amostras do trato respiratório inferior (TRI) e, conseqüentemente, promove a prescrição de antibioterapia inadequada^{37; 38}.

Além do uso de critérios clínicos, as diretrizes atuais recomendam a realização de exames de imagem como RTX (Figura 3) quando houver suspeita de HAP/VAP. Através da avaliação da aparência do pulmão é possível observar a opacificação do espaço aéreo, que corresponde à ocupação dos alvéolos por parte de infiltrados^{38; 39}.

Uma avaliação bacteriológica através de métodos quantitativos, ou semiquantitativos podem evitar uma prescrição desnecessária de antibióticos. No entanto, esta abordagem requer entre 48 a 72 horas desde a colheita da amostra até à obtenção dos resultados, sendo um ponto desfavorável para iniciar e restringir o tratamento empírico inicial³⁹. Numa pessoa

com HAP, a amostragem do TRI é realizada por métodos não invasivos e podem incluir expectoração espontânea, indução do escarro e, caso o paciente não consiga cooperar para produzir uma destas amostras, pode-se recorrer a uma aspiração nasotraqueal. Já num paciente com VAP, a amostragem pode ser feita por aspiração traqueobrônquica, por broncoscopia com lavado broncoalveolar, ou então uma escova de amostra protegida³⁶.

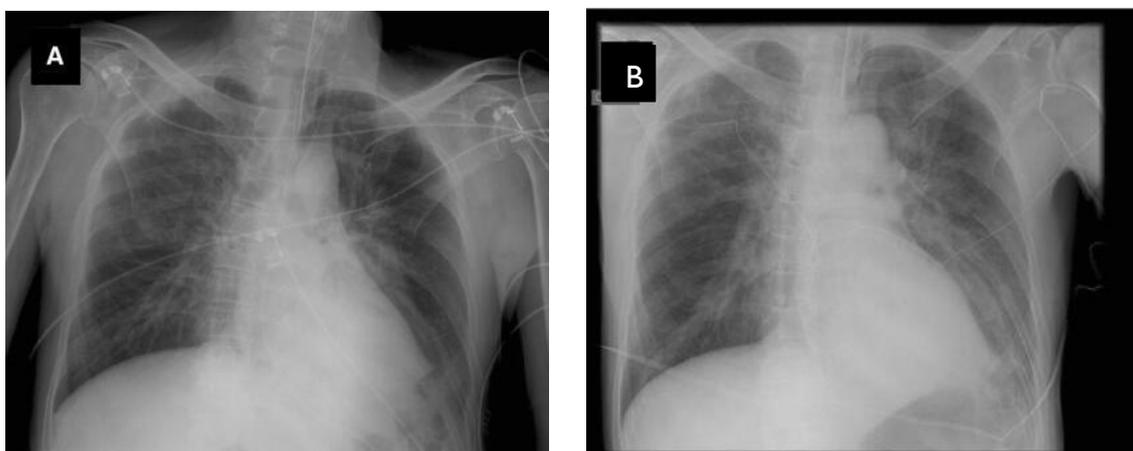


Figura I - Exemplo de imagem obtida por radiografia torácica. A) radiografia torácica realizada no dia de suspeita de pneumonia; (B) radiografia torácica realizada no dia seguinte mostra progressão de infiltrados pulmonares (áreas opacas ou manchas). Adaptado de (35).

Posteriormente, estas amostras devem seguir para análise microscópica e culturas bacterianas. No contexto da análise microscópica, é fundamental examinar a presença de leucócitos polimorfonucleares, incluindo neutrófilos, a morfologia bacteriana e realizar uma coloração de Gram. Esta abordagem permite a identificação preliminar de um possível agente etiológico e, desse modo, formular uma estratégia antibiótica, enquanto se aguardam os resultados definitivos da cultura. Já no contexto da cultura bacteriana, é possível obter resultados quantitativos atendendo a limites específicos impostos, pelo que reforçam a precisão diagnóstica e auxiliam na seleção criteriosa de estratégias terapêuticas^{14; 36}.

Os métodos de diagnóstico mencionados e utilizados atualmente apresentam algumas limitações, nenhum indicador é específico ou sensível o suficiente para confirmar ou desconsiderar com confiança um diagnóstico de HAP/VAP. Neste contexto, pretende-se que, num futuro próximo, o tempo de diagnóstico seja o mais curto possível, como por exemplo no desenvolvimento e melhoria de métodos moleculares, particularmente a reação em cadeia da polimerase (PCR) para detetar o microrganismo amostrado^{14; 38}. Adicionalmente, a quantificação de biomarcadores como a proteína C reativa e a procalcitonina poderá ser uma ferramenta útil na fase de diagnóstico ou auxiliar em decisões relativas à terapêutica⁴⁰.

2.5. Prevenção da VAP: implementação dos *bundles* e novas abordagens preventivas

As medidas preventivas para reduzir a incidência de VAP são de extrema importância em unidades de saúde e as organizações internacionais como a OMS, e em Portugal, a Direção-Geral da Saúde (DGS) têm-se preocupado em reduzir as infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS), emitindo normas orientadoras com procedimentos padronizados⁴¹. Algumas dessas medidas incluem: o uso cuidadoso de sedação leve de modo a não comprometer a capacidade do paciente em tossir e limpar as vias aéreas; a realização diária de provas de ventilação espontânea para os pacientes candidatos à extubação; manter a cabeceira do leito elevada a um ângulo de, aproximadamente, 30° de modo a baixar o risco de microaspiração de conteúdo da cavidade oral e, conseqüentemente, colonização bacteriana e realizar higiene oral, pelo menos, três vezes ao dia em pacientes com previsão de permanência na UCI por mais de 48 horas^{38; 41; 42}.

A implementação destes feixes de intervenção, designados na literatura por *bundles*, levou a uma diminuição ainda maior na incidência da doença e uma incidência significativamente menor de VAP tardia^{41; 43}. No entanto, essas medidas preventivas devem ser aplicadas em conjunto, sendo todas necessárias para garantir melhores resultados e menor impacto dos cuidados prestados aos pacientes^{41; 44}.

O uso de materiais antimicrobianos inovadores no revestimento ou modificação da superfície do tubo endotraqueal (ETT) é uma abordagem preventiva promissora para combater a colonização microbiana e a formação de biofilme. Usualmente feitos de materiais como cloreto de policloroeteno (PVC) ou silicone, novas abordagens incluem, por exemplo, revestimentos inspirados em metais (v.g. prata, zinco, titânio), impregnação com agentes antissépticos ou antibióticos, bem como revestimentos inspirados em mecanismos biológicos (Tabela 4). No entanto, apesar de serem promissores, surgem algumas preocupações relativas à citotoxicidade e estabilidade, como o caso de revestimentos de dispositivos médicos à base de óxido de prata, que já se encontram disponíveis no mercado clínico americano^{44; 45}.

Tabela IV - Materiais antimicrobianos aplicados em ETTs e respectivas abordagens preventivas em desenvolvimento nos últimos 20 anos. Adaptado de (42).

Materiais ativos	<ul style="list-style-type: none"> - Revestimentos à base de metais (Ag_2O; ZnO; TiO_2; Se) - Impregnação com biocidas - Revestimentos baseados em péptidos antimicrobianos e bacteriófagos
Materiais passivos	<ul style="list-style-type: none"> - Superfícies hidrofóbicas/hidrófilas - Superfícies nanomodificadas - Superfícies micropadronizadas
Materiais combinados	abordagem combinada entre materiais ativos e passivos
Legenda: Ag_2O - óxido de prata; ZnO - óxido de zinco; TiO_2 - dióxido de titânio; Se - selênio; AMPs - péptidos antimicrobianos	

3. Antibioterapia: a abordagem atual da Pneumonia Nosocomial

A terapêutica na PN apresenta desafios complexos, havendo diversos obstáculos ao estabelecimento de uma abordagem ideal para as diferentes formas da doença, sendo muitas das vezes aplicada uma estratégia baseada na experiência clínica⁴⁶. Dos vários desafios existentes, destacam-se a heterogeneidade de pacientes e a composição quantitativa e qualitativa de uma UCI, comparativamente àquela que é encontrada em diferentes instituições e pontos geográficos, a baixa sensibilidade de diagnóstico, através de critérios estabelecidos pelo CDC, que leva a uma sobrestimação de diagnósticos de VAP, e ainda a falta de técnicas de diagnóstico mais rigorosas de forma a permitir uma identificação rigorosa dos agentes etiológicos causadores de VAP⁴⁷.

Atualmente, os tratamentos incidem principalmente na antibioterapia intravenosa, estabelecendo-se um plano terapêutico que forneça cobertura suficiente a uma vasta gama de MDROs, recorrendo muitas vezes à utilização concomitante de agentes antimicrobianos^{38; 48}. Deste modo, surge uma necessidade imperativa de mitigar a utilização indiscriminada de antibióticos de largo espetro, bem como de combinações inadequadas, associadas a um agravamento do quadro clínico devido aos efeitos tóxicos decorrentes^{13; 38; 48; 49}. A administração de uma terapia inicial inadequada e uma prescrição tardia potenciam o aumento da mortalidade, especialmente em casos de infeções severas, estimando-se que, atualmente, a probabilidade de administração de um tratamento empírico inicial inadequado para infeções de *P. aeruginosa* seja de aproximadamente 30%¹⁵. Não obstante, o impacto resultante de uma antibioterapia inicial inadequada pode ser menos evidente em casos de HAP não ventilada do que na VAP, visto que os primeiros apresentam, normalmente, um quadro menos severo¹³.

Deste modo, a *American Thoracic Society* (ATS) e a *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) publicaram, em 2005, linhas orientadoras para o tratamento da PN, tendo sido reavaliadas em 2016, uma vez que foram surgindo novos dados sobre a doença e MDROs associados, desenvolvimento de novos medicamentos e delineadas medidas preventivas^{14; 50}. Dadas as diferenças na abordagem da terapêutica para a HAP/VAP entre as guidelines dos EUA e da Europa, a *European Respiratory Society* (ERS) desenvolveu um projeto conjunto com a *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID), *European Society of Intensive Care Medicine* (ESICM) e a *Latin American Thoracic Association* (ALAT) de modo a elaborar e implementar um novo conjunto de diretrizes internacionais^{14; 48}.

Tendo por base essas diretrizes, é recomendado um tratamento empírico inicial imediatamente após a suspeita de pneumonia. A decisão da escolha da terapêutica deve ainda ter em conta a população microbiológica específica do meio hospitalar e/ou da UCI, os padrões de suscetibilidade das bactérias locais e a prevalência de MDROs. Encontra-se descrito que a escolha da terapêutica associada à sua segurança e eficácia é fortemente influenciada pela severidade da infecção (v.g. choque séptico) e pela avaliação dos fatores de risco individuais, que possam contribuir para o desenvolvimento de MDROs (v.g. internamentos recentes superiores a cinco dias, uso de antibióticos nos três meses anteriores ou infecções prévias com MDROs)^{14; 15; 48; 50}.

Outra variável preponderante na escolha da terapêutica deve considerar o intervalo de tempo decorrido entre o início da infecção e a data de internamento, havendo uma possível relação entre este período e os patógenos associados ao caso de pneumonia desenvolvida. Dependendo do tempo de ocorrência, a HAP/VAP pode caracterizar-se por HAP/VAP de início precoce (EO-HAP/VAP) (ocorre durante os primeiros 4 dias de internamento hospitalar) ou por HAP/VAP tardia (LO-HAP/VAP) (ocorre a partir do 5.º dia de internamento)^{49; 51}. Os agentes etiológicos comumente associados à EO-HAP/VAP são *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e MSSA, sendo considerados microrganismos que apresentam maior suscetibilidade aos antibióticos, traduzindo-se num melhor prognóstico⁵². Relativamente à LO-HAP/VAP, os microrganismos associados incluem *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, MRSA ou outras BGN, dependendo dos microrganismos prevalentes no meio hospitalar em questão. Estes agentes etiológicos apresentam maior risco de desenvolverem mecanismos de resistência à antibioterapia, estando por isso a LO-HAP/VAP associada a quadros clínicos mais severos e com maiores taxas de mortalidade^{14; 49; 51}.

Tendo por base as recentes diretrizes internacionais, o tratamento da HAP/VAP engloba uma abordagem complexa, que requer o cumprimento de uma sequência de

procedimentos criteriosa. Numa primeira fase da terapêutica, e perante uma suspeita de HAP/VAP, deve ser realizada de imediato uma colheita das secreções respiratórias antes de ser iniciada qualquer antibioterapia, possibilitando a identificação microbiológica e posterior confirmação de HAP/VAP, sem risco de enviesamento de resultados^{38; 51; 53}. Após uma avaliação cuidada com base nos fatores de risco individuais e ambientais, no quadro clínico apresentado e na duração da infeção, deve ser iniciado um tratamento empírico^{38; 46; 48}. Para pacientes com EO-HAP/VAP que apresentem sintomas ligeiros e com risco reduzido de serem portadores de estirpes resistentes aos antibióticos, é recomendada a administração de um antibiótico em regime monoterapêutico, que apresente atividade contra BGN não-resistentes e contra MSSA, tais como ertapenem, cefalosporinas de 3.^a geração (cefotaxima e ceftriaxona), moxifloxacina, ou levofloxacina¹⁴. Paralelamente, perante esta situação, de acordo com um conjunto de indicações geradas por diversos especialistas franceses, é recomendada a administração de amoxicilina/ácido clavulânico, cefotaxima ou levofloxacina em caso de risco de hipersensibilidade aos β -lactâmicos⁵³.

Em casos clínicos mais graves como os diagnosticados com LO-HAP/VAP e onde exista, no mínimo, um dos diferentes fatores de risco ao desenvolvimento de resistências, a escolha inicial de tratamento será determinada consoante a presença ou ausência de choque séptico. Para pacientes de risco, que não apresentem choque séptico, é recomendado uma antibioterapia inicial com um antibiótico de largo espectro de ação eficaz contra *P. aeruginosa* – neste cenário, é geralmente administrado um β -lactâmico: carbapenemos como imipenem ou meropenem, ceftazidima ou cefepima (cefalosporinas de 3.^a e 4.^a geração, respetivamente) e piperacilina/tazobactam^{14; 38; 53}. Com base em testes de suscetibilidade do meio hospitalar e/ou da UCI, é recomendado um regime monoterapêutico se houver um antibiótico com eficácia demonstrada em mais de 90% da população de BGN^{14; 51}. Este regime deve ser complementado com vancomicina ou linezolida, se houver uma prevalência de MRSA superior a 25% no meio hospitalar/UCI, ou entre 10 – 20% de acordo com as *guidelines* dos EUA^{14; 48; 50}.

Num caso positivo de choque séptico, deve ser iniciado um tratamento empírico imediatamente, num intervalo máximo de 1 hora^{15; 54}. Neste caso, a recomendação é de uma terapia combinada anti-*Pseudomonas* e anti-MRSA, neste último caso apenas se for aplicável. Além de um β -lactâmico, a terapia combinada deve contemplar um aminoglicosídeo (gentamicina, tobramicina ou ampicacina), ou uma fluoroquinolona (ciprofloxacina, ou levofloxacina). A antibioterapia deve ainda ser direcionada para a possibilidade da presença de agentes etiológicos como *Acinetobacter spp.* e *Enterobacterales* produtoras de β -lactamases de espectro alargado (ESBL), caso estes microrganismos demonstrem prevalência considerável no

meio hospitalar em causa. No caso de *Acinetobacter spp*, é recomendada a administração de colistina; para organismos produtores de ESBL, cefalosporinas de 3.^a geração devem ser evitadas, optando-se antes por um carbapenem^{14; 38; 47}. Com a administração de uma terapêutica combinada, é possível obter sinergias entre famílias diferentes de antibióticos, permitindo um espectro de ação alargado a diferentes agentes etiológicos. O objetivo deste tipo de tratamento não se destina apenas a melhorar o prognóstico do paciente, mas sim de aumentar a probabilidade de iniciar um tratamento adequado no imediato, dado que com a toma concomitante de antibacterianos surge também um risco acrescido de nefrotoxicidade, bem como um maior custo associado ao tratamento^{14; 38; 51}.

Na segunda fase do tratamento, uma vez disponibilizados os resultados das colheitas realizadas inicialmente, e identificados os agentes responsáveis pela infeção, se aplicável, é recomendada a redução de uma terapia combinada para uma monoterapia. Na ausência de microrganismos resistentes, esta troca é geralmente segura para um paciente, que apresente uma evolução clínica favorável face ao tratamento inicial, evitando-se também desta forma o desenvolvimento de MDROs a longo prazo. Sempre que possível, deve-se restringir o tratamento a um antibiótico de espectro de ação estreito para os microrganismos suscetíveis identificados, restringir o uso de carbapenemos e suspender a terapia com vancomicina/linezolidina quando não forem identificados MRSA^{14; 38; 54}.

Relativamente à duração do tratamento, tanto as diretrizes europeias como dos EUA convergem para uma abordagem terapêutica que não exceda 7 dias (em pacientes imunocompetentes), mesmo em infeções originadas por BGN (*P. aeruginosa*, ou *Acinetobacter spp*), uma vez que se estima que o risco de toxicidade sistémica e outros efeitos adversos provenientes da terapêutica seja superior aos benefícios de evitar uma recidiva da infeção^{14; 15; 38; 53}. Relativamente à definição precisa da duração da terapêutica para infeções causadas por MDROs, esta deve recorrer a uma abordagem individualizada, devendo ser discutida caso a caso⁵⁴. Adicionalmente, a duração do tratamento pode ser alargada perante pacientes imunocomprometidos, ou que apresentem outras complicações, tais como fibrose cística, empiema, abscessos pulmonares, ou outros problemas pulmonares. Em determinados cenários foi possível personalizar a terapia com base em biomarcadores, tais como a procalcitonina, no entanto, é uma abordagem, que requer mais estudos e aprofundamento, não sendo, geralmente, recomendada a redução da duração do tratamento para menos de 7 dias^{15; 38; 51; 54}.

Apesar das recomendações ERS/ESCMID/ESICM/ALAT se basearem numa terapia empírica, que atenta ao tempo de início da HAP/VAP, vários autores revelam dúvidas com essa abordagem, defendendo a inexistência de diferenças significativas nos microrganismos

isolados entre EO-HAP/VAP e LO-HAP/VAP⁴⁷. Alguns estudos demonstram que na EO-HAP/VAP podem ser identificados microrganismos gram-negativos, muitos dos quais MDR, com uma prevalência equiparável à de amostras colhidas em pacientes com LO-HAP/VAP^{47; 49}. Deste modo, e não descartando totalmente a duração da infecção como fator decisivo na escolha de uma terapêutica empírica inicial, deve-se também ter em consideração a existência de exceções, que sobretudo refletem a importância do desenvolvimento de técnicas de diagnóstico mais rápidas, precisas e sensíveis, bem como a relevância da identificação e quantificação dos agentes etiológicos locais como base para uma decisão terapêutica informada, fundamentada e segura^{46; 48; 49}.

4. Terapia Fágica

A terapia fágica (TF) tem emergido como uma abordagem proeminente no contexto do desenvolvimento de alternativas à antibioterapia convencional devido à resistência antimicrobiana. Embora a sua descoberta preceda à dos antibióticos, estes últimos adquiriram destaque significativo no mundo ocidental após a descoberta da penicilina, levando ao declínio do interesse pela TF, sendo a sua aplicação mais limitada a países orientais, como a Geórgia, Polónia e partes da antiga União Soviética, onde o acesso aos antibióticos era mais limitado⁵⁵.⁵⁶ Neste contexto, apesar de, ainda hoje, a TF continuar a ser administrada em países da Europa de Leste, a sua aplicação em países ocidentais vê-se agora limitada, em grande parte devido à ausência de *guidelines* e de evidências baseadas em ensaios clínicos satisfatórios, bem como a constrangimentos legais e regulamentares^{55; 57}. Não obstante, através da experiência clínica, já foi possível demonstrar um perfil clínico seguro, tendo já sido aplicada esta terapia em inúmeras áreas médicas, incluindo cirurgia e pneumologia⁵⁶.

Embora a TF não seja oficialmente reconhecida pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA), vários países europeus, incluindo Bélgica, Suíça e França, empregam-na sob a forma de uso passivo, tendo obtido resultados terapêuticos bem-sucedidos. Em Portugal, esta terapia ainda não foi adotada na prática clínica, mas merece destaque pela existência de diversos projetos nacionais voltados para o desenvolvimento de bacteriófagos (BFs) e aplicação noutros pontos geográficos, nomeadamente Europa^{58; 59}.

A TF consiste no uso de BFs, vírus que infetam células bacterianas, sendo considerados uma boa opção terapêutica devido à sua especificidade e segurança em virtude de não apresentarem tropismo para células eucariotas^{2; 55}. Também conhecidos como fagos, estima-se que a sua prevalência seja superior à das bactérias numa proporção de 10:1, sendo apenas

conhecidas cerca de 6 000 espécies, havendo ainda um enorme número por descobrir⁶⁰. Os BFs encontram-se amplamente distribuídos por vários ecossistemas, estando presentes tanto em animais como em humanos. Além de locais naturais, estas entidades também se encontram em locais artificiais ou infraestruturas como hospitais, sendo este um reservatório para isolamento de potenciais fagos para aplicação contra MDROs^{55; 61}.

Existem vários parâmetros para classificar os BFs: ciclo biológico, características morfológicas, conteúdo de ácidos nucleicos, local onde podem ser encontrados e ainda o seu alvo bacteriano⁶². Relativamente ao ciclo de vida, os fagos podem ser categorizados em fagos líticos e lisogénicos. Ambos injetam o seu material genético nas células bacterianas hospedeiras, mas enquanto os fagos líticos se disseminam por ciclos repetidos de replicação do seu genoma, os lisogénicos têm uma capacidade de resposta adaptativa e evolutiva^{60; 63}.

No ciclo lítico, os BFs inserem o seu genoma nas bactérias-alvo, assumindo o controlo das funções celulares, iniciando a sua própria replicação genética e síntese de proteínas virais, sofrendo posteriormente um rearranjo e dando origem a novos fagos⁶⁰. Terminada a sua replicação, a bactéria hospedeira sofre lise, libertando os novos BFs e dando início a novos ciclos de infeção. As infeções subsequentes à lise celular são chamadas de infeções secundárias. Este processo eficiente de reprodução viral em bactérias resulta numa rápida redução das populações bacterianas específicas, podendo os fagos atingir locais de infeção mais isolados e de difícil acesso, como por exemplo zonas onde exista carga bacteriana elevada no TRI^{57; 61}.

No ciclo lisogénico, o material genético dos BFs, com auxílio de integrases, é incorporado no genoma da própria bactéria, passando a denominar-se de profago. O profago tem a capacidade de expressar repressores, que reprimem a expressão de genes indutores do ciclo lítico, permanecendo num estado dormente, sendo replicado juntamente com o genoma bacteriano aquando da divisão celular, transmitindo este novo conjunto de genes às gerações subsequentes. Desta forma, através da incorporação de genes, que confirmam suscetibilidade a antibióticos, uma bactéria resistente pode ser “re-sensibilizada” a agentes antimicrobianos^{61; 63}. Adicionalmente, face a estímulos ambientais ou sinais internos, o profago pode ser “ativado” e sair do estado lisogénico, optando pelo ciclo lítico. Interrompido o ciclo lisogénico, o fago replica-se ativamente, lisando a bactéria e expondo os fagos recém-formados a infeções secundárias⁶¹.

Dada a grande variabilidade de fagos, é necessário haver uma seleção criteriosa das entidades mais adequadas de forma a garantir a segurança e eficácia do tratamento, sendo os

fagos obrigatoriamente líticos considerados os candidatos ideais para a TF, face aos riscos inerentes do ciclo lisogénico^{57; 64}.

4.1. Princípios da Terapia Fágica versus Antibioterapia

A fagoterapia surgiu como uma potencial abordagem adjuvante aos paradigmas tradicionais da antibioterapia, sendo possível traçar algumas vantagens e desvantagens comparativamente às duas estratégias. Entre as vantagens, destaca-se a especificidade dos BFs pelo facto de só se replicarem numa célula bacteriana específica, o que contrasta com os antibióticos, nomeadamente os de largo espectro de ação, que apresentam baixa especificidade e, conseqüentemente, promovem o desenvolvimento de resistências. Além disso, os antibióticos podem promover desregulação do microbioma ou, em certas situações, podem ocorrer reações de hipersensibilidade, o que não acontece na terapia com fagos^{2; 55; 62}. No entanto, esta vantagem representa também uma desvantagem da TF, uma vez que é necessário determinar o agente etiológico de forma mais precisa e, como já discutido anteriormente, as técnicas de diagnóstico atuais da HAP são limitadas e associadas a extensos períodos de tempo até obtenção de resultados^{55; 65}. Neste sentido, podem ser formulados *cocktails* de BFs para ampliar a faixa de hospedeiros alvo, de forma a contornar este obstáculo².

Considerando os efeitos adversos dos antibióticos, é possível afirmar que estas entidades virais demonstram, até ao momento, elevado nível de segurança e tolerabilidade, uma vez que, apesar de não existir um tratamento padrão, os casos reportados em que se recorreu à TF raramente registaram efeitos adversos significativos^{62; 64}. Adicionalmente, uma grande parte dos dados que atesta o sucesso da TF poderá não estar a ser considerada, quer seja pela escassez de dados publicados, ou mesmo devido a publicações antigas em línguas diferentes do inglês, limitando o acesso à informação⁶⁶. Segundo Uyttebroek *et al*, foi recolhida informação de 16 casos de pacientes nas últimas 2 décadas, com infeções respiratórias graves. Foram executadas diferentes vias de administração, incluindo nebulização, administração intravenosa e combinações destas conjugadas com a via oral. De uma forma geral, os pacientes apresentaram boa tolerância à TF, com exceção de um único caso em que se reportou uma resposta imunológica. Adicionalmente, a única morte registada foi relacionada com um caso de insuficiência respiratória e não com a terapêutica⁶⁷.

No entanto, existem ainda muitas questões relativamente à aplicação de TF na área de pneumologia, havendo apenas, até à data, alguns registos de tratamento individuais⁶³. De momento, não se encontra a decorrer nenhum ensaio clínico para o tratamento de pneumonia com recurso a BFs^{68; 69}. Existe ainda muita falta de conhecimento nomeadamente na

farmacocinética dos BFs, na frequência e modo de administração, nos possíveis mecanismos de resistência aos fagos *in vivo*, bem como na eficácia e adequação de combinações entre fagoterapia e antibioterapia⁶⁸.

Relativamente à administração de antibióticos, existe um vasto conhecimento quanto à sua posologia, no entanto, está ainda por definir a frequência de administração e duração de tratamento ideais no caso de TF. Apesar de os BFs serem autorreplicantes, mesmo a concentrações relativamente baixas, de acordo com um estudo conduzido por Plank *et al*, uma administração única poderá não ser suficiente para erradicar todas as células bacterianas^{55; 57; 62; 68}. Este ponto remete, mais uma vez, para a necessidade de realização de ensaios clínicos significativos com uma amostra de pacientes representativa, de modo a estabelecer normas legais e indicações para o uso da fagoterapia, tal como existem para a antibioterapia. No entanto, um dos principais entraves dá-se pela sua natureza como entidades naturais, sendo difícil de as patentear, o que gera desmotivação por parte das empresas farmacêuticas em desenvolver esta abordagem⁵⁵.

4.2. Resistência bacteriana a fagos

Não é novidade que as bactérias têm elevada capacidade de desenvolver resistências aos agentes antimicrobianos, e os BFs não são exceção, sendo portadoras de mecanismos naturais para prevenir a infeção viral^{55; 70}. À medida que os fagos invadem e infetam os seus hospedeiros, as bactérias criam diversas estratégias, tanto inatas como adaptativas, para se defenderem⁷¹. Estas abrangem todas as etapas do ciclo de vida dos fagos, resultando numa coevolução competitiva⁷². Assim, estes “sistemas antifagos” desenvolvidos pelas bactérias podem ser classificados em 3 grandes categorias: adaptações do recetor, sistema de defesa do hospedeiro e sistemas de defesas derivados de fagos⁷³.

4.2.1. Adaptações do recetor

O passo inicial para a infeção do BF contra a bactéria é a adsorção. No entanto, esta etapa pode ser afetada através de mutações aleatórias ou variações fenotípicas em bactérias, resultando na ocultação dos recetores com uma barreira física adicional, na alteração da sua estrutura, ou até mesmo na perda ou diminuição da sua expressão^{55; 73; 74}. Diversos componentes bioquímicos formam os recetores bacterianos, incluindo OMPs, polissacarídeos e LPS. Estes últimos são particularmente reconhecidos por fagos que infetam BGN⁷⁴.

Dentro deste grupo de bactérias, existem diferentes estratégias para prevenir a adsorção e introdução do material genético do BF no interior da célula hospedeira⁷². A bactéria, por exemplo, tem a capacidade de secretar vesículas de membrana externa (OMVs) com expressão de recetores específicos a fagos, como LPS. Deste modo, o fago é sequestrado e inativado^{71; 75}.

Através de modificações pós-traducionais do recetor⁷², as bactérias secretam substâncias poliméricas extracelulares (EPS), glicoconjugados ou alginatos^{55; 62}, como acontece nos recetores pili tipo IV (T4P) da *P. aeruginosa*, onde estes sofrem glicosilação⁷⁶, impedindo desta forma o reconhecimento dos recetores. Outra estratégia é a prevenção da adsorção através da regulação positiva da produção de matriz extracelular, com consequente formação de um biofilme, ou a formação de uma cápsula de polissacarídeos, fazendo com que os recetores fiquem fisicamente ocultos. No entanto, como referido anteriormente, ambas as entidades coevoluem e, em determinadas situações, os BFs são capazes de superar este obstáculo através da secreção de enzimas, mais especificamente, de despolimerases, que degradam os componentes poliméricos da superfície bacteriana⁷⁷. Por fim, outras estratégias envolvem a ocultação dos recetores por meio de regulação do fenótipo bacteriano, como a expressão OMPs, modificando o recetor do fago ou ainda a introdução de mutações dos genes do recetor que afetam a proteína ou a sua expressão^{72; 73; 78}.

4.2.2. Sistemas de defesa do hospedeiro

Assim que o genoma do fago é injetado no interior da célula hospedeira, poderá ser iniciado tanto o ciclo lítico como o ciclo lisogénico, dependendo da natureza do BF. Neste sentido, várias linhas de defesas intracelulares podem ser ativadas para contrariar a replicação do BF, como por exemplo através de interferências nos ácidos nucleicos (Figura 4A), de uma infeção abortiva (Figura 4B) ou numa defesa química (Figura 4C)^{72; 73; 79}. No entanto, existem muitos sistemas de defesa não caracterizados, o que leva à necessidade de se realizarem mais estudos neste âmbito⁷³.

Dentro do grupo de mecanismos relativos à defesa contra elementos genéticos móveis, as bactérias possuem no seu genoma regiões conhecidas como “ilhas de defesa” que codificam diversos sistemas de proteção (Figura 4A). Além da ativação do sistema imunológico CRISPR-Cas, os mecanismos de defesa baseiam-se na sinalização e degradação do DNA invasor, tal como o sistema de ilha

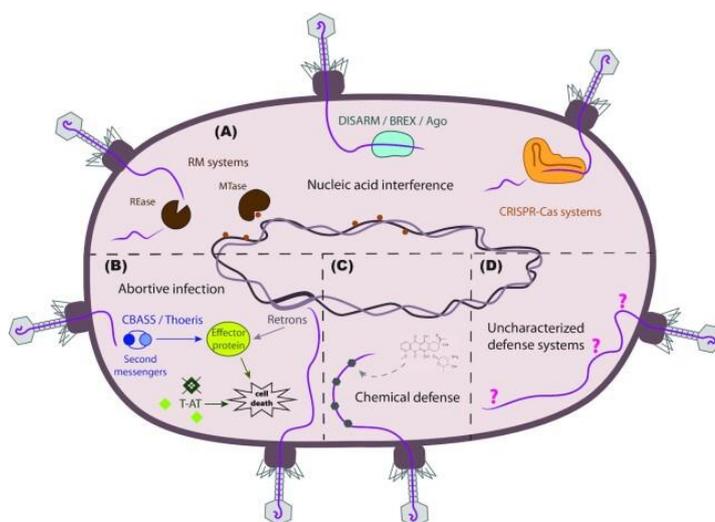


Figura 2 - Representação esquemática de alguns sistemas de defesa reconhecidos do hospedeiro. Retirado de (68).

de defesa associado à modificação de restrição e exclusão de BF (DISARM/BREX)^{72; 80}. Um dos mecanismos mais conhecidos recai nos sistemas de modificação de restrição (RM) onde endonucleases de restrição (REases) são usadas para clivar o DNA invasor em locais de reconhecimento específico, enquanto uma metiltransferase (MTase) marca o DNA endógeno em locais específicos, modificando-o e protegendo-o da clivagem pela REase^{71; 73}. Contudo, os BFs desenvolveram proteínas antirrestrição e antimetilação para evitar este sistema, como acontece com a proteína *ArdA*, por exemplo, que mimetiza estruturalmente o DNA invasor, sendo este degradado^{79; 81}.

Na Figura 4B é representado um mecanismo de infecção abortiva (Abi), uma “morte celular programada” da própria célula hospedeira, sacrificando-se para proteger a população bacteriana circundante⁷¹. Em resposta à infecção viral, a bactéria recorre a um sistema de sinalização antifágica baseada em oligonucleotídeos cíclicos (CBASS), onde é codificada uma nucleotidiltransferase (CD-NTase), que deteta a replicação do fago e catalisa a síntese de um segundo mensageiro nucleotídeo^{73; 79}. Neste processo, já evidenciado em *A. baumannii*, também é codificada uma proteína efetora, que se associa ao segundo mensageiro, induzindo a morte celular por comprometimento da membrana, clivagem do DNA, ou diminuição de metabolitos celulares essenciais (v.g. NAD⁺)^{79; 82}. Além da CBASS, outros mecanismos associados à Abi envolvem o desequilíbrio de concentrações de toxinas e antitoxinas de modo a evitar a propagação do fago, ou a codificação de uma transcriptase reversa (RT) e de RNA não codificante (ncRNA), levando igualmente à morte celular^{73; 79; 83}.

Por fim, a bactéria também pode contra-atacar os BF através de compostos bioativos, que se intercalam com o material genético do fago e inibem a sua replicação (Figura 4C).

Apesar de muitos destes metabolitos secundários não estarem bem caracterizados, nem identificados na totalidade, já foi evidenciada a síntese do composto daunorrubicina em culturas de *P. aeruginosa*, com a capacidade de inibir a infecção fágica no início do seu ciclo de replicação^{73; 84}.

4.2.3. Sistemas de defesa derivados dos fagos

Até aqui realçou-se o facto de as células bacterianas conseguirem evitar infecção por BFs através de fenómenos intrínsecos. No entanto, os próprios fagos podem equipar a bactéria com novos sistemas de proteção contra novas infecções por fagos. Uma dessas estratégias é conhecida por exclusão de superinfecção (Sie) (Figura 5A). Por um lado, consiste

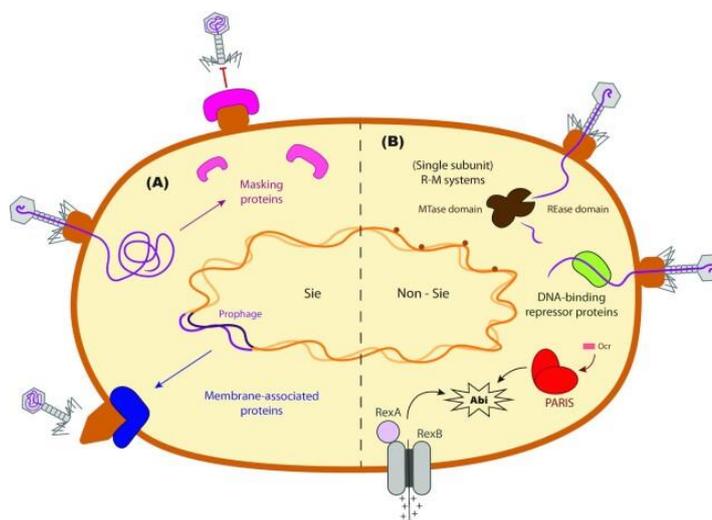


Figura 3 - Representação esquemática de sistemas de defesa derivados de fagos. Retirado de (68).

na produção de proteínas por parte de um fago com funções de alteração da conformação dos recetores da superfície celular, bloqueando novas infecções. Por outro lado, na produção de proteínas, principalmente por profagos, cuja função é interromper a injeção do material genético do BF, através da inibição dos canais ao nível da membrana nos quais ocorre a entrada do DNA invasor^{55; 73}.

Os profagos podem conter pontos críticos genéticos, que conferem à célula hospedeira uma variedade de respostas imunes, como por exemplo, pode codificar sistemas RM ou proteínas repressoras de ligação de DNA do fago, que por consequência podem desencadear uma resposta de Abi (Figura 5B)⁷³.

4.3. Perspetivas Futuras da Terapia Fágica

De modo a contornar a resistência bacteriana aos BFs, um conceito recorrentemente aplicado é o de formulação de *cocktails* de BFs. Estes tratamentos são constituídos com fagos direcionados para diferentes alvos e com gamas de hospedeiros complementares, apresentando uma maior cobertura contra uma determinada espécie bacteriana, melhorando desse modo os resultados da fagoterapia e dificultando o desenvolvimento de resistências por parte das bactérias^{58; 85}. Os *cocktails* de BFs podem ser complementados com outros

compostos de modo a obter um efeito sinérgico, como é o caso de antibióticos ou de enzimas de degradação de biofilme/muco. No entanto, nem sempre é possível evidenciar este sinergismo em todas as formulações, devido a problemas de estabilidade dos diferentes componentes^{58; 86}.

A formulação de *cocktails* com recurso à encapsulação de BFs revelou-se uma abordagem emergente vantajosa, permitindo uma maior permanência dos fagos no local de infeção assim como uma libertação constante e controlada no organismo, visto que alguns estudos terem demonstrado a ocorrência de eliminação de fagos num curto espaço de tempo. Assim, o recurso a lipossomas para encapsular fagos pode constituir uma estratégia profilática de infeção nosocomial, havendo já evidências de uma permanência de BFs durante vários dias no organismo, dependendo da via de administração⁸⁶. A encapsulação de fagos com lipossomas revelou-se um recurso vantajoso e eficaz em infeções intracelulares, como em macrófagos pulmonares causadas por *Klebsiella spp.* ou *S. aureus*. Além disso, uma membrana lipossômica pode também conferir proteção adicional contra possíveis respostas imunológicas a BFs^{86; 87}. Por sua vez, a via de administração impacta a farmacocinética e, por consequência, a eficácia do tratamento. Deste modo, e tal como já foi evidenciado através de testes de distribuição em tecidos animais, para cada tipo de fago utilizado deve ser escolhido o modo de administração utilizado, formulação, dose e frequência⁸⁶.

Por fim, novas abordagens relativas à modificação do genoma de fagos têm sido exploradas para melhorar as suas propriedades antimicrobianas e criar estratégias para contornar possíveis resistências. Apesar de serem levantadas muitas questões éticas sobre organismos geneticamente modificados (OGMs), esta abordagem pode ser vista como uma mais-valia, dado que pode aumentar o interesse por parte da indústria farmacêutica devido à maior facilidade em patentear este tipo de fagos^{58; 88}.

De um modo geral, os fagos provavelmente serão empregados em caso de insucesso terapêutico à antibioterapia, num contexto mais personalizado, não sendo previsível que esta terapia seja substituída para primeira linha de tratamento. No entanto, o uso de terapias combinadas ou a engenharia genómica podem trazer vantagens associadas contra as preocupações inerentes a esta abordagem, como a coevolução prolongada entre fagos e bactérias, uma vez que os fagos tendem a encontrar formas de sobreviver aos mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias⁵⁸.

5. Terapia com péptidos antimicrobianos

Os péptidos antimicrobianos (AMPs) têm-se destacado ao longo das últimas décadas no auxílio contra a resistência antibiótica, devido às suas características microbicidas, imunológicas e anti-inflamatórias, bem como o seu largo espectro de ação⁸⁹. Os AMPs podem ser encontrados em diversos organismos (insetos, bactérias de solo, anfíbios, plantas e até mamíferos), e tratam-se de sequências de, geralmente, 10 a 50 aminoácidos, mas que podem ter uma quantidade superior a 200, em que aproximadamente 1/3 é hidrofóbico e têm uma carga global positiva (+2 a +9, em pH fisiológico)⁹⁰. Após interação com uma membrana lipídica, podem formar estruturas anfipáticas com diferentes conformações: péptidos lineares α -helicoidais, em folhas β com pontes dissulfeto, péptidos com estruturas de *loop* ou estendidos⁸⁹. Adicionalmente, podem ser sintetizados em laboratório, através da modificação do tamanho e da sequência de aminoácidos, carga, conformação, hidrofobicidade e anfipaticidade, que por sua vez irá alterar a atividade antimicrobiana^{91; 92}.

5.1. Atividade antimicrobiana dos AMPs e as suas limitações

Devido à sua carga positiva, os AMPs são atraídos pela superfície celular bacteriana, que se encontra carregada negativamente, interagindo com os constituintes fosfolipídicos das membranas, e causando perturbações como despolarização, desestabilização e/ou ruptura da membrana plasmática⁹³. Adicionalmente, o tipo de interações pode variar tendo em conta a constituição lipídica, o que remete para uma especificidade variável para diferentes bactérias. Relativamente ao modo de ação, este pode ser diferenciado em dois mecanismos gerais: por um lado, os AMPs podem romper diretamente a membrana citoplasmática interna, podendo interagir ou não com componentes intracelulares (normalmente componentes envolvidos na síntese e regulação de proteínas, DNA e/ou RNA, etc.), levando ao vazamento do conteúdo celular bacteriano e, conseqüentemente, à morte celular; por outro lado, os AMPs podem seguir uma estratégia contra o patógeno direcionada a alvos intracelulares específicos, afetando os processos celulares e levando à morte celular, como por exemplo, através da desnaturação de proteínas ou agregação de ácidos nucleicos aniônicos^{91; 92; 94}.

Não obstante, os AMPs apresentam limitações com impacto na sua utilização clínica. No caso de péptidos de origem natural, o seu isolamento está atualmente associado a processos complexos e, geralmente, com ausência de grau de pureza desejável. Relativamente à sua administração clínica, e sendo transversal a muitos AMPs independentemente da sua origem, há um risco elevado de citotoxicidade, podendo levar a complicações posteriores

como hemólise, nefrotoxicidade e neurotoxicidade. Estes efeitos adversos são fortemente influenciados devido a perfis farmacocinéticos pouco compreendidos e a tempos de meia-vida *in vivo* geralmente curtos. Por fim, tal como observado tanto em terapias convencionais como em terapias alternativas ou emergentes, estas substâncias não são isentas de mecanismos de resistência por parte dos agentes etiológicos, sendo os AMPs bastante suscetíveis a proteólise devido à atividade de proteases bacterianas^{90; 92}.

5.2. Perspetivas futuras dos péptidos antimicrobianos

Até ao momento, foram aprovadas sete moléculas, entre as quais a colistina e a vancomicina, que constituem últimas linhas de tratamento da PN devido a possíveis interações com o sistema imunológico e a possível toxicidade sistémica. Desfavoravelmente, quando o tratamento com estas substâncias é administrado por via intravenosa, as concentrações pulmonares atingidas não são significativas, traduzindo-se num maior período de permanência dos agentes patogénicos nos tecidos pulmonares. De tal modo, encontram-se a ser estudadas novas formas de administração destes compostos, nomeadamente como a via inalatória, havendo já registos de usos *off-label* que demonstraram um aumento de concentrações a nível pulmonar^{89; 95}.

Com o intuito de contornar as limitações descritas, a engenharia de AMPs tem ganho relevância, uma vez que, modificando a composição e características naturais destes compostos, é possível melhorar a sua atividade e especificidade antimicrobiana. Além disso, reduzindo a diversidade na composição de aminoácidos, é expectável que se diminua a suscetibilidade à digestão por proteases^{92; 96}. Um exemplo de um AMP modificado que se encontra em desenvolvimento é o WLBU-2 e o seu D-enantiómero (D8 WLBU-2), para o qual está a ser estudada a sua administração por via inalatória^{95; 97}. Este conceito de *design* do WLBU-2 resultou num D-enantiómero com melhor atividade antimicrobiana contra biofilmes bacterianos e elevada redução de *P. aeruginosa*, sendo que se verificou igualmente boas evidências de estabilidade do enantiómero nas secreções epiteliais do trato respiratório quando administrado por via inalatória, enquanto o WLBU2, após 4 horas de administração, sofreu perda de atividade bactericida. Conclui-se portanto que uma otimização estrutural dos AMPs naturais, minimizando a diversidade da composição de aminoácidos (restrição a aminoácidos hidrofóbicos e catiónicos) permite atingir uma anfipaticidade ideal e deste modo melhorar a estabilidade, atuar contra biofilmes e aumentar o índice terapêutico^{95; 96}.

Outro alvo de estudo é a proteína SPLUNCI (clone curto epitelial de palato, pulmão e nariz), composta por 256 aminoácidos, sendo secretada no trato respiratório humano e

atuando como surfactante nos fluidos do trato respiratório, facilitando a eliminação muco ciliar de bactérias e partículas estranhas ao organismo, tendo especial relevância na imunidade inata^{93; 98}. Uma pequena porção desta proteína foi avaliada, uma região helicoidal específica denominada de $\alpha 4$, com 30 aminoácidos, que apresenta características anfipáticas e catiónicas (+2). Foi evidenciada uma atividade antibiofilme em estudos iniciais contra colónias de MRSA e MSSA. No entanto, concluiu-se que esta característica pode ser melhorada através de um aumento de conteúdo catiónico bem como de triptofano (Trp), um aminoácido capaz de aumentar a anfipaticidade e hidrofobicidade. Sendo um AMP derivado de uma proteína humana, não é expectável um aumento de citotoxicidade com a sua administração, mas são ainda necessários mais estudos relativamente à sua toxicidade após estas alterações^{98; 99}. Posteriormente, a partir da região $\alpha 4$, obteve-se um derivado sintético otimizado ($\alpha 4$ -short), um AMP mais curto (24 aminoácidos) e com maior eletropositividade e anfipaticidade em comparação com o $\alpha 4$. Destes ensaios, concluiu-se que a atividade bactericida foi aumentada bem como uma atividade antibiofilme dependente da dose. Além destas evidências, também se verificou que ao nível de toxicidade não houve variação significativa comparativamente ao péptido $\alpha 4$, ou seja, de um modo geral, a forma $\alpha 4$ -short teve um aumento de atividade antimicrobiana sem alterações significativas na citotoxicidade. Foi também possível concluir que o AMP curto teve ação antimicrobiana num amplo espectro de estirpes de *P. aeruginosa*, o que não tinha sido evidenciado na forma não otimizada⁹⁸.

Dada a relevância da engenharia de AMPs, não se pode descartar a importância da via de administração destes agentes antimicrobianos ao TRI, visto que pode ocorrer inativação ou bloqueio por parte das barreiras pulmonares, como por exemplo, degradação por peptidases/proteases. Ao contrário da administração sistémica, a administração pulmonar de nanopartículas carregadas com AMPs contorna a limitação da toxicidade sistémica e, ajustando o tamanho e as características da superfície das nanopartículas, é possível direccionar o tratamento para o parênquima pulmonar. Deste modo, encontram-se também a decorrer estudos de diversas estratégias com formulações nanotecnológicas que poderão permitir a libertação dos AMPs de forma controlada no tempo e um aumento da sua estabilidade^{11; 100}.

6. Conclusões

Em alternativa à antibioterapia, abordagens inovadoras como a TF têm sido alvo de estudo e de uso compassivo devido a um elevado potencial no combate a bactérias MDR. Embora enfrente desafios regulamentares, os países europeus começaram a desenvolver mais estudos de forma a explorar as várias abordagens desta terapia e a aplicar em diversos casos onde a terapêutica com antibióticos falhou^{55; 67; 68}. A utilização de AMPs, apesar de associada a uma enorme relevância clínica no tratamento de infeções por MDROs, enfrenta obstáculos relativamente a citotoxicidade e biodisponibilidade^{89; 95}.

Perante o paradigma das terapias atuais e das terapias inovadoras, a nanotecnologia e a bioengenharia genómica têm surgido como possíveis soluções para superar muitas das limitações vivenciadas atualmente. Isso reflete-se no avanço de novos métodos de transporte molecular direcionados a múltiplos alvos terapêuticos e na capacidade de transporte de material genético, bem como na modificação de ácidos nucleicos. A notável permeabilidade das nanopartículas, tanto às barreiras fisiológicas tanto às originadas por patogéneos, tais como biofilmes, permitem a administração de novos grupos terapêuticos que de outra forma se demonstrariam infrutíferos^{86; 87; 91; 100}.

Não obstante, apesar dos desenvolvimentos feitos e dos resultados promissores, há ainda um longo caminho até a aprovação e implementação em larga escala destes tratamentos alternativos. Embora haja um forte instinto que leve a priorizar a descoberta de novos tratamentos, devemos ter consciência da forte capacidade adaptativa e evolutiva das bactérias.

Tal como referido ao longo deste trabalho, o combate a microrganismos resistentes é um processo complexo e multifatorial. As infeções nosocomiais, especialmente a PN, constituem um desafio significativo na saúde pública, dada a crescente resistência antimicrobiana das bactérias, nomeadamente as estirpes de bactérias do grupo ESKAPE.

Devemos abordar a terapêutica de infeções nosocomiais como um conjunto de medidas a tomar, tendo como ponto de partida a utilização adequada dos antibióticos através da harmonização de linhas orientadoras a nível global e consciencialização para adoção das mesmas. A implementação de medidas preventivas em meios hospitalares e UCI, através da aplicação de *bundles* e do uso de materiais antimicrobianos inovadores têm-se vindo a revelar medidas promissoras na redução da incidência de VAP^{41; 43}. Por fim, a melhoria das técnicas de diagnóstico, bem como a sua expansão e acessibilidade, é fundamental para reduzir a utilização desnecessária de antibióticos. De tal modo, a solução não reside apenas na cura, uma vez que nos encontramos agora numa era pós-antibiótica.

7. Referências Bibliográficas

1. HUTCHINGS, Matt *et al.* - **Antibiotics: past, present and future.** Current Opinion in Microbiology. ISSN 18790364. 51:Figure 1 (2019) 72–80. doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008.
2. BRAGG, R. R. *et al.* - **Potential treatment options in a post-antibiotic era.** Springer Singapore ISBN 9789811075728. (2018) doi: 10.1007/978-981-10-7572-8_5.
3. ROSENBLATT-FARRELL, Noah - **The Landscape of Antibiotic Resistance.** Environmental Health Perspectives. 117:6 (2009) 246–250. doi: 10.1289/ehp.117-a244.
4. URAHN, Susan K. *et al.* - **A Scientific Roadmap for Antibiotic Discovery.** The Pew Charitable Trusts. ISSN 2058-5276. (2016) 1–42. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.83.
5. MURPHY, Kyle E. *et al.* - **Advances in antibiotic drug discovery: reducing the barriers for antibiotic development.** Future Medicinal Chemistry. (2020). doi: 10.4155/fmc-2020-0247.
6. SPAGNOLO, Fabrizio *et al.* - **Why Do Antibiotics Exist?** mBio. ISSN 21507511. 12:6 (2021) 1–15. doi: 10.1128/mBio.01966-21.
7. SHI, Zhenfeng *et al.* - **A Comprehensive Overview of the Antibiotics Approved in the Last Two Decades: Retrospects and Prospects.** Molecules. ISSN 14203049. 28:4 (2023). doi: 10.3390/molecules28041762.
8. RUSSO, Thomas A. *et al.* - **Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli.** Em LOSCALZO, JOSEPH *et al.* (Eds.) - Harrison's Principles of Internal Medicine, 21e. New York, NY : McGraw-Hill Education, 2022 Disponível em <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1198221493>.
9. WHO/EMP/IAU/2017.12 GENEVA: WHO - **Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis.** ISBN 9786021018187. [Consult. 20 jul. 2023]. Disponível em <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EMP-IAU-2017.12>.
10. SHIRLEY, Matt - **Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections.** Drugs. ISSN 11791950. 78:6 (2018) 675–692. doi: 10.1007/s40265-018-0902-x.
11. LI, Jiaqi *et al.* - **Pulmonary Delivery of Emerging Antibacterials for Bacterial Lung Infections Treatment.** Pharmaceutical Research. ISSN 1573904X. 0123456789 (2022). doi: 10.1007/s11095-022-03379-8.

12. KRISHNAMURTHY, Malathy *et al.* - **Bacterial genome engineering and synthetic biology: combating pathogens.** BMC Microbiology. ISSN 14712180. 16:1 (2016) 1–11. doi: 10.1186/s12866-016-0876-3.
13. PLATA-MENCHACA, Erika P. *et al.* - **Current treatment of nosocomial pneumonia and ventilator-associated pneumonia.** Revista Espanola de Quimioterapia. ISSN 19889518. 35 (2022) 25–29. doi: 10.37201/req/s03.06.2022.
14. TORRES, Antoni *et al.* - **International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia.** European Respiratory Journal. ISSN 13993003. 50:3 (2017). doi: 10.1183/13993003.00582-2017.
15. ZARAGOZA, Rafael *et al.* - **Update of the treatment of nosocomial pneumonia in the ICU.** Critical Care. 383:383 (2020) 1–13. doi: 10.1186/s13054-020-03091-2.
16. ALNIMR, Amani - **Antimicrobial Resistance in Ventilator-Associated Pneumonia: Predictive Microbiology and Evidence-Based Therapy.** Infectious Diseases and Therapy. ISSN 21936382. 12:6 (2023) 1527–1552. doi: 10.1007/s40121-023-00820-2.
17. FITZPATRICK, Meghan E. *et al.* - Pneumonia. Em **Current Medical Diagnosis & Treatment 2023.** Disponível em <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3212§ionid=269161893>.
18. (ECDC), European Centre For Disease Prevention And Control - **Healthcare-associated infections acquired in intensive care units Annual Epidemiological Report 2019.** [Consult. 8 jun. 2023] Disponível em <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/healthcare-associated-infections-intensive-care-units-2019>.
19. ENVIN-UCI - **Estudio Nacional De Vigilancia De Infección Nosocomial En Servicios Sociedad Española De Medicina Intensiva Crítica Y Unidades Coronarias.** (2022). [Consult. 10 jun. 2023]. Disponível em <https://hws.vhebron.net/envin-helics/Help/Informe%20ENVIN-UCI%202022.pdf>.
20. CAMPOS, Juliana C. D. *et al.* - **Global priority pathogens: Virulence, antimicrobial resistance and prospective treatment options.** Future Microbiology. ISSN 17460921. 15:8 (2020). doi: 10.2217/fmb-2019-0333.
21. AL-TAWFIQ, Jaffar A. *et al.* - **Antibiotics in the pipeline: a literature review (2017–2020).** Infection. ISSN 14390973. 50:3 (2022) 553–564. doi: 10.1007/s15010-021-01709-3.

22. RICE, Louis B. - **Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE.** *Journal of Infectious Diseases.* ISSN 00221899. 197:8 (2008) 1079–1081. doi: 10.1086/533452.
23. BOYLE-VAVRA, Susan *et al.* - **USA300 and USA500 clonal lineages of Staphylococcus aureus do not produce a capsular polysaccharide due to conserved mutations in the cap5 locus.** *mBio.* ISSN 21507511. 6:2 (2015) 1–10. doi: 10.1128/mBio.02585-14.
24. GUO, Yunlei *et al.* - **Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* ISSN 22352988. 10:March (2020) 1–11. doi: 10.3389/fcimb.2020.00107.
25. CHEUNG, Gordon Y. C. *et al.* - **Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus.** *Virulence.* ISSN 21505608. 12:1 (2021) 547–569. doi: 10.1080/21505594.2021.1878688.
26. KAKOULLIS, Loukas *et al.* - **Mechanisms of Antibiotic Resistance in Important Antibiotic Solutions.** *Antibiotics.* (2021) 1–25. doi: 10.3390/antibiotics10040415.
27. MLYNARCZYK-BONIKOWSKA, Beata *et al.* - **Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Staphylococcus aureus.** *International Journal of Molecular Sciences.* ISSN 14220067. 23:15 (2022). doi: 10.3390/ijms23158088.
28. GUERRA, Maria Eduarda Souza *et al.* - **Klebsiella pneumoniae Biofilms and Their Role in Disease Pathogenesis.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* ISSN 22352988. (2022) 1–13. doi: 10.3389/fcimb.2022.877995.
29. SARSHAR, Meysam *et al.* - **Acinetobacter baumannii: An ancient commensal with weapons of a pathogen.** *Pathogens.* ISSN 20760817. 10:4 (2021). doi: 10.3390/pathogens10040387.
30. KUMAR, Sunil *et al.* - **Virulence potential and treatment options of multidrug-resistant (Mdr) acinetobacter baumannii.** *Microorganisms.* ISSN 20762607. 9:10 (2021) 1–20. doi: 10.3390/microorganisms9102104.
31. VERDIAL, Cláudia *et al.* - **Mechanisms of Antibiotic and Biocide Resistance That Contribute to Pseudomonas aeruginosa Persistence in the Hospital Environment.** *Biomedicines.* ISSN 22279059. 11:4 (2023). doi: 10.3390/biomedicines11041221.
32. PEREIRA, Sonia Gonçalves *et al.* - **Virulence factors as predictive tools for drug resistance in pseudomonas aeruginosa.** *Virulence.* ISSN 21505608. 6:7 (2015) 679–683. doi: 10.1080/21505594.2015.1048958.

33. JURADO-MARTÍN, Irene *et al.* - **Pseudomonas aeruginosa: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors.** International Journal of Molecular Sciences. ISSN 14220067. 22:6 (2021) 1–37. doi: 10.3390/ijms22063128.
34. REYNOLDS, Dan *et al.* - **The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of Pseudomonas aeruginosa Infections: An Update.** Drugs. ISSN 11791950. 81:18 (2021) 2117–2131. doi: 10.1007/s40265-021-01635-6.
35. BEHZADI, Payam *et al.* - **It's not easy being green: A narrative review on the microbiology, virulence and therapeutic prospects of multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa.** Antibiotics. ISSN 20796382. 10:1 (2021) 1–29. doi: 10.3390/antibiotics10010042.
36. EMAN, Shebl *et al.* - **Nosocomial Pneumonia.** StatPearls Publishing LLC (2023). [Consult. 10 jul. 2023]. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535441>.
37. ZILBERBERG, Marya D. *et al.* - **Ventilator-associated pneumonia: The clinical pulmonary infection score as a surrogate for diagnostics and outcome.** Clinical Infectious Diseases. ISSN 10584838. 51:SUPPL. 1 (2010) 131–135. doi: 10.1086/653062.
38. PAPAZIAN, Laurent *et al.* - **Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review.** Intensive Care Medicine. ISSN 14321238. 46:5 (2020) 888–906. doi: 10.1007/s00134-020-05980-0.
39. XU, Elena *et al.* - **Nosocomial pneumonia in the era of multidrug-resistance: updates in diagnosis and management.** Microorganisms. ISSN 20762607. 9:3 (2021) 1–39. doi: 10.3390/microorganisms9030534.
40. VIECELLI, T. *et al.*; - **Optimization of antimicrobial prescription in the hospital.** European Journal of Internal Medicine. ISSN 18790828. 106:August (2022) 39–44. doi: 10.1016/j.ejim.2022.08.035.
41. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE - **“Feixe de Intervenções” para a Prevenção da Pneumonia associada à Intubação.** [Consult. 18 jul. 2023]. Disponível em https://normas.dgs.min-saude.pt/wp-content/uploads/2015/12/norma_021_2015_atualizada_17_11_2022_prev_pneum_assoc_intubacao_corrigida_marco_2023.pdf.
42. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE - **Infeções e Resistências a Antimicrobianos: Relatório do Programa Prioritário PPCIRA 2021.** (2022) 1–48. [Consult. 18 jul. 2023] Disponível em <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/infecoes-hospitalares-e-consumo-de-antibioticos-diminuiram-entre-2015-e-2020-pdf.aspx>.

43. BURJA, Sandra *et al.* - **Efficacy of a bundle approach in preventing the incidence of ventilator associated pneumonia (VAP).** *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. ISSN 18404812. 18:1 (2018) 105–109. doi: 10.17305/bjbms.2017.2278.
44. MARCUT, Lavinia *et al.* - **Antimicrobial Solutions for Endotracheal Tubes in Prevention of Ventilator-Associated Pneumonia.** *Materials*. ISSN 19961944. 16:14 (2023). doi: 10.3390/ma16145034.
45. ALVES, Diana *et al.* - **Antimicrobial materials for endotracheal tubes: A review on the last two decades of technological progress.** *Acta Biomaterialia*. ISSN 18787568. 158:2023) 32–55. doi: 10.1016/j.actbio.2023.01.001.
46. SARDA, Cristina *et al.* - **Management of ventilator-associated pneumonia (VAP) caused by resistant gram-negative bacteria: which is the best strategy to treat?** *Expert Review of Respiratory Medicine*. ISSN 17476356. 13:8 (2019) 787–798. doi: 10.1080/17476348.2019.1632195.
47. KHAN, Raymond *et al.* - **The impact of onset time on the isolated pathogens and outcomes in ventilator associated pneumonia.** *Journal of Infection and Public Health*. ISSN 1876035X. 9:2 (2016) 161–171. doi: 10.1016/j.jiph.2015.09.002.
48. KELLY, Daire N. *et al.* - **Comparing current US and European guidelines for nosocomial pneumonia.** *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. ISSN 15316971. 25:3 (2019) 263–270. doi: 10.1097/MCP.0000000000000559.
49. SCHOLTE, J. B. J. *et al.* - **Empirical antibiotic therapy for pneumonia in intensive care units: a multicentre, retrospective analysis of potentially pathogenic microorganisms identified by endotracheal aspirates cultures.** *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. ISSN 14354373. 34:11 (2015) 2295–2305. doi: 10.1007/s10096-015-2482-y.
50. KALIL, Andre C. *et al.* - **Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society.** *Clinical Infectious Diseases*. ISSN 15376591. 63:5 (2016) e61–e111. doi: 10.1093/cid/ciw353.
51. TORRES, Antoni *et al.* - **Summary of the international clinical guidelines for the management of hospital-acquired and ventilator-acquired pneumonia.** *ERJ Open Research*. ISSN 23120541. 4:2 (2018). doi: 10.1183/23120541.00028-2018.

52. DÍAZ, Emili *et al.* - **Neumonía nosocomial.** Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. ISSN 0213005X. 31:10 (2013) 692–698. doi: 10.1016/j.eimc.2013.04.014.
53. LEONE, Marc *et al.* - **Hospital-acquired pneumonia in ICU.** Anaesthesia Critical Care and Pain Medicine. ISSN 23525568. 37:1 (2018) 83–98. doi: 10.1016/j.accpm.2017.11.006.
54. MOKRANI, David *et al.* - **Antibiotic stewardship in the ICU: time to shift into overdrive.** Annals of Intensive Care. ISSN 21105820. 13:1 (2023). doi: 10.1186/s13613-023-01134-9.
55. DOMINGO-CALAP, Pilar *et al.* - **Bacteriophages: Protagonists of a post-antibiotic era.** Antibiotics. ISSN 20796382. 7:3 (2018) 1–16. doi: 10.3390/antibiotics7030066.
56. EL-SHIBINY, Ayman *et al.* - **Bacteriophages: The possible solution to treat infections caused by pathogenic bacteria.** Canadian Journal of Microbiology. ISSN 14803275. 63:11 (2017) 865–879. doi: 10.1139/cjm-2017-0030.
57. MITROPOULOU, Georgia *et al.* - **Phage therapy for respiratory infections.** Revue Medicale Suisse. ISSN 16609379. 18:804 (2022) 2150–2156. doi: 10.53738/REVMED.2022.18.804.2150.
58. HESSE, Shayla *et al.* - **Phage therapy in the twenty-first century: Facing the decline of the antibiotic era; is it finally time for the age of the phage?** Annual Review of Microbiology. ISSN 15453251. (2019) 155–174. doi: 10.1146/annurev-micro-090817-062535.
58. PIRES, Diana P. *et al.* - **Current challenges and future opportunities of phage therapy.** FEMS Microbiology Reviews. ISSN 15746976. 44:6 (2020) 684–700. doi: 10.1093/femsre/fuaa017.
59. NAUREEN, Zakira *et al.* - **Comparison between American and European legislation in the therapeutical and alimentary bacteriophage usage.** Acta Biomedica. ISSN 25316745. (2020) 1–7. doi: 10.23750/abm.v91i13-S.10815.
61. TU, Qihang *et al.* - **Acinetobacter Baumannii Phages: Past, Present and Future.** Viruses. ISSN 19994915. (2023). doi: 10.3390/v15030673.
62. PRINCIPI, Nicola *et al.* - **Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections.** Frontiers in Pharmacology. ISSN 16639812. (2019) 1–9. doi: 10.3389/fphar.2019.00513.

63. SALMOND, George P. C. *et al.* - **A century of the phage: Past, present and future.** *Nature Reviews Microbiology*. ISSN 17401534. 13:12 (2015) 777–786. doi: 10.1038/nrmicro3564.
64. ISZATT, Joshua J. *et al.* - **Phage therapy for multi-drug resistant respiratory tract infections.** *Viruses*. ISSN 19994915. 13:9 (2021) 1–14. doi: 10.3390/v13091809.
65. WUNDERINK, Richard G. - **Turning the phage on treatment of antimicrobial-resistant pneumonia.** *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. ISSN 15354970. 200:9 (2019) 1081–1082. doi: 10.1164/rccm.201908-1561ED.
66. STACEY, Helen J. *et al.* - **The Safety and Efficacy of Phage Therapy: A Systematic Review of Clinical and Safety Trials.** *Antibiotics*. ISSN 20796382. 11:10 (2022) 1–13. doi: 10.3390/antibiotics11101340.
67. UYTTEBROEK, Saartje *et al.* - **Safety and efficacy of phage therapy in difficult-to-treat infections: a systematic review.** *The Lancet Infectious Diseases*. ISSN 14744457. 22:8 (2022) e208–e220. doi: 10.1016/S1473-3099(21)00612-5.
68. PRAZAK, Josef *et al.* - **Bacteriophages improve outcomes in experimental staphylococcus aureus ventilator-associated pneumonia.** *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. ISSN 15354970. 200:9 (2019) 1126–1133. doi: 10.1164/rccm.201812-2372OC.
69. ClinicalTrials.gov - **Find Studies** [Consult. 10 ago. 2023] Disponível em <https://clinicaltrials.gov/>.
70. SCHOOLEY, Robert T. - **Exploring Bacteriophage Therapy for Drug-Resistant Bacterial Infections.** *Topics in Antiviral Medicine*. ISSN 21615853. 31:1 (2023) 23–30.
71. SEED, Kimberley D. - **Battling Phages : How Bacteria Defend against Viral Attack.** *PLOS Pathogens*. (2015) 1–5. doi: 10.1371/journal.ppat.1004847.
72. ROSTØL, Jakob T. *et al.* - **(Ph)ighting phages – how bacteria resist their parasites.** *Cell Host Microbe*. (2020) 184–194. doi: 10.1016/j.chom.2019.01.009.(Ph)ighting.
73. EGIDO, Julia E. *et al.* - **Mechanisms and clinical importance of bacteriophage resistance.** *FEMS Microbiology Reviews*. September 2021 (2022) 1–16. doi: 10.1093/femsre/fuab048.

74. SAFARI, Fatemeh *et al.* - **The interaction of phages and bacteria: the co-evolutionary arms race.** *Critical Reviews in Biotechnology*. ISSN 0738-8551. (2019) 1–19. doi: 10.1080/07388551.2019.1674774.
75. AUGUSTYNIAK, Daria *et al.* - **Outer Membrane Vesicles (OMVs) of *Pseudomonas aeruginosa* Provide Passive Resistance but Not Sensitization to LPS-Specific Phages.** *Viruses*. ISSN 19994915. (2022). doi: 10.3390/v14010121.
76. HARVEY, Hanjeong *et al.* - ***Pseudomonas aeruginosa* defends against phages through type IV pilus glycosylation.** *Nature Microbiology* (2017). doi: 10.1038/s41564-017-0061-y.
77. FERNANDES, Sofia *et al.* - **Enzymes and Mechanisms Employed by Tailed Bacteriophages to Breach the Bacterial Cell Barriers.** *Viruses*. (2018) 1–22. doi: 10.3390/v10080396.
78. LE, Shuai *et al.* - **Chromosomal DNA deletion confers phage resistance to *Pseudomonas aeruginosa*.** *Scientific Reports*. ISSN 20452322. (2014) 1–8. doi: 10.1038/srep04738.
79. GAO, Zhengyu *et al.* - **Bacteriophage strategies for overcoming host antiviral immunity.** *Frontiers in Microbiology*. (2023). doi: 10.3389/fmicb.2023.1211793.
80. OFIR, Gal *et al.* - **DISARM is a widespread bacterial defence system with broad anti-phage activities.** *Nature Microbiology*. (2018) 90–98. doi: 10.1038/s41564-017-0051-0.DISARM.
81. CHEN, Huimin *et al.* - **Functional comparison of anti-restriction and anti-methylation activities of ArdA, KlcA, and KlcAHS from *Klebsiella pneumoniae*.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. ISSN 22352988. 12:July (2022) 1–10. doi: 10.3389/fcimb.2022.916547.
82. DUNCAN-LOWEY, Brianna *et al.* - **CBASS phage defense and evolution of antiviral nucleotide signaling.** *Current Opinion in Immunology*. ISSN 18790372. (2022) 156–163. doi: 10.1016/j.coi.2022.01.002.
83. MILLMAN, Adi *et al.* - **Bacterial Retrons Function In Anti-Phage Defense.** *Cell*. ISSN 10974172. 183:6 (2020) 1551–1561.e12. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.065.
84. KRONHEIM, Sarah *et al.* - **A chemical defence against phage infection.** *Nature*. ISSN 14764687. 564:7735 (2018) 283–286. doi: 10.1038/s41586-018-0767-x.
85. BORIN, Joshua M. *et al.* - **Comparison of bacterial suppression by phage cocktails,**

- dual-receptor generalists, and coevolutionarily trained phages.** Evolutionary Applications. ISSN 17524571. 16:1 (2023) 152–162. doi: 10.1111/eva.13518.
86. MALIK, Danish J. *et al.* - **Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy.** Advances in Colloid and Interface Science. ISSN 00018686. 249:May (2017) 100–133. doi: 10.1016/j.cis.2017.05.014.
87. SINGLA, Saloni *et al.* - **Encapsulation of bacteriophage in liposome accentuates its entry in to macrophage and shields it from neutralizing antibodies.** PLoS ONE. ISSN 19326203. 11:4 (2016) 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0153777.
88. KILIC, Tugba *et al.* - **Biofilm control strategies in the light of biofilm-forming microorganisms.** World Journal of Microbiology and Biotechnology. ISSN 15730972. 39:5 (2023). doi: 10.1007/s11274-023-03584-6.
89. MOOKHERJEE, Neeloffer *et al.* - **Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical potential.** Nature Reviews Drug Discovery. ISSN 14741784. (2020) 311–332. doi: 10.1038/s41573-019-0058-8.
90. BISWARO, Lubhandwa S. *et al.* - **Antimicrobial peptides and nanotechnology, recent advances and challenges.** Frontiers in Microbiology. ISSN 1664302X. 9:MAY (2018) 1–14. doi: 10.3389/fmicb.2018.00855.
91. GOMES, Bárbara *et al.* - **Designing improved active peptides for therapeutic approaches against infectious diseases.** Biotechnology Advances. ISSN 07349750. 36:2 (2018) 415–429. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.01.004.
92. MATTHYSSEN, Tamara *et al.* - **The Potential of Modified and Multimeric Antimicrobial Peptide Materials as Superbug Killers.** Frontiers in Chemistry. ISSN 22962646. (2022) 1–23. doi: 10.3389/fchem.2021.795433.
93. JAKKAMPUDI, Tanvi *et al.* - **Lung SPLUNCI Peptide Derivatives in the Lipid Membrane Headgroup Kill Gram-Negative Planktonic and Biofilm Bacteria.** Biomacromolecules. ISSN 15264602. (2023). doi: 10.1021/acs.biomac.3c00218.
94. LUO, Ying; SONG, Yuzhu - **Mechanism of antimicrobial peptides: Antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities.** International Journal of Molecular Sciences. ISSN 14220067. 22:21 (2021). doi: 10.3390/ijms222111401.
95. WANG, Yuncheng *et al.* - **Advances in the development of antimicrobial peptides and proteins for inhaled therapy.** Advanced Drug Delivery Reviews. ISSN 18728294. (2022). doi: 10.1016/j.addr.2021.114066.

96. DI, Y. P. *et al.* - **Enhanced therapeutic index of an antimicrobial peptide in mice by increasing safety and activity against multidrug-resistant bacteria.** *Science Advances*. ISSN 23752548. (2020) 1–11. doi: 10.1126/sciadv.aay6817.
97. CHEN, C. *et al.* - **Enhanced efficacy of the engineered antimicrobial peptide WLBU2 via direct airway delivery in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia.** *Clinical Microbiology and Infection*. ISSN 14690691. (2018) doi: 10.1016/j.cmi.2017.08.029.
98. SHATHA JIANG, Berthony - **Antibacterial Properties and Efficacy of a Novel SPLUNCI- Derived Antimicrobial Peptide, α 4-Short, in a Murine Model of Respiratory Infection.** *mBio*. (2019). doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.00226-19>.
99. YU, Zhongjie *et al.* - **Enhanced biofilm prevention activity of a SPLUNCI-derived antimicrobial peptide against *Staphylococcus aureus*.** *PLoS ONE*. ISSN 19326203. (2018) 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0203621.
100. QIN, Shugang *et al.* - ***Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics.** *Signal Transduction and Targeted Therapy*. ISSN 20593635. (2022) 1–27. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1.