



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Rodrigo Manuel Dias de Almeida

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency. Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches” referentes à unidade curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Cláudia Furtado, do Dr. José Giro e da Professora Doutora Maria Manuel Silva, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Rodrigo Manuel Dias de Almeida

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency. Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches” referentes à unidade curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Cláudia Furtado, do Dr. José Giro e da Professora Doutora Maria Manuel Silva, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro, 2020

Eu, Rodrigo Manuel Dias de Almeida, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015250114, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency. Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 02 de setembro de 2020.

Rodrigo Dias Almeida

(Rodrigo Dias Almeida)

Agradecimentos

O alcançar dos objetivos a que me propus jamais aconteceria sem muito trabalho. Da mesma forma que não aconteceria sem o apoio daqueles com que me fui cruzando ao longo destes cinco anos. Para aqui chegar precisei de abrir portas, arriscar e sair da minha zona de conforto, com a certeza de que sozinho não iria a lado nenhum. Dedico este trabalho a todos aqueles que me ajudaram a percorrer este caminho.

Aos meus pais, por me apoiarem incondicionalmente ao longo do meu percurso académico e pelo incentivo constante para seguir sempre os meus sonhos. Espero que estejam orgulhosos e que me desculpem algumas ausências!

Ao meu irmão, por toda a paciência e disponibilidade para me ajudar. Muito do que sou hoje é devido aos grandes ensinamentos que me transmitiste ao longo da vida.

A toda a minha família pela cumplicidade e por acreditarem no meu potencial.

À minha madrinha e afilhados de faculdade por estarem sempre na primeira fila a apoiar-me ao longo destes cinco anos. Obrigado por enriquecerem tanto a minha passagem por Coimbra!

À Carolina, à Catarina, à Cláudia, à Constança, ao Francisco, à Inês, à Joana, ao João Pedro, ao Luís, à Margarida, à Maria, à Matilde, à Sara, à Sofia e ao Vasco, pelo companheirismo e pela presença insubstituível na minha vida. E a muitos outros amigos que a faculdade trouxe, por contribuírem para me ter tornado na pessoa que sou. Espero levar-vos para a vida!

À Associação Portuguesa de Estudantes de Farmácia e à Liga Portuguesa Contra o Cancro por terem contribuído para o meu enriquecimento pessoal e por tantos momentos incríveis proporcionados.

À Professora Doutora Maria Manuel Silva, pela orientação e dedicação na realização da minha monografia. Obrigado pelas palavras amigas e pelo exemplo de profissional e ser humano que é.

À Professora Doutora Victoria Bell e ao Doutor Francisco Olivença por estimularem o meu interesse e conhecimento pela área da Tuberculose.

Aos estimados Professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Doutor José Giro e restante equipa técnica da Farmácia Giro (Ana Luísa, Ana Miguel, Dina, Paulo, Rita, Sandra e Stephanie), pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade, proximidade e amabilidade com que me acolheram ao longo dos últimos meses.

À Professora Cláudia Furtado e a toda a equipa da Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde do INFARMED, I.P. pela expansão de conhecimentos que me possibilitaram durante os três meses que passei convosco e pelos valores que me transmitiram enquanto equipa.

Aos profissionais da Ordem dos Farmacêuticos, do CNC/UC e das Farmácias Barreto do Carmo e Rauek, por me receberem amavelmente na realização de estágios extracurriculares.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Granada por me acolher ao abrigo do projeto ERASMUS.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pelas oportunidades proporcionadas no decorrer destes cinco anos.

A Coimbra.

Índice Geral

Resumo	10
Abstract.....	12

Parte I – Relatório de Estágio no INFARMED, I.P

Introdução	17
1. INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.	18
2. Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde	19
3. Análise SWOT	20
3.1. Pontos Fortes.....	20
3.1.1. Relevância das funções desempenhadas	20
3.1.2. Coesão e Competência da Equipa da DATS	21
3.1.3. Plano de Integração Enriquecedor	21
3.1.4. Perspetiva da Agência Reguladora Nacional	22
3.1.5. Participação em Reuniões Farmacêuticas.....	22
3.2. Pontos Fracos	23
3.2.1. Duração do Estágio.....	23
3.2.2. Latência no acesso às plataformas internas do INFARMED	23
3.2.3. Ausência de contacto com outras direções do INFARMED	23
3.2.4. Ausência de contacto clínico com o utente.....	23
3.2.5. Discrepância no fluxo de funções atribuídas	24
3.3. Oportunidades.....	24
3.3.1. Contacto com a estrutura e com o <i>modus operandi</i> do INFARMED	24
3.3.2. Participação na Comemoração do 27º Aniversário do INFARMED.....	24
3.3.3. Possibilidade de realizar o Estágio na área da Indústria Farmacêutica	25
3.3.4. Desenvolvimento de competências informáticas (<i>Microsoft Office, Outlook e portal SiATS</i>).....	25
3.3.5. Aprendizagem multidisciplinar	25
3.4. Ameaças	26
3.4.1. Pressão Externa.....	26
3.4.2. Pouca autonomia no desempenho de funções e falta de conhecimentos na área farmacoeconómica.....	26
3.4.3. Finalização antecipada do estágio	26
Conclusão.....	27
Referências Bibliográficas	28
ANEXO.....	29

Parte II – Relatório de Estágio em FARMÁCIA Comunitária

Lista de Abreviaturas	33
Introdução	34
1. Farmácia Giro.....	35
2. Análise SWOT	35
2.1. Pontos Fortes.....	36

2.1.1.	Localização e horário da Farmácia.....	36
2.1.2.	Fácil integração na equipa.....	36
2.1.3.	Plano de estágio com predominância de atendimento ao público.....	36
2.1.4.	Ferramentas e soluções tecnológicas utilizadas.....	37
2.1.5.	Vasta oferta de serviços e acompanhamento farmacoterapêutico.....	37
2.2.	Pontos Fracos.....	38
2.2.1.	Ausência de formações presenciais.....	38
2.2.2.	Escassa preparação de manipulados.....	38
2.3.	Oportunidades.....	39
2.3.1.	Consolidação e aplicação de conhecimentos técnico-científicos.....	39
2.3.2.	Contacto com a realidade atual do setor.....	39
2.3.3.	Contacto com nomes comerciais de medicamentos.....	40
2.3.4.	Atendimento ao postigo no início do meu estágio.....	40
2.4.	Ameaças.....	40
2.4.1.	Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica.....	40
2.4.2.	Medicamentos esgotados e alterações de preços.....	41
2.4.3.	Pandemia de COVID-19.....	41
3.	Casos Clínicos.....	42
3.1.	Caso A – MSRM + MNSRM.....	42
3.2.	Caso B – MNSRM.....	42
	Conclusão.....	44
	Referências Bibliográficas.....	45

Parte III – Monografia

	List of Abbreviations.....	49
	Introduction.....	50
1.	Tuberculosis: epidemiological analysis in Portugal and worldwide.....	51
1.1.	History of Tuberculosis – Worldwide.....	52
1.2.	History of Tuberculosis - the case of Portugal.....	53
2.	Tuberculosis: transmission, pathogenesis, and life cycle.....	55
2.1.	Transmission and Pathogenesis.....	55
2.2.	Simplified description of the <i>M. tuberculosis</i> life cycle.....	56
3.	Morphology and physiology.....	57
3.1.	Morphology and physiology of <i>M. tuberculosis</i>	57
3.2.	Physiology and anatomy of the lung.....	58
4.	Diagnosis and prevention.....	60
4.1.	Methods of diagnosis.....	60
4.1.1.	Microscopic Tests.....	61
4.1.2.	Culture and species identification.....	61
4.1.3.	Drug-Susceptibility Testing.....	61
4.1.4.	Molecular Testing.....	61
4.1.5.	Testing for latent TB infection persons.....	62
4.2.	Preventive treatments.....	62
4.3.	TBXpert Project.....	63
5.	Drugs used to treat tuberculosis.....	64

5.1. First-line drugs	65
5.2. Second-line drugs	66
6. Characterization of multidrug-resistant tuberculosis and types of treatment	70
7. Discovery and optimization of new active compounds against multidrug-resistant <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	71
7.1. Strategies that target the peptidoglycan structure against TB	72
7.2. Potential of β -lactams for treating MDR-TB.....	73
7.3. Carbapenems against <i>M. tuberculosis</i>	75
Conclusion.....	77
Bibliography	78

Resumo

Este documento é parte integrante da unidade curricular “Estágio”, do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. O documento é constituído por três partes: dois relatórios referentes à realização dos estágios curriculares e uma monografia intitulada "*Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency. Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches*".

PRIMEIRA PARTE

Primeiramente, é apresentado o relatório do estágio que realizei na Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde do INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., em Lisboa, com início a 6 de janeiro e término a 11 de março de 2020, sob orientação da Dra. Cláudia Furtado.

SEGUNDA PARTE

De seguida, é apresentado o relatório do estágio realizado na Farmácia Giro, na Vagueira, com início a 11 de maio e término a 1 de setembro de 2020, sob orientação do Dr. José Giro.

Ambos os relatórios são apresentados sob a forma de uma análise SWOT (Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças), de acordo com as orientações emanadas pela Faculdade.

TERCEIRA PARTE

Este documento inclui ainda uma monografia, realizada sob orientação da Professora Doutora Maria Manuel Silva, intitulada "*Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency. Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches*".

A Tuberculose (TB) é causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que é transmitido quando pessoas infetadas expõem a bactéria para o ar. Normalmente, os pulmões são afetados, mas, por vezes, outros órgãos são igualmente danificados. Em 2018 (dados mais recentes

disponibilizados até à data), 1,5 milhões de pessoas com TB morreram, sendo que a taxa de incidência da doença tem sido constante ao longo dos últimos anos.

Nos dias de hoje, os maiores desafios relacionados com a TB são a coinfeção com VIH/SIDA, a resistência a medicamentos para o tratamento da doença, assim como a necessidade de inovações no seu combate e de melhorias na logística dos serviços de saúde, que permitam uma melhor operacionalização do seu diagnóstico e tratamento.

Na minha monografia irei primeiramente apresentar uma análise epidemiológica da TB, seguindo-se uma descrição do estado de arte da terapêutica que atualmente é usada no tratamento da Tuberculose Multirresistente, assim como de alternativas promissoras que estão a ser estudadas.

Palavras-chave: Tuberculose, Multirresistência, *Mycobacterium tuberculosis*, novas substâncias ativas, VIH/SIDA, COVID-19

Abstract

This document is part of the curricular unit “Traineeship” of the Integrated Master’s degree in Pharmaceutical Sciences of the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra. The document has three parts: the first two parts comprise two reports relating to two supervised practice performed under the Master Program and the third includes the monograph entitled “*Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency. Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches*” (the “*Monography*”).

FIRST PART

As said above, the first part comprises the report of my internship at the Health Technology Assessment Directorate of INFARMED – National Authority of Medicines and Health Products, I.P, in Lisbon, in the period between 6th of January to the 11th of March 2020, under supervision of professor Cláudia Furtado.

SECOND PART

The second part includes a report on the internship performed at Farmácia Giro, in Vagueira, from the 11th of May until the 1st of September of 2020, under the guidance of Doctor José Giro.

Both reports are structured accordingly to the SWOT analysis structure (Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats), as the guidelines adopted in the University regulations.

THIRD PART

The third part of the document corresponds on a monography, performed under supervision of Professor Maria Manuel Silva, entitled “*Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency. Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches*” (the “*Monography*”). The Monograph is mainly focused on an epidemiological analysis of Tuberculosis (TB), a disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*, a bacillus that is mainly spread when people who are

infected, expel the bacteria into the air. Usually it harms the lungs, but in some cases, it can also affect other organs.

The incidence rate of TB has been stable over the last years, and in 2018 (last report available), total of 1.5 million people died from TB. Nowadays, the biggest challenges concerning TB are: the possible association with HIV/AIDS, the drug-resistant TB and the need for innovations to fight against TB, and also improvements in the logistics of health services, allowing a better operationalization of the diagnosis and treatment of the disease.

This monograph starts with an epidemiological analysis of TB. Based on such analysis it proceeds with the description of the state-of-the-art of the current therapeutic used against MDR-TB, as well as promising alternatives currently being studied.

Keywords: Tuberculosis, Multidrug-resistant, *Mycobacterium tuberculosis*, new compounds active, HIV/AIDS, COVID-19.

PARTE I

Relatório de Estágio no INFARMED, I.P.

**Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde
(DATS)**



Sob orientação da Dra. Cláudia Furtado.

"The only limit to our realization of tomorrow will be our doubts of today."

Franklin D. Roosevelt

Lista de Abreviaturas

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

ATS – Avaliação de Tecnologias de Saúde

AUE – Autorização de Utilização Excepcional

CATS – Comissão de Avaliação das Tecnologias de Saúde

CE-CATS – Comissão Executiva da CATS

COVID-19 – Doença de Coronavírus 2019

DATS – Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde

GAE – Grupo de Avaliação de Evidência

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

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

RAFT – Relatório de Avaliação Farmacoterapêutica

SiATS – Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde

SiNATS – Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

VTA – Valor Terapêutico Acrescentado

Introdução

Os estudantes do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) têm a possibilidade de realizar um estágio curricular extraordinário numa área da atividade farmacêutica, adicionalmente ao estágio obrigatório em Farmácia Comunitária, conforme salvaguardado na Diretiva Europeia para o ensino das Ciências Farmacêuticas. ⁽¹⁾ Uma das possibilidades que nos é dada, é a de realizarmos o nosso estágio numa das direções da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde - INFARMED, I.P, doravante designada por INFARMED; de entre as que têm disponibilidade para acolher estagiários, como é o caso da Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde (DATS), da Direção de Avaliação do Medicamento e da Direção de Gestão do Risco de Medicamentos. Ao longo dos anos, o INFARMED tem-se afirmado com um organismo de excelência de entre as agências regulamentares dos países congéneres, tendo ainda pela frente a solidificação e afirmação do Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde (SiNATS), programa que pretende instaurar uma nova realidade para o setor do medicamento no nosso país. ⁽²⁾

Optei por realizar o meu estágio na DATS, de forma a contactar com o programa mencionado, e acima de tudo, com o intuito de adquirir competências em Avaliação de Tecnologias de Saúde (ATS), uma vez que é uma área que tem vindo a apresentar avanços significativos ao longo dos últimos anos. Para além disso, considero que o plano curricular do MICF apenas me permitiu contactar de forma muito breve com a área da farmacoeconomia, quando em comparação com as abordagens mais exaustivas das áreas dos assuntos regulamentares e da farmacovigilância. Posto isto, vi na DATS a oportunidade de explorar uma área do saber para a qual os conhecimentos prévios eram escassos, resultando num verdadeiro desafio que me obrigou a sair ainda mais da zona de conforto.

O estágio na DATS decorreu nas instalações do INFARMED, no Parque da Saúde de Lisboa, no período decorrido entre o dia 6 de janeiro e o dia 11 de março de 2020, sob orientação da Dra. Cláudia Furtado e a colaboração de toda a equipa da DATS. O relatório apresentado foi elaborado no formato de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) consistindo, portanto, na identificação dos pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças sentidos ao longo do estágio. Por último, na conclusão apresentada, procuro fazer um comentário global relativamente à experiência que tive, contrabalançando os prós e os contras com que me deparei.

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

O INFARMED é um instituto público, criado em 1993, integrado na administração indireta do Estado, possuindo autonomia administrativa, financeira e património próprio. A missão do INFARMED consiste na regulação e supervisão dos medicamentos, dispositivos médicos e produtos cosméticos, de acordo com os mais elevados padrões de proteção da Saúde Pública, assim como garantir a sua qualidade, eficácia e segurança no acesso, quer pelos profissionais de saúde, quer pelos cidadãos. As áreas de atuação do INFARMED encontram-se salvaguardadas no Decreto-Lei nº97/2015, de 1 de junho, incluindo a monitorização do mercado, a inspeção, controlo de qualidade, vigilância, supervisão, e culminando na avaliação técnico-científica, económica e na comprovação de qualidade. ^(2,3) O INFARMED, cuja sede se encontra no Parque da Saúde de Lisboa, é constituído por 5 órgãos e 12 unidades orgânicas, sendo que 8 são responsáveis por funções de negócio e 4 por funções de suporte, tal como se encontra explicitado no organograma apresentado (Figura I). ⁽⁴⁾

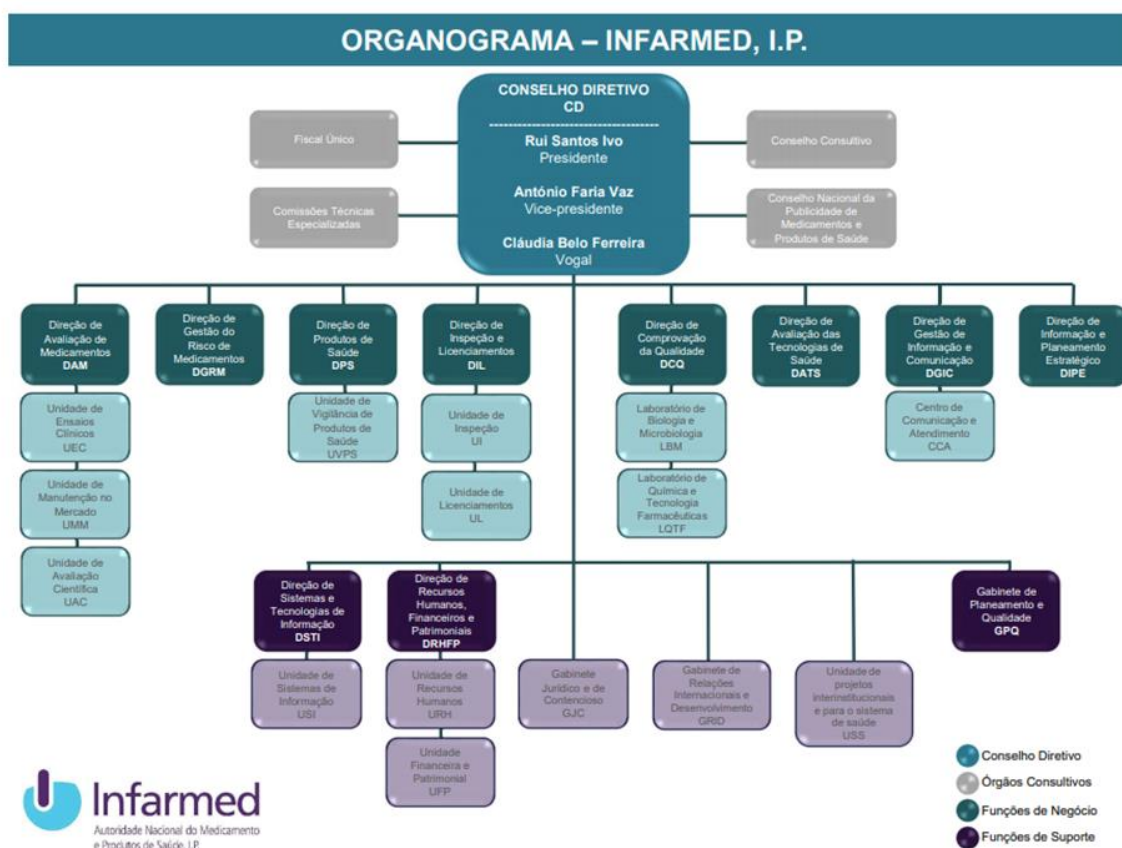


Figura I – Organograma do INFARMED, IP. ⁽⁴⁾

2. Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde (DATS)

O meu estágio decorreu na DATS, sendo esta a direção do INFARMED responsável pela realização de estudos de avaliação económica e farmacoterapêutica de Tecnologias de Saúde. Esta unidade orgânica é dirigida pela Professora Cláudia Furtado, incluindo igualmente um conjunto de profissionais especialistas, quer na área farmacêutica, quer na área económica. A DATS tem ao seu encargo, de entre muitas outras funções, a recolha de informação dos hospitais, a avaliação custo-efetiva de medicamentos, cosméticos e dispositivos médicos e a reavaliação de Tecnologias de Saúde já existentes no mercado. ⁽³⁾

O Decreto-Lei nº97/2015, de 1 de junho, procede à criação do Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde, doravante designado por SiNATS, abrangendo o conjunto de entidades que executam a avaliação das tecnologias e respetiva utilização. A gestão do SiNATS é da responsabilidade do INFARMED, sendo apoiada pela Comissão de Avaliação das Tecnologias de Saúde (CATS), que é constituída por um grupo de peritos nas diversas áreas das tecnologias de saúde responsáveis pela sua avaliação. No nosso país, a ATS foi introduzida como ferramenta de análise prévia dos processos de comparticipação de medicamentos ou de avaliação prévia, para que os hospitais do SNS possam adquirir essas mesmas tecnologias. Como consequência da implementação do SiNATS em Portugal, foi ainda desenvolvido um Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde, doravante abreviado por SiATS. ⁽²⁾

Através da criação do SiNATS, procura-se assim, uma maximização dos ganhos em saúde, através de um uso mais eficiente dos recursos públicos, de forma a contribuir para a garantia de sustentabilidade do SNS. Com a criação deste Sistema, foi introduzida a avaliação de Dispositivos Médicos e iniciou-se uma aproximação à *European Network for Health Technology Assessment* (EUnetHTA), que procura proceder a uma uniformização de procedimentos, assim como efetuar uma avaliação conjunta das tecnologias de saúde. ⁽²⁾

O INFARMED encontra-se ainda representando no *Medicines Evaluation Committee* (MEDEV), no *Pharmaceutical Pricing & Reimbursement Information* (PPRI) e em vários outros grupos internacionais, com o intuito de proceder quer a discussões políticas de financiamento, quer a harmonizações nas avaliações farmacoterapêuticas, de preços e de reembolsos de Tecnologias de Saúde. ⁽³⁾

3. Análise SWOT

Através da análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) a seguir apresentada, pretendo identificar os pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças sentidas no decurso do meu estágio na DATS. Os pontos fortes e fracos pretendem refletir fatores internos à instituição que constituíram vantagens ou desvantagens, para o sucesso do meu estágio. Por outro lado, as oportunidades e ameaças, enquadram-se numa perspetiva externa, procurando realçar aspetos positivos e negativos que não estão diretamente sob a influência da instituição.

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Relevância das funções desempenhadas

a) Negociações entre INFARMED e titulares de AIM

Com a criação do SiNATS, os contratos, que podem ser de comparticipação ou de avaliação prévia da tecnologia de saúde, procuram assegurar um funcionamento eficiente e concertado do nosso sistema público de saúde. ⁽²⁾ Foi-me dada a possibilidade de assistir à fase de negociação entre o INFARMED e o titular da AIM, que culmina na celebração do contrato, onde se definem as condições de uso e as indicações terapêuticas para as quais as tecnologias de saúde podem ser utilizadas.

b) Redação de Relatórios Públicos de ATS

No decurso do meu estágio foi-me ainda atribuída a função de auxiliar na redação de relatórios públicos de Avaliação de Tecnologias de Saúde, através dos quais se comunica publicamente a decisão e as principais conclusões sobre os pedidos de financiamento. A ATS constitui um processo multidisciplinar, visto que engloba informação do foro terapêutico, económico, social e ético. A ATS é centrada no doente, tendo sempre como base o estado de arte da evidência científica e procurando dar cumprimento às Políticas de Saúde que vigorem em cada momento, com a devida autonomia de atuação.

A redação destes relatórios exigiu uma ampla pesquisa bibliográfica, com o intuito de adquirir o máximo de conhecimentos das áreas terapêuticas que me foram sendo alocadas, possibilitando-me analisar de forma criteriosa, a informação já compilada no Relatório da

Comissão Executiva da CATS. Uma vez que o trabalho desenvolvido na DATS exige um espírito crítico constante, foi-me possibilitado questionar e ver respondidas todas as dúvidas com que me fui deparando, quer do ponto de vista farmacoterapêutico, quer a nível da avaliação económica.

c) Monitorização de Contratos

A monitorização dos contratos consiste na regulação de um conjunto de fatores, com destaque para a definição de uma unidade de referência; de um preço máximo adequado a cada tecnologia; de um montante máximo de encargos a suportar pelo Estado Português, assim como das consequências de ultrapassagem dos montantes de encargos previamente acordados. ⁽²⁾ Durante o período de estágio, foi-me dada a oportunidade de colaborar na monitorização de diversos contratos de tecnologias de saúde, tanto de participação, como de avaliação prévia. As responsabilidades que me foram atribuídas ao nível da monitorização de contratos constituem um ponto forte do meu estágio, uma vez que pude adquirir novas aptidões, tanto na área da farmacoeconomia, como melhorar o meu domínio da legislação farmacêutica.

3.1.2. Coesão e Competência da Equipa da DATS

Na DATS contactei com uma equipa de farmacêuticos e economistas que desenvolvem o seu trabalho com elevado sentido de responsabilidade e dedicação. Pude aperceber-me que existe uma boa interligação no trabalho desenvolvido por estes profissionais, facto essencial para que todos possam desempenhar devidamente as suas funções. Considero que o bom ambiente e disponibilidade constante da equipa para esclarecer as dúvidas com que me fui deparando, contribuiu de forma muito positiva para o enriquecimento do meu estágio.

3.1.3. Plano de Integração Enriquecedor

No decorrer do meu primeiro mês de estágio, fui incluído num programa de integração, quer de natureza transversal quer específica, à natureza das funções que viria a desempenhar na DATS. O plano de integração foi dividido em várias áreas temáticas, focadas no Sistema Integrado de Gestão da Qualidade, na exploração dos Aspetos Organizacionais da Estrutura,

na Avaliação Farmacoterapêutica e Económica de Tecnologias de Saúde, assim como em Preços e Contratos. Destaco as formações na área da avaliação farmacoterapêutica de medicamentos genéricos e não genéricos de uso hospitalar e ambulatório, dada a maior proximidade em relação às Ciências Farmacêuticas. Por um lado, a avaliação de medicamentos genéricos é mais simples, em comparação com a avaliação de medicamentos inovadores, que estão muitas vezes associados ao preenchimento de lacunas terapêuticas.

Nestes últimos casos, é necessário verificar a existência de Valor Terapêutico Acrescentado (VTA) face aos comparadores utilizados, procedendo-se à criação de um Grupo de Avaliação de Evidência (GAE). O GAE é responsável por redigir um Relatório de Avaliação Farmacoterapêutica (RAFT). A discussão do RAFT ocorre em seio de Comissão Executiva da CATS (CE-CATS), responsável pela emissão de um parecer, que prevalece em relação ao RAFT do GAE. ^(2,3)

Considero que a realização deste plano de integração permitiu a minha inclusão de forma gradual na equipa da DATS, sendo que as temáticas definidas se manifestaram enriquecedoras, possibilitando a aquisição de novos conhecimentos, significativamente relevantes para o meu futuro profissional.

3.1.4. Perspetiva da Agência Reguladora Nacional

A possibilidade de estagiar no INFARMED e, mais concretamente, na DATS, permitiu-me perceber a visão da Agência Reguladora Portuguesa, enquanto peça fundamental na cadeia do medicamento. A meu ver, adquirir esta perspetiva revelou-se um dos pontos fortes do meu estágio, podendo constituir uma vantagem competitiva no futuro, caso venha a ingressar numa Indústria Farmacêutica a nível profissional, particularmente nas áreas de *Regulatory Affairs* e de *Market Access*.

3.1.5. Participação em Reuniões Farmacêuticas

Foi-me concedida a possibilidade de participar regularmente nas reuniões farmacêuticas, dinamizadas semanalmente, contando com a presença de todos os farmacêuticos que desempenham funções na DATS, com o objetivo de harmonizar os procedimentos de avaliação farmacoterapêutica e de discutir os processos de maior complexidade. Considero que estas participações foram uma oportunidade do meu estágio no INFARMED, visto que a

natureza e tipologia de muitos dos assuntos que foram discutidos se revelaram uma mais valia para o desenvolvimento das minhas competências na DATS.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Duração do Estágio

Tendo em conta a complexidade e a responsabilidade das funções desempenhadas pela DATS, considero que o facto deste estágio ter uma duração de apenas três meses é um dos aspetos mais negativos da minha experiência.

No início do estágio foi-me apresentado um plano de integração cuja duração foi de um mês, de forma a que a minha inclusão na DATS fosse o mais completa possível. Desta forma, apenas comecei a dispor de maior autonomia de trabalho no segundo mês de estágio. Assim, considero que se a duração desta experiência fosse superior, poderia ter desempenhado autonomamente um maior número de funções.

3.2.2. Latência no acesso às plataformas internas do INFARMED

Uma vez que a carga de trabalho dos serviços informáticos do INFARMED é muito elevada, verificou-se uma latência de alguns dias até que me tenha sido dado o acesso a todas as plataformas internas com que trabalhei.

3.2.3. Ausência de contacto com outras direções do INFARMED

O facto de não ser dada a oportunidade aos estagiários para contactarem de perto com outras direções do INFARMED revela-se um ponto fraco do estágio, já que desta forma não consegui obter uma visão transversal desta estrutura, assim como adquirir o conhecimento do papel do farmacêutico nas restantes direções desta organização.

3.2.4. Ausência de contacto clínico com o utente

Ao longo do meu estágio no INFARMED não dispus da oportunidade de contactar diretamente com utentes, apesar de ter sempre presente que o trabalho desenvolvido diariamente por esta entidade é direcionado para a população. Considero que o MICF nos prepara para um futuro profissional em que existirá um contacto clínico direto com o utente

e lamento o facto de no INFARMED essa não ser uma realidade, não obstante de compreender os motivos de isso não ser possível.

3.2.5. Discrepância no fluxo de funções atribuídas

Considero que um ponto fraco do meu estágio resultou da discrepância no fluxo de trabalho que me foi atribuído no decurso do mesmo. Se por um lado houve dias em que me foram atribuídas funções por mais do que um colaborador, obrigando-me a uma maior organização e gestão de tempo, por outro lado, tive dias em que a carga de trabalho era reduzida, dificultando a minha consolidação de conhecimentos e constituindo um desperdício de recursos por parte da DATS.

Todavia, compreendo a dificuldade existente em conciliar a presença de estagiários que necessitam de uma maior contextualização antes de realizar a maioria das funções, numa direção onde os colaboradores estão constantemente sujeitos a prazos que têm de ser cumpridos.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Contacto com a estrutura e com o *modus operandi* do INFARMED

Através da realização do estágio curricular no INFARMED, tive a possibilidade de vivenciar parte do trabalho que efetivamente é desempenhado por esta Agência Reguladora. O contacto com a estrutura interna do INFARMED e, indiretamente, com algumas das entidades externas parceiras, quer nacionais quer internacionais, revelou-se extremamente enriquecedor, contribuindo para maximizar os meus conhecimentos técnico-científicos na área regulamentar.

3.3.2. Participação na Comemoração do 27º Aniversário do INFARMED

No dia 15 de janeiro de 2020 fui convidado a comparecer na comemoração do 27º aniversário do INFARMED, subordinada ao tema “Medicina de Precisão: que desafios?”, constituindo uma oportunidade para contactar com outras realidades da estrutura e para adquirir conhecimentos polivalentes a diferentes áreas da saúde.

3.3.3. Possibilidade de realizar o Estágio Curricular na área da Indústria Farmacêutica

Considero que o facto de nos ser dada a possibilidade de realizar um dos nossos estágios curriculares na área da Indústria Farmacêutica (incluindo aqui as Agências Reguladoras) constitui uma oportunidade de primeiro contacto com este setor, fazendo todo o sentido, uma vez que pode vir a ser uma opção profissional.

3.3.4. Desenvolvimento de competências informáticas (*Microsoft Office, Outlook e portal SiATS*)

Ao longo do meu estágio recorri diariamente ao portal SiATS, que integra a submissão de pedidos de preço, de comparticipação e de avaliação prévia de medicamentos, a gestão dos processos de cessação de comercialização e de ruturas de *stock* de medicamentos, assim como a funcionalidade de submissão de pedidos de Autorizações de Utilização Excecional (AUE) de medicamentos. ⁽²⁾ Dada a importância que esta plataforma constitui para a própria sustentabilidade do SiNATS, a possibilidade de trabalhar no SiATS revelou-se uma oportunidade.

Por outro lado, pude desenvolver competências ao nível do *Microsoft Word*[®] e *Microsoft Excel*[®], dada a complexidade de funções utilizadas em cada um destes *softwares*. Para além disso, recebi formação de forma a adotar boas práticas de utilização do *e-mail*, sendo que no INFARMED se recorre ao *Outlook*[®]. Não sendo este o *software* que utilizo habitualmente, tive a oportunidade de desenvolver novas aptidões neste âmbito.

3.3.5. Aprendizagem multidisciplinar

A minha passagem pela DATS permitiu-me consolidar e adquirir novos conhecimentos de inglês técnico-científico, de índole farmacoterapêutica e ainda nas áreas da economia e do direito farmacêutico. O *background* proporcionado pelas unidades curriculares de Assuntos Regulamentares do Medicamento, de Deontologia Farmacêutica, de Comunicação e *Marketing* Farmacêutico e de Farmácia Hospitalar, revelou-se particularmente útil para as funções que tive de desempenhar. Considero que a possibilidade de pôr em prática todos estes conhecimentos constituiu uma oportunidade para a minha formação pessoal e profissional.

3.4. Ameaças

3.4.1. Pressão Externa

Uma vez que a avaliação e decisão de financiamento de medicamentos e dispositivos médicos está associada a muita responsabilidade, a DATS é alvo de muita pressão externa por parte dos *stakeholders* da Indústria Farmacêutica, visando o cumprimento de prazos e metas rigorosas que tenham sido acordados. Exemplos disso são a necessidade de rapidez na atribuição de AUE de medicamentos e a necessidade de resolver de forma célere os diversos processos que envolvem a Indústria Farmacêutica. Posto isto, qualquer colaborador da DATS está exposto a uma pressão constante, devido à necessidade de cumprir prazos e de resolver de forma célere e eficiente todos os problemas com os quais se depara.

3.4.2. Pouca autonomia no desempenho de funções e falta de conhecimentos na área farmacoeconómica

Muitas das funções desempenhadas exigiram formação e contextualização aprofundada, devido à sua natureza complexa e à minha falta de conhecimento prévio na área económica. Deste modo, e tendo em conta a curta duração do estágio, não me foi possível desempenhar autonomamente parte das responsabilidades que me foram atribuídas e, como tal, houve a necessidade de pedir auxílio constante aos profissionais da DATS.

3.4.3. Finalização antecipada do estágio

Como medida de prevenção face à pandemia provocada pela COVID-19, o INFARMED decretou a antecipação da data final do meu estágio na DATS. Apesar de ser uma medida que diminuiu a duração do estágio, e, por conseguinte, o meu período de aprendizagem, considero que esta decisão procurou zelar pela Saúde Pública de todos nós e, nesse sentido, revelou-se uma decisão inevitável, mas ponderada.

Conclusão

A possibilidade de realizar o meu estágio curricular no INFARMED permitiu-me, primeiramente, compreender a importância que os processos desempenhados por esta estrutura apresentam na procura da garantia de sustentabilidade do SNS. Considero que fui bem recebido e que o plano de integração que me foi, desde logo, apresentado possibilitou-me uma aprendizagem transversal às áreas da avaliação farmacoterapêutica e farmacoeconómica. Pude, fundamentalmente, obter novas competências técnicas nestas duas áreas e contactar com a área regulamentar do medicamento, em território nacional e internacional. Para além disso, considero que adquiri capacitação profissional, devido à coesão da equipa com que tive oportunidade de trabalhar diariamente.

Conforme mencionei na análise SWOT apresentada, a minha passagem pela DATS permitiu-me ainda consolidar e adquirir novos conhecimentos informáticos, de inglês técnico-científico, contactar, pela primeira vez, com a área económica do medicamento e aprofundar conhecimentos de direito farmacêutico. Deste modo, a possibilidade de colocar em prática todos estes conhecimentos constituiu igualmente uma oportunidade para complementar a minha formação académica.

No entanto, como em qualquer experiência, há pontos fracos e ameaças a considerar. Dada a elevada carga de trabalho dos serviços informáticos do INFARMED, verificou-se um atraso de alguns dias até que me tenha sido dado o acesso a todas as plataformas internas em que viria a desempenhar funções. É de salientar que muitas das funções que desempenhei ao longo destes três meses exigiram formação e contextualização aprofundada, devido à sua natureza complexa. Considero que se a duração deste estágio fosse superior teria tido a possibilidade de desempenhar um maior número de funções autonomamente.

Apesar das lacunas mencionadas, faço um balanço francamente positivo do meu estágio, sendo que considero, aliás, que muitos dos obstáculos que tive de superar, contribuíram significativamente para fortalecer a minha capacidade de resiliência e de gestão de conflitos que, certamente, serão essenciais ao longo do meu futuro profissional. A realização do meu estágio curricular na DATS, constituiu, assim, uma oportunidade de crescimento e enriquecimento, quer pessoal quer profissional, resultando numa vantagem competitiva para o meu futuro no setor farmacêutico.

Referências Bibliográficas

1. Parlamento Europeu. – **Diretiva relativa ao reconhecimento das qualificações profissionais** (2013/55/UE). Jornal Oficial da União Europeia; (2013). [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível na internet: <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:354:0132:0170:PT:PDF>
2. Ministério da Saúde. – **Decreto-Lei n.º 97/2015**. [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível na internet: <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/97/2015/06/01/p/dre/pt/html>
3. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde. – **Avaliação de Tecnologias de Saúde**. [Acedido a 12 de maio de 2020]. Disponível na internet: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/avaliacao-tecnologias-de-saude>
4. Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde. – **Organograma - Infarmed, I.P.** (2020). [Acedido a 15 de maio de 2020]. Disponível na internet: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1269448/Organograma+2020/c8343cd0-df7f-490c-84ef-15db7d43dfc2>

ANEXO

Tabela I – Plano de Integração na DATS

Plano de Integração Registo da formação inicial - Transversal à direção e Específica da função (<i>on-job</i>)			
Nome: Rodrigo Dias de Almeida		Função a desenvolver:	Estagiário - Farmacêutico
Início de funções: 06/01/2020		Duração da formação:	3 meses
Responsável pelo acompanhamento: Beatriz Macedo			
Formação transversal Natureza transversal - <i>aplica-se a todos os trabalhadores que ingressem na DATS</i>			
Tema	Agendamento		Registo da formação
	Formador	Data/hora prevista	Data efetiva/ rubrica
DATS			
<ul style="list-style-type: none"> • Competências • Distribuição da equipa (<i>matriz de competências/organoograma</i>)	Cláudia Furtado	06/01/2020	
SIGQ - Sistema Integrado de Gestão da Qualidade			
<ul style="list-style-type: none"> • Política da Qualidade do Infarmed • Plataforma SIGQ • Registos ◦ Ações/Reclamações/Não conformidades ◦ Reclamações ◦ Não conformidades 	Beatriz Macedo	07/01/2020	
Aspetos organizacionais			
<ul style="list-style-type: none"> • Organização das pastas de rede • Organização dos proxies • Organização das bases de dados • Sisqual/pedidos de economato/easyvista 	Beatriz Macedo	08/01/2020	
Processos			
Avaliação farmacoterapêutica			
Medicamentos genéricos (ambulatório e hospitalar)	Sofia Gomes	09 e 10/01/2020 (teórica e prática)	
Medicamentos não genéricos (ambulatório e hospitalar)	Sara Couto	13 e 14/01/2020 (teórica e Prática)	
Preços			
Formação de Preços (genéricos e não genéricos) Revisão Anual de Preços (ambulatório e hospitalar)	Georgina Jesus /Fernanda Ferrador	15/01/2020	

Avaliação económica			
Medicamentos genéricos (ambulatório e hospitalar)	Alexandra Ribeiro (Gen Amb) Georgina Jesus (Gen Hosp)	16/01/2020	
Medicamentos não genéricos (ambulatório e hospitalar)	Maria do Céu Teixeira (Não Genéricos)	17/01/2020	
Contratos			
Elaboração / Monitorização	João Domingos	20/01/2020	
SPR - Sistema de Preços de Referência			
Dispositivos médicos			
Avaliação de contexto tecnológico (ambulatório e hospitalar)	Helena Monteiro	21/01/2020	
Avaliação clínica (ambulatório e hospitalar)			
Avaliação económica (ambulatório e hospitalar)			
Grupos de Trabalho (Eunetha / Medev / PPRI)	Sara Couto	22/01/2020	
Formação específica			
Natureza específica da função (<i>on-job</i>)			
Tema	Agendamento		Registo da formação
	Formador	Data/hora prevista	Data efetiva/ rubrica
Processos de Participação de Medicamentos Genéricos	Sofia Gomes		
Processos de Participação e Avaliação prévia de Medicamentos não genéricos	Sara Couto		
Pedidos de AUE	Margarida Oliveira		
Transferências e exclusões	Inês Costa		

Avaliação da eficácia da formação			
Selecionar uma cruz (x) no campo correspondente			
Componentes a avaliar	Insuficiente	Suficiente	Excede as expectativas
• Adequabilidade deste plano de formação na integração de novos elementos (<i>avaliação a efetuar pelo</i>			
• Adequabilidade deste plano de formação na integração de novos elementos (<i>avaliação a efetuar pelo</i>			
• Integração do colaborador na atividade da Direção (<i>avaliação a efetuar pelo diretor</i>)			
• Sugestões de melhoria (colaborador e/ou diretor)			
Avaliador (data e assinatura): _____			
Avaliado (data e assinatura): _____			

Parte II

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Giro



Sob orientação do Doutor José Giro e com a colaboração de toda a equipa da Farmácia Giro.

“O papel do farmacêutico no mundo é tão nobre quão vital.”

Monteiro Lobato

Lista de Abreviaturas

COVID-19 – Doença de Coronavírus 2019

DCI – Denominação Comum Internacional

ERASMUS – *European Region Action Scheme for the Mobility of University Students* (Plano de Ação da Comunidade Europeia para a Mobilidade de Estudantes Universitários)

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FG – Farmácia Giro

IF – Indicação Farmacêutica

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

RAM – Reação Adversa ao Medicamento

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) dá cumprimento à Diretiva do Parlamento Europeu de 20 de novembro de 2013, que exige a realização de “seis meses de estágio em farmácia aberta ao público...”. De acordo com esta diretiva, o Farmacêutico é definido com um agente de Saúde Pública, procurando a formação proporcionada pelo MICF habilitar o Mestre em Ciências Farmacêuticas para o desempenho de todas as atividades integrantes do Ato Farmacêutico. ⁽¹⁾

O Estatuto do Medicamento afirma que, aliando a teoria à prática, o MICF se torna mais completo, formando profissionais aptos a desempenhar o seu papel na sociedade e a dar cumprimento ao foco essencial da atividade farmacêutica: “o cidadão em geral e o doente em particular”. ⁽²⁾

O presente relatório reporta-se ao estágio na Farmácia Giro (FG), localizada na praia da Vagueira, em Aveiro, tendo decorrido entre os meses de maio e setembro de 2020, sob orientação do Dr. José Giro e a colaboração de toda a equipa. O facto de previamente ter realizado um estágio de verão nesta farmácia influenciou a escolha deste local para realizar o meu estágio curricular.

Considero que o plano curricular do MICF não nos capacita totalmente para a prática de acompanhamento farmacoterapêutico, sendo imprescindível a realização de uma componente prática que complemente os conhecimentos teóricos adquiridos previamente. Já tendo tido a oportunidade de, no decorrer do MICF, estagiar em mais duas farmácias, apercebi-me que a FG se destaca pela forma próxima e constante com que realiza esse acompanhamento junto dos seus utentes. Para além disso, o facto de estar localizada num meio relativamente pequeno, permite uma maior proximidade e receptividade por parte da população local perante a intervenção do farmacêutico. Posto isto, vi neste local a oportunidade de explorar uma área do saber para a qual os conhecimentos prévios eram escassos, resultando num verdadeiro desafio que me obrigou a sair ainda mais da zona de conforto.

O relatório apresentado foi elaborado no formato de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), consistindo, portanto, na identificação dos pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças que senti ao longo do meu estágio. Por último, na conclusão apresentada, procuro fazer um comentário global relativamente à experiência que tive, contrabalançando os prós e os contras com que me fui deparando.

I. Farmácia Giro

A FG abriu ao público a 21 de maio de 1992, tendo assinalado, em 2020, os seus 28 anos de existência. É propriedade do Doutor José Giro, que simultaneamente é o seu Diretor Técnico. A FG está localizada na Rua do Parque de Campismo, na Gafanha da Boa Hora, uma freguesia com cerca de 3000 habitantes situada no concelho de Vagos. Uma vez que está inserida num meio rural, sendo a única farmácia da localidade, verifica-se uma grande proximidade às comunidades locais. O horário da FG engloba o período das 9h às 21h, em dias úteis, e das 9h às 20h aos fins de semana e feriados. No início da pandemia provocada pela Doença de Coronavírus 2019 (COVID-19), este horário foi adaptado e a equipa organizada por turnos, tendo-me sido atribuído o turno da tarde.

Realizei o meu estágio no decorrer do verão de 2020, pelo que, para além dos habituais utentes da FG, pude contactar com turistas e emigrantes, provenientes de diversos países e continentes, que frequentam esta farmácia neste período do ano. No decorrer do meu período de estágio, a equipa técnica era constituída por oito elementos: o diretor técnico da FG, 4 farmacêuticas, 2 técnicos de farmácia e uma auxiliar.

A FG oferece um serviço diferenciado, incluindo: a prestação de serviços a lares; uma vasta oferta de produtos de ortopedia; consultas de podologia, de enfermagem e de nutrição; a medição de parâmetros bioquímicos e um acompanhamento farmacoterapêutico personalizado. Para além disso, a FG procura conservar a sua grande proximidade à comunidade local, através do apoio de diversas causas sociais e da organização de atividades de âmbito cultural, desde exposições artísticas, à dinamização de caminhadas e de outros convívios.

2. Análise SWOT

Através da análise SWOT a seguir apresentada, pretendo identificar os pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças com os quais me deparei na FG. De um ponto de vista interno, os pontos fortes e fracos pretendem refletir fatores intrínsecos à instituição que constituíram vantagens ou desvantagens, para o sucesso do meu estágio. Por outro lado, as oportunidades e ameaças, enquadram-se numa perspetiva externa, procurando realçar aspetos positivos e negativos que não estão diretamente sob a influência da instituição.

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Localização e horário da Farmácia

A FG encontra-se situada na Gafanha da Boa Hora, uma aldeia piscatória onde predomina a Arte Xávega, localizada fora de centros urbanos, permitindo a existência de um elevado número de utentes fidelizados provenientes quer da comunidade local, quer de outras freguesias e concelhos do distrito de Aveiro. Uma vez que realizei o meu estágio entre maio e setembro de 2020, verificou-se um acréscimo no número habitual de utentes, devido aos veraneantes que visitam a praia da Vagueira nesta altura do ano.

Ainda que tenha desempenhado essencialmente o turno da tarde, o horário da FG engloba o período das 9h às 21h, em dias úteis, e das 9h às 20h aos fins de semana e feriados. Este horário permitiu-me estagiar em diferentes períodos do dia, alternando entre a abertura e o fecho da FG, tendo ainda a oportunidade de estagiar aos fins de semana e em feriados. Desta forma, foi possível deparar-me com diferentes fluxos de utentes e situações que exigiram adaptabilidade e flexibilidade da minha parte.

2.1.2. Fácil integração na equipa

Na escolha do meu local de estágio, tive sempre em mente que o ambiente da equipa de trabalho seria crucial para facilitar o desenvolvimento da minha aprendizagem. Ter realizado previamente um estágio extracurricular na FG, deu-me a garantia de que este seria o local adequado para realizar o meu estágio curricular. A equipa técnica da FG constituiu um ponto forte do meu estágio, devido ao profissionalismo, disponibilidade e simpatia com que me acolheram. Considero que a equipa da FG foi essencial para a minha formação enquanto futuro profissional, contribuindo ainda para o meu enriquecimento pessoal, pela amizade e valores transmitidos.

2.1.3. Plano de estágio com predominância de atendimento ao público

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de realizar diversos tipos de tarefas, previamente definidas no meu plano de estágio, nomeadamente o atendimento ao público, que foi a tarefa que mais desempenhei. Para além disso, destaco outras funções, nas quais pude desempenhar, desde a receção de encomendas, ao seu armazenamento no *robot* e no armazém da farmácia; o auxílio prestado na organização dos lineares nas montras da FG; a possibilidade de assistir à

criação da encomenda diária da farmácia; a medição de alguns parâmetros bioquímicos e ainda o auxílio que pude prestar na preparação da medicação cedida aos lares de terceira idade com os quais a FG trabalha.

Considero que a motivação e incentivo manifestados pela equipa para que, desde cedo, realizasse os meus atendimentos autonomamente, foram preponderantes para o sucesso do meu estágio. O facto de ser o único estagiário no decorrer de todo o estágio permitiu um maior acompanhamento por parte de toda a equipa, que demonstrou ainda uma grande disponibilidade para me auxiliar nos atendimentos, particularmente nos primeiros que realizei de forma autónoma, e daí em diante, sempre que necessário. Com o decorrer do meu estágio considero que tanto a minha evolução, como a maior confiança na realização das diversas funções que desempenhei, foram significativas.

2.1.4. Ferramentas e soluções tecnológicas utilizadas

A FG recorre ao programa informático Sifarma 2000[®]. Ainda que ao longo dos diversos estágios extracurriculares realizados no decorrer do MICF tenha tido a oportunidade de contactar com este sistema, o estágio curricular na FG revelou-se essencial para a consolidação e domínio de um maior número de valências desta plataforma, que me poderão vir a ser úteis no futuro. Considero igualmente que a existência de um *robot* e de uma caixa automática (*robot* BD Rowa Smart[®] e caixa Cashlogy by Azkoyer[®]) melhoram significativamente o funcionamento logístico da FG. O *robot* possui ligação direta ao Sifarma 2000[®], facilitando tanto o armazenamento como a dispensa dos medicamentos, minimizando ainda a ocorrência de erros.

2.1.5. Vasta oferta de serviços e acompanhamento farmacoterapêutico diferenciado

A FG dispõe de diversos serviços que procuram zelar pela manutenção da saúde dos seus utentes, incluindo a determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos (colesterol total, glicémia, peso corporal, altura e pressão arterial), consultas de podologia, enfermagem e de nutrição e a administração de injetáveis.

Considero que a minha participação em alguns destes serviços foi um ponto forte, uma vez que pude aplicar, em contexto prático, conhecimentos adquiridos ao longo do MICF. Tive a possibilidade de avaliar os parâmetros obtidos e de atuar em conformidade com esses valores,

tendo em conta as patologias e a medicação utilizada por cada utente. Em diversas situações optei por recomendar medidas farmacológicas e não farmacológicas e, pontualmente, considerei necessário reencaminhar os utentes ao hospital.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Ausência de formações presenciais

A deslocação de delegados de informação médica à FG acontece com alguma frequência, por um lado, com o intuito de apresentar e promover produtos dos laboratórios com que trabalham e, por outro lado, com o objetivo de ministrar formações de forma a transmitir informações mais concretas sobre os diversos produtos, conferindo aos profissionais que trabalham na farmácia uma maior segurança e aptidão nas informações transmitidas aquando da sua venda.

No decorrer do meu estágio, a FG não recebeu formações presenciais e, por isso, considero que este facto se traduz num ponto fraco do meu estágio, uma vez que me permitiria contactar com estes profissionais, esclarecer dúvidas que pudessem surgir de uma forma mais direta e familiarizar-me com este género de iniciativas.

De forma a maximizar o meu domínio da área de Dermocosmética, tive a iniciativa de, no decurso do meu estágio, realizar um curso *online*: “Dermocosmética: Atualidade e Futuro na Saúde”, dinamizado pela LisbonPH, permitindo-me, em certa medida, colmatar a ausência de formações presenciais neste ramo.

2.2.2. Escassa preparação de manipulados

Na FG a preparação de manipulados é reduzida, uma vez que, atualmente, estes medicamentos apresentam uma expressão residual nas Farmácias Comunitárias - habitualmente, estes são adquiridos a farmácias que se dedicam especificamente a este tipo de preparações.

Considero ter sido um ponto fraco do meu estágio, uma vez que gostaria de ter tido a oportunidade de colocar em prática os conhecimentos de Farmácia Galénica um maior número de vezes.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Consolidação e aplicação de conhecimentos técnico-científicos

Considero que, com a realização do estágio curricular, tive a oportunidade de aplicar, fundamentalmente, os conhecimentos teóricos adquiridos nas disciplinas de Farmacologia, Farmacognosia, Indicação Farmacêutica, Dermocosmética, Organização e Gestão Farmacêutica, Bacteriologia, Parasitologia, *Micología y Virología Clínicas* (realizada no âmbito do programa ERASMUS) e Preparações de Uso Veterinário. Para além disso, o facto de ter escolhido a unidade curricular opcional de Avaliação Farmacoterapêutica em Cuidados Primários de Saúde traduziu-se numa vantagem na realização do meu estágio.

Considero que estas unidades curriculares contribuíram particularmente para o sucesso do meu estágio, tornando-me mais preparado para lidar com diversas situações em contexto real de trabalho.

No decorrer do meu estágio tive ainda a possibilidade de explorar áreas para as quais os meus conhecimentos prévios eram mais reduzidos, particularmente a área da Ortopedia e da Homeopatia, dada a vasta oferta de produtos oferecida pela FG. A meu ver, o contacto com estas áreas conferiu-me uma maior aptidão para o exercício das minhas funções.

2.3.2. Contacto com a realidade atual do setor

O estágio na FG permitiu-me contactar com a realidade atual da Farmácia Comunitária em Portugal, dado que tive a oportunidade de compreender a importância das diversas atividades realizadas numa farmácia, desde o atendimento, a todas as atividades de *backoffice* e da própria gestão e organização da farmácia.

Para além das funções de atendimento ao público e de receção de encomendas que tive a oportunidade de realizar, foi-me dada a possibilidade de executar devoluções e de auxiliar na gestão de produtos sem consumo, no controlo de prazos de validade e de temperaturas, na gestão de psicotrópicos e benzodiazepinas e no acerto de *stocks*.

O estágio em Farmácia Comunitária permitiu-me perceber a importância e responsabilidade do Farmacêutico Comunitário para a sociedade e vivenciar na primeira pessoa o impacto do trabalho desenvolvido em prol da sociedade.

2.3.3. Contacto com nomes comerciais de medicamentos

No decorrer do plano de estudos do MICEF são abordados diversos fármacos e respetivos grupos farmacológicos. No entanto, dada a grande quantidade de moléculas estudadas, por vezes, torna-se difícil reter e associar os nomes comerciais de cada um dos medicamentos existentes. O estágio na FG permitiu-me fazer essa associação e maximizar o meu domínio de nomes comerciais, muitas vezes essencial para realizar os atendimentos ao público com um maior rigor.

2.3.4. Atendimento ao postigo no início do meu estágio

Na altura em que iniciei o meu estágio, a FG encontrava-se a realizar o atendimento através do postigo, estando o interior da farmácia vedado aos nossos utentes. Considero que, desta forma, tive a possibilidade de colocar um maior número de dúvidas no decorrer dos atendimentos ao público, permitindo-me em, relativamente pouco tempo, iniciar os atendimentos com uma maior segurança e adquirir, de forma mais célere, conhecimento das plataformas utilizadas.

2.4. Ameaças

2.4.1. Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)

Considero que a existência de locais de venda de MNSRM constitui uma ameaça à viabilidade económica das farmácias comunitárias. No decorrer do meu estágio, esta ameaça foi visível em atendimentos que não culminaram na venda de produtos que os utentes mencionaram existir noutros locais a um preço mais acessível.

Não obstante, tive a possibilidade de constatar que a capacidade que só as farmácias comunitárias têm para esclarecer e aconselhar de acordo com os mais altos níveis de segurança e qualidade, proporcionando aos utentes toda a informação necessária sobre cada medicamento, leva muitos outros utentes a optar por estes locais na aquisição dos seus produtos.

2.4.2. Medicamentos esgotados e alterações de preços

No decurso do meu estágio deparei-me com a existência de alguns medicamentos esgotados, facto que condicionou algumas potenciais vendas que, por isso, não se efetivaram, afetando inclusivamente a relação utente-farmácia. Exemplo disso é o caso da benzodiazepina com atuação ao nível do Sistema Nervoso Central, Victan[®], substância ativa Loflazepato de Etilo, que se encontra indisponível no mercado desde o início do 2º semestre de 2020, sem previsão exata de quando será reintroduzido. Sendo a empresa Sanofi Produtos Farmacêuticos LDA. a única titular de Autorização de Introdução no Mercado desta formulação e não se verificando a existência de genéricos, qualquer alteração na medicação utilizada pelos utentes que tomam este medicamento terá de ser analisada por um médico. A impossibilidade de arranjar uma alternativa aos nossos utentes, explicando-lhes a necessidade de consultarem o seu médico, condicionou alguns atendimentos que realizei, dada a proximidade e confiança que existe entre os utentes da FG e a equipa técnica.

Na mesma linha de pensamento, também as alterações de preços condicionaram alguns atendimentos realizados, constituindo uma ameaça ao meu estágio curricular. Este facto está relacionado com o surgimento de genéricos no mercado. A partir do momento em que surgem genéricos para um dado medicamento, o preço de referência a que se recorre para o cálculo da comparticipação, passa a ser o do quinto genérico mais barato, diminuindo o valor absoluto suportado pelo Estado e aumentando o preço que o utente tem de pagar pelo medicamento original. Para muitos utentes torna-se difícil compreender todas estas alterações, facto que, em certa medida, condicionou o meu estágio curricular.

2.4.3. Pandemia de COVID-19

Iniciei o meu estágio curricular no mês de maio de 2020, o auge da pandemia provocada pela Doença de Coronavírus (COVID-19) em Portugal. Considero que a equipa técnica da FG procurou zelar sempre pelo cumprimento das normas de Saúde Pública em prol da nossa própria segurança e da comunidade local para a qual trabalhamos. Não obstante, a pandemia de COVID-19 condicionou algumas das funções desempenhadas na FG em condições normais, como pude verificar no estágio extracurricular realizado nesta farmácia no verão de 2019. Exemplo disso são as medições de parâmetros bioquímicos que se encontraram condicionadas no decorrer do meu estágio, tendo sido introduzidas progressivamente e com o total cumprimento das normas emanadas pela Direção Geral da Saúde.

3. Casos Clínicos

De seguida, apresento dois casos clínicos exemplificativos de situações com as quais me deparei no decorrer do estágio e que permitiram que colocasse em prática os conhecimentos adquiridos ao longo da minha formação.

3.1. Caso A – MSRM + MNSRM

A.L., utente do sexo masculino, com cerca de 25 anos, apresenta-se na farmácia com uma dermatite de contacto em ambas as palmas das mãos e em dois dedos da mão direita. Após consultar o médico foi-lhe prescrito a pomada Advantan[®]. No entanto manifesta interesse em adquirir igualmente algum produto com ação protetora. Indica ainda que a sua dermatite foi causada pela necessidade constante de desinfeção das mãos com solução alcoólica e pelo uso de luvas de latex, às quais fez alergia, mencionando ter necessidade de as utilizar diariamente no seu local de trabalho, como consequência da pandemia de COVID-19.

Indicação Farmacêutica (IF) - Após dispensar a pomada Advantan[®] e de explicar a posologia prescrita, sugeri a aquisição do creme Cicalfate+[®], para promoção da ação protetora e facilitadora da reparação epidérmica. Uma vez que o utente indica ter necessidade de trabalhar de luvas, sugeri a utilização de luvas de algodão por debaixo das luvas descartáveis e a substituição das luvas de latex por luvas de nitrilo.

Após dispensar os produtos supracitados, salientei a importância de não utilizar a mesma toalha de banho nas mãos e no resto do corpo, devendo proceder à substituição e lavagem da toalha das mãos e das luvas de algodão diariamente, e sugeri a proteção das zonas afetadas pela dermatite de contacto com gaze, previamente à colocação das luvas.

3.2. Caso B – MNSRM

J.G., utente do sexo feminino, com cerca de 50 anos, apresenta-se na farmácia com queixas de prisão de ventre, solicitando um medicamento que provoque o amolecimento das suas fezes, mas que não lhe cause obstipação refratária. Refere sofrer de obstipação desde jovem e que os laxantes que utiliza habitualmente têm resolvido a situação de forma pontual. Após questionada menciona praticar desporto esporadicamente e consumir uma grande quantidade de frutas com casca, cereais e verduras, apesar de ingerir pouca água.

IF - Comecei por sugerir que a utente experimentasse Dulcosoft[®], um laxante osmótico cujo princípio ativo é o Macrogol 4000. Recomendei a utilização pontual da formulação em pó para solução oral, através da diluição de 1 a 2 saquetas de Dulcosoft[®] num copo de água, preferencialmente pela manhã.

Questionei ainda a utente quanto ao interesse em incluir na sua dieta um suplemento alimentar à base de estirpes de lactobacilos, vitamina B3 e bifidobactérias com o intuito de fortalecer e reconstituir a sua flora intestinal. Dado o interesse manifestado pela utente J.G. recomendei o produto Eryphilus Confort[®] e aconselhei a toma prolongada de 2 a 4 cápsulas por dia, de manhã, fora das refeições. Procurei valorizar a alimentação adequada praticada pela utente, no entanto, alertei-a para a necessidade de aumentar a prática de atividade física na sua rotina, nomeadamente através da realização de caminhadas. Por último, sugeri a não utilização de roupas apertadas sempre que possível, uma maior ingestão de líquidos, assim como a tentativa de criar o hábito de evacuação a uma hora regular e de realizar massagens na região abdominal em momento prévio à evacuação.

Conclusão

O estágio em Farmácia Comunitária marca a finalização de um período de cinco anos composto por uma vasta formação teórica e prática, proporcionada pelo MICEF, tendo-me possibilitado pôr em prática um amplo leque de conhecimentos técnicos e científicos. Para além de ter tido a oportunidade de desenvolver competências técnico-científicas, foi-me possível desenvolver competências pessoais, essenciais no desempenho e na dignificação da profissão farmacêutica.

Tive a possibilidade de contactar com algumas das oportunidades e dificuldades vivenciadas diariamente pelos profissionais que trabalham em Farmácia Comunitária, e de compreender a importância e responsabilidade do Farmacêutico Comunitário para a sociedade.

Considero que a minha evolução e a maior confiança com que fui realizando os atendimentos ao público, para além de serem uma consequência da minha motivação em aprender o máximo possível, beneficiaram do empenho por parte de toda a equipa, que sempre me incentivou e auxiliou a melhorar.

No decorrer do meu estágio tive ainda a possibilidade de explorar áreas para as quais os meus conhecimentos prévios eram mais reduzidos, particularmente a área da Ortopedia e da Homeopatia, dada a vasta oferta de produtos oferecida pela FG.

O facto da FG estar localizada num meio relativamente pequeno, permitiu uma maior proximidade e receptividade por parte da população local perante a minha intervenção enquanto estagiário e futuro profissional de saúde.

Esta experiência foi uma oportunidade para explorar a principal saída profissional do curso de Ciências Farmacêuticas, resultando num verdadeiro desafio que me obrigou a sair da minha zona de conforto. Com a conclusão deste estágio e a iminente entrada no mercado de trabalho considero-me mais preparado para enfrentar novos desafios.

Referências Bibliográficas

1. Parlamento Europeu. – **Diretiva relativa ao reconhecimento das qualificações profissionais** (2013/55/UE). Jornal Oficial da União Europeia; (2013). [Acedido a 28 de julho de 2020]. Disponível na internet: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:354:0132:0170:PT:PDF>
2. Ordem dos Farmacêuticos. – **Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos**. (2015). [Acedido a 29 de julho de 2020]. Disponível na internet: <https://dre.pt/application/file/a/70186154>

Parte III

Monografia

***Multidrug-resistant Tuberculosis: A Public Health Emergency.
Epidemiological Analysis and New Therapeutic Approaches.***



Sob orientação da Professora Doutora Maria Manuel Silva.

*“De Coimbra, fica um tempo que não passa
Neste passar de tempo que não volta.”*

Manuel Alegre

List of Figures

Figure 1: Streptomycin.....	53
Figure 2: <i>M. tuberculosis</i> life cycle.....	56
Figure 3: <i>M. tuberculosis</i> present in a sputum sample of a patient with active TB.	57
Figure 4: Rifapentine	63
Figure 5: TB First-line drugs. 1- Isoniazid; 2 - Rifampicin; 3 - Ethambutol; 4- Pyrazinamide.....	65
Figure 6: Moxifloxacin	67
Figure 7: Amikacin.....	67
Figure 8: Second-line drugs (group C): 1- Linezolid, 2 - Ethionamide; 3 - Clofazimine; 4 - Cycloserine.	67
Figure 9: Second-line drugs (group D2): 1- Bedaquiline; 2 - Delamanid.....	68
Figure 10: Second-line drugs (group D3): 1- Para-aminosalicylic acid; 2 - Thioacetazone....	69
Figure 11: Model of <i>M. tuberculosis</i> peptidoglycan	73
Figure 12: Structures of the β -lactam core and of the five major categories of β -lactam antibiotics. 1 - β -lactam core; 2 - Penicillin; 3 - Cephalosporin; 4 - Monobactam; 5 - Carbapenem; 6 - Penem.....	74
Figure 13: Carbapenems: most relevant structures. 1- Imipenem; 2 - Meropenem; 3 - Doripenem; 4 - Ertapenem.....	76

List of Abbreviations

ATP – Adenosine Triphosphate

BCG – Bacillus Calmette-Guérin

BlaC – Highly Active β -lactamase

COVID-19 – Coronavirus Disease

DDTs – D,D-transpeptidases

DGS – Direção Geral de Saúde (National General Health Directorate)

DR-TB – Drug-resistant Tuberculosis

EMA – European Medicines Agency

FDA – Food and Drug Administration

HIV/AIDS – Human Immunodeficiency Virus / Acquired Immunodeficiency Syndrome

(IFN- γ) – Interferon γ

IPs – Interaction Points

LDTs – L,D-transpeptidases

LTBI – Persons with latent TB infection

mAGP – Mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan

MDR-TB – Multidrug-resistant Tuberculosis

MIC – Minimum Inhibitory Concentration

M. tuberculosis – Mycobacterium tuberculosis

PAS – *Para*-aminosalicylic acid

PNV – Plano Nacional de Vacinação (National Vaccination Program of Portugal)

RR-TB – Rifampicin-resistant Tuberculosis

TB – Tuberculosis

TDR-TB – Totally Drug-resistant Tuberculosis

(TNF- α) – Tumor Necrosis Factor

UN – United Nations

UNICEF – United Nations Children's Fund

US – United States

USD – United States dollars

WHO – World Health Organization

XDR-TB – Extensively Drug-resistant Tuberculosis

Introduction

Tuberculosis (TB) is caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), a bacillus that is spread mainly when people who are infected expel the bacteria into the air. Usually it harms the lungs, but sometimes can also affect other organs. Nowadays, the biggest challenges concerning TB are: the association with Human Immunodeficiency Virus / Acquired Immunodeficiency Syndrome (HIV/AIDS), the drug-resistant TB (DR-TB) microbes and the need for innovations to combat TB and also in health systems. ⁽¹⁾

In the 2019 Global Report, the World Health Organization (WHO) ⁽²⁾ issued its political declaration for 2018-2022, and set four global targets: to cure 40 million people with TB during this period; to reach at least 30 million people with TB preventive treatment for a latent TB infection; to mobilize at least 13 billions of United States dollars (USD) for universal access to TB diagnosis and treatment in 2022, and finally gather more than 2 billions of USD annually for TB research. The Sustainable Development Goals of the United Nations (UN) also defined the target of ending TB epidemic by 2030. ⁽³⁾

TB is not healed by using only one single drug, and the therapeutic schemes chosen are based on an understanding of the morphology of *M. tuberculosis*, the physiology of the host and the intrinsic activities of the drugs. ^(4,5) The drugs available to treat TB are split into two categories, based on their safety and effectiveness: first-line drugs, that combine greater efficacy with less toxicity, and second-line drugs, used when there is resistance to the first-line drugs, combining lower efficacy with greater toxicity. ⁽⁵⁾ First-line drugs are used to heal drug-susceptible TB. On the other hand, the second-line drugs are all that are used for the treatment of DR-TB. Nevertheless, first-line drugs can be used in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB).⁽⁶⁾

The first-line drugs to treat TB are Isoniazid, Pyrazinamide, Ethambutol and Rifampicin. ^(7,8) The new classification of second-line TB medicines was specifically created for rifampicin-resistant or MDR-TB cases, being constituted by a hierarchy of four groups: fluoroquinolones (group A), second-line injectables (group B), other nucleus second-line drugs (group C) and add-on drugs (group D, subdivided in groups D1, D2 and D3). ⁽⁹⁾ The prevalence of resistance to first-line therapies, and the poor efficacy and safety of second-line therapies, potentiated the need of developing new treatment regimens that can be, simultaneously, efficient, and well-tolerated. It is why the interest of reanalyzing the potential of using β -lactams for treatment of DR-TB came back recently. ⁽¹⁰⁾

I. Tuberculosis: epidemiological analysis in Portugal and worldwide

According to the WHO Global Tuberculosis Report of 2019, TB is one of the top ten causes of death worldwide, and the first cause of death from a single infection agent. In that report it is also stated that about a quarter of the world's population is infected with *M. tuberculosis*, which means that they have the risk of developing TB. ⁽²⁾ It is estimated that about 5-10% of those infected people are going to develop active TB disease in their lifetime. There is not a methodology to accurately calculate the probability of one person being infected with TB, but there are factors that need to be considered like the immunological status. Therefore, children under 5 years, and people with compromised immunity, have more chance of being infected. (11)

It is estimated that a range of 9.0 to 11.1 million people, got sick with TB in 2018, that corresponds to the population of Portugal, and in the last years that number has been stable. Among the values mentioned, an estimated number of 5.7 million are men, 3.2 million are women and 1.1 million are children. These cases are present in every countries and ages, and a total of 1.5 million people died from TB in 2018. ⁽²⁾

In 2018, the major part of the reported cases of TB, were localized in regions of South-East Asia (44%), Africa (24%) and the Western Pacific (18%). Eastern Mediterranean (8%), the Americas (3%) and Europe (3%) had lower incidence. Also in that year, the thirty most affected countries by TB accounted for 87% of the total number of cases worldwide, and just eight countries have two thirds of the total, being in order: India, China, Indonesia, Philippines, Pakistan, Nigeria, Bangladesh and South Africa. ⁽²⁾ Also, in 2018, there were about half a million new cases of rifampicin-resistant TB, and almost 80% of them had multidrug-resistant TB (including resistance to isoniazid). ⁽²⁾

In 2019, the investment for prevention and treatment of TB in middle- and low- developed countries reached an approximate total of 6.8 billions of USD throughout the year, which represents, 3.3 billions of USD below the estimated amount that it would be necessary to invest in TB in that year. This value represents just over a half of the global target, that was agreed at the UN high-level meeting on TB. ⁽²⁾

According to WHO, patients with TB, should be extremely careful to avoid being infected with the coronavirus disease (COVID-19). Both diseases attack the lungs and show identical symptoms, however the incubation period of TB is longer. The information about this co-infection remains limited, and in most cases treatment against TB should remain as usual in people that have been co-infected with COVID-19. ⁽¹²⁾

I.1. History of Tuberculosis – Worldwide

Several genetic studies concluded that the infection agent that causes TB, *M. tuberculosis*, has been present in the humankind, leastwise for the last 15.000 years. However, the first physical evidence of TB disease in humans goes back to 2400-3400 before Christ, since there is evidence of the disease in the spines of mummies. ⁽¹³⁾

Until the end of the nineteenth century, TB was designated as “*phthisis*” since the bodies of the patients demonstrated a marked decay. The word is originated from an ancient greek word, “*phthisikos*”, whose meaning is precisely, “decline”. ⁽¹⁾

Nowadays, it is known that *M. tuberculosis* can cause damage in different parts of the body, with a higher incidence in the lungs. However, historically these different damages were considered caused by different diseases.

With the invention of the stethoscope, frenchman René Laennec realized that the tubercles that were usually found in the lungs, when autopsies were performed, were also present in other parts of the body, as the intestines, the lymph nodes and the spine. René Laennec published his observations, and some years after that, died of TB, leaving an important legacy in this matter. ⁽¹⁴⁾

On the 24th of March of 1882, the physician Robert Koch pointed out the infection agent that causes TB: the bacillus that we know today as *Mycobacterium tuberculosis*. In his work, Koch employed different kinds of technology: microscopes, experimental animals, solid culture media and selective staining of bacteria. In 1890, he also presented a possible treatment for TB, but it caused the death of many people, contributing negatively to the reputation of Koch and bacteriology alike. Nevertheless, his discovery resulted in the Nobel Prize, in 1905, and nowadays he is remembered as the “father” of TB. ⁽¹⁵⁾

Furthermore, 24th of March, the day when Robert Koch revealed the causative agent of TB, become the World TB Day, which is still marked and recognized by WHO nowadays. ⁽¹⁾

The implementation of TB control treatments in sanatoria and hospitals had started some years prior to the World War II, and surged two new potential medicines: the *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) vaccine, and, streptomycin (Figure 1), the first antibiotic drug that presented effectiveness against TB. Streptomycin was discovered by Waksman and Schatz, in 1943. ⁽¹⁶⁾

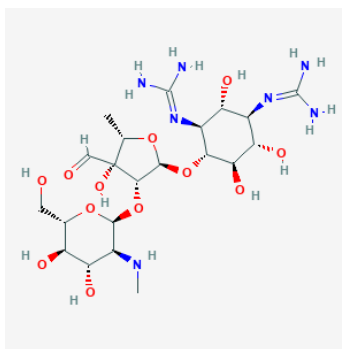


Figure 1 – **Streptomycin** - classification: protein synthesis inhibitor.

Nevertheless, streptomycin was not the ideal solution, not only for being expensive, but also for its side effects, and the quick development of resistance. The discovery of two new synthetic molecules: isoniazid (Figure 5) and *para*-aminosalicylic acid (PAS) (Figure 10), contributed to minimize some of these problems, and in 1947, after the World War II, TB had been recognized as a “great imperial responsibility”.⁽¹⁾

In 1948, UNICEF and WHO supported this project, with the condition of extending the BCG vaccination to a global scale, re denominating the campaign as “International Tuberculosis Campaign”.⁽¹⁶⁾

1.2. History of Tuberculosis - the case of Portugal

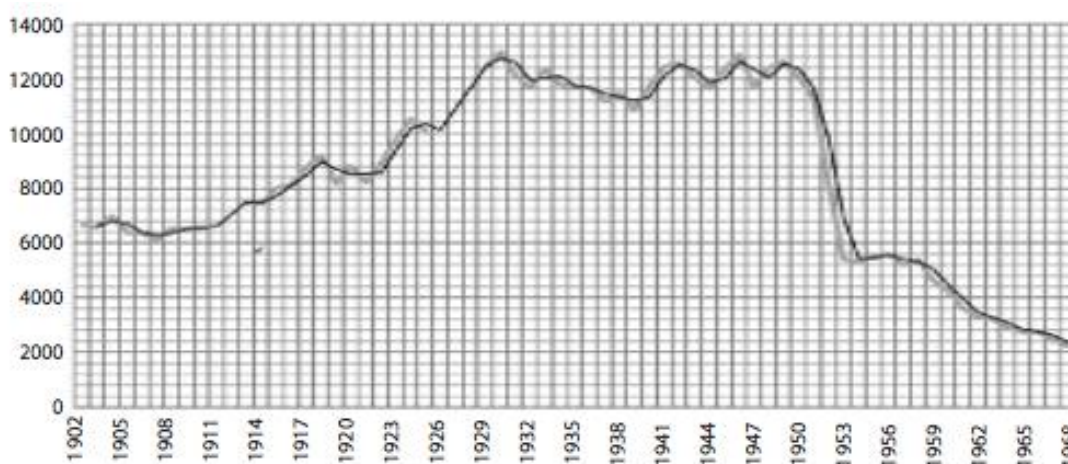
In the end of the 19th century, Raul Faria wrote that the understanding of TB as a social illness has more to do with the transmission of the disease, than with the bacillary activity. Faria stated that all the social factors of the human life played an important role in the spread and development of TB, particularly the access to food; and the hygienic and housing conditions.⁽¹⁷⁾

A few years later, when King D. Manuel II started to rule there was almost no “social legislation” and the existent did not include the health conditions of the workplace as well as the working hours. Hence, King D. Manuel II hired the sociologist León Poincard to study the social and medical conditions in Portugal, and to give indications on the necessary implementations to promote better health conditions to the population.⁽¹⁸⁾

In the beginning of the 20th century, some dissertations focused on the TB disease have emerged in the medical schools of Oporto and Lisbon. The most paradigmatic thesis was written by Almeida Garrett, where he tried to explore TB, particularly the socioeconomic issues of the population. Garrett considered economic, hygienic, social and mental causes for the TB disease.⁽¹⁹⁾

Another important landmark was given by biostatistics that made possible the understanding of the sanatoria conditions of the population, their health status, and gave us the possibility to know the number of infected patients in Portugal. ⁽²⁰⁾

In Portugal, the mandatory declaration of TB was implemented by the decree-law of 12th of April of 1894, but we just have substantial data from 1902. The establishment of a continuous statistic by the National Statistics Institute (INE), from the 20th century, allows us to see the behavior of TB mortality, from 1902 to 1968 (Graphic I). After that, the demographic statistics carried out by INE no longer refer the cause of the deaths. ^(20,21)



Graphic I – Evolution of the **mortality caused by the TB disease** in Portugal (1902-1968). Adapted from ⁽²⁰⁾.

The discovery of streptomycin to cure TB, in 1945, did not have an immediate effect on the mortality incidence of the disease in our country, that just started after 1951. Nevertheless, the truly efficient TB control just started with the introduction of some new molecules, essentially: PAS, isoniazid, rifampicin (Figure 5), ethambutol (Figure 5) and pyrazinamide (Figure 5), between the 1950 and the 1960. ⁽²⁰⁾ According to the National General Health Directorate (DGS), in the last 50 years, the reduction in the notification and incidence of TB in Portugal has been relatively constant, and also the reduction in the number of patients with MDR-TB. Despite this reduction, between 2014 and 2018, there was an increase in cases of TB in children under the age of 5 years, particularly in severe forms of the disease. ⁽²²⁾

2. Tuberculosis: transmission, pathogenesis, and life cycle

2.1. Transmission and Pathogenesis

TB is an example of infection that is not necessarily followed by a disease, and a lot of people infected, do not get sick. In most cases the immune system has the capacity to block the bacillary multiplication, needed to the development of serious injuries, preventing the advent of the disease characteristics. The likelihood of being infected is not easy to calculate but seems to be connected to different factors. It is relevant to consider not only the intensity and duration of exposure to *M. tuberculosis*, but also the population density, the weather conditions and the immunocompetency of the host. ⁽⁸⁾ In addition, the number and the capacity of multiplication of the bacillus presented in the *inoculum* may have a preponderant influence in the development of TB. ⁽²³⁾

Firstly, the infection by *M. tuberculosis* starts upon pulmonary exposure, with the inhalation of active bacilli from the environment. Some droplets are expelled from the lungs containing a small number of individual organisms which must be inhaled into the host lungs. After inhaled the biggest part of the mycobacteria is stopped by our physical barriers, promoting the exclusion of the particles. However, a few parts of the bacillus have the capacity to overcome the physical barriers, being aspirated into the lungs. Once in the lungs, the bacilli are detected, being triggered by macrophages and dendritic cells, which starts their phagocytosis. The macrophages of our pulmonary alveoli induce a local inflammatory response, through the secretion of cytokines, and through the migration of monocytes from blood into the infection local. ⁽²⁴⁾

The development of an encapsulated granuloma is a consequence of the migration of the lymphocytes into the local of the infection, after the dendritic cells present *M. tuberculosis* antigens to T lymphocytes in the lymphatic nodules. In the granulomas, macrophages are activated by T lymphocytes through the production of interferon (IFN- γ) and tumor necrosis factor (TNF- α), which has the function of containing *M. tuberculosis* in the granuloma. About 90% of the infected patients have the capacity to control the infection successfully, and become asymptomatic, as bacilli are contained in a dormant state inside of the granuloma, called latent TB. ^(4,24) However, about 5% of the patients develop the primary progressive state of the disease. The instigation of the disease relates to different factors as the environment conditions, and genetic variations. In a few patients with the latent infection, can also happen the reactivation, by immune alterations, for example due to an HIV infection. ⁽²⁴⁾

2.2. Simplified description of the *M. tuberculosis* life cycle

The transmission of *M. tuberculosis* occurs when a carrier exposes some droplets to the air via coughing [stage A]. The majority of the mycobacteria is stopped by our physical barriers, promoting the exclusion of the particles.

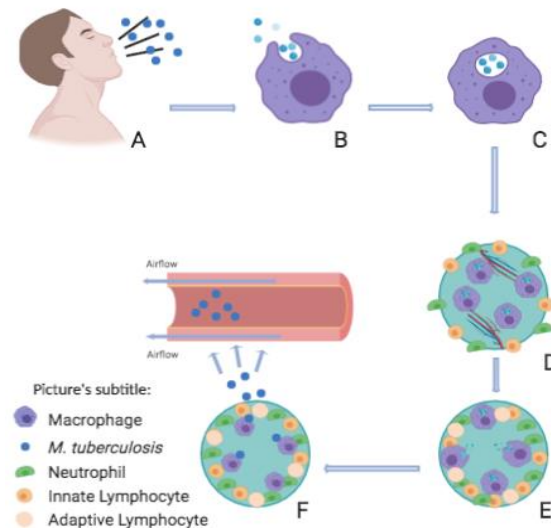


Figure 2 – *M. tuberculosis* life cycle.

However, a minor fraction has the capacity to overcome the physical barriers, being aspirated into the lungs. The first response of our macrophages is the attempt to phagocytize the bacteria, transporting it across the alveolar epithelium and into the lung. [stage B]

This triggers a proinflammatory reaction, with the participation of different immune cells, resulting in the formation of an encapsulated granuloma. The pathogen is contained inside the foamy macrophages, and the formation of the encapsulated granuloma starts. [stage C]

Firstly, the granuloma is well vascularized and contains many immune cells, supporting the host's immune system to combat the pathogen. [stage D]

With the maturation of the granuloma, the macrophages make a line outside the lesion, cells die, and the granuloma becomes necrotic, making drug penetration harder. In this stage, the bacilli can reach high levels, increasing the risk of contagion. [stage E]

Some years later (or just some weeks, in case of immune system debility), the granulomas merge to the airways of the lungs, giving to the pathogen the possibility to spread to another tissues and individuals. [stage F] ^(5,25, 26-29)

3. Morphology and physiology

It is essential to understand the morphology and physiology of *M. tuberculosis* for a better comprehension of the mechanisms of action of the different therapies available, and the different diagnosis methods applied. ⁽³⁰⁾

Furthermore, it must be remembered that *M. tuberculosis* is an airborne infection transmissible between humans, that requires that the bacilli have the right size to effectively enter the lung alveolar spaces, and that means passing through a respiratory system highly prepared to eliminate particles that are inhaled. ⁽²⁷⁾

Hereupon, in addition to briefly exploring the morphology and physiology of the TB causing agent, *M. tuberculosis*, a small explanation of the anatomy and physiology of our lungs will be given, as well as the dynamics present if the gas exchange carried out there. Only a more general understanding allows us to discuss effective therapies for TB, as well as the development of vaccines that target the lung. ⁽²⁷⁾

3.1. Morphology and physiology of *M. tuberculosis*

M. tuberculosis belongs to the family *Mycobacteriaceae*, that includes just one genus, the *Mycobacterium*, which includes 100 different species, some being human pathogenic. *M. tuberculosis* is an aerobic mycobacterium, immobile and not encapsulated. The morphology of this mycobacterium is bacilli or coccobacilli, and they are isolated, in pairs or in small clusters. In general, bacilli are thin, straight, or slightly curved.

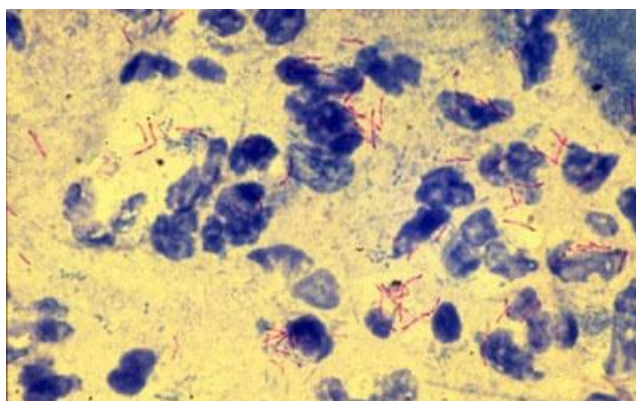


Figure 3 – *M. tuberculosis* present in a **sputum sample** of a **patient with active TB**. The mycobacteria are seen as acid-fast bacilli when stained with the Zeihl-Neelsen acid-fast stain (viewed at 1000x magnification). Adapted from ⁽³¹⁾.

Some relevant aspects in this mycobacterium are related to the high quantity of lipids present in the cell wall. Additionally, impermeability to different dyes, resistance to antibiotics, to the death with acidic and alkaline compounds, to osmotic lyses and to oxidation are extremely relevant factors related to the morphology and physiology of this mycobacterium. Regarding the culture media, and due to the specific nutritional requirements of *M. tuberculosis*, there is no growth using the most traditional culture media. The most used medium is Lowenstein-Jensen, requiring a prolonged incubation, from 2 to 6 weeks, in order to form the characteristic structures.

Although the cell wall consists of peptidoglycan, a high number of complex lipids is present, making its surface hydrophobic. This characteristic has proven to be preponderant to define the staining tests to be used and because the determinant factor of the virulence of a bacterium is related to its cell wall. Therefore, it was noticed that *M. tuberculosis* is resistant to staining by some of the most used methods in bacteriology, such as the gram method.

In addition, they resist to the discoloration by acid-alcoholic solutions, being designated as alcohol-acid-resistant bacteria. In other words, after staining with a first dye, it will remain after the attempt to decolorize with an acid-alcohol solution and staining with more dyes is not possible. We have the need to use acid-resistant stains, such as Ziehl-Neelsen stain. ⁽³⁰⁾

3.2. Physiology and anatomy of the lung

The primary function of our lungs is to participate in breathing, with gas exchange taking place in this organ. They do the interfacing with the environment, being responsible to limit the inhalation of unwanted particles. Some microbes that we inhale are host-adapted pathogens, being the case of *M. tuberculosis*, that have evolved to survive following their entry into the lung. Nevertheless, lungs have the capacity to recruit lymphocytes to the airways, besides the existence of memory T cells residing in the lung tissues, as defense mechanisms. ⁽²⁷⁾

Hereupon, it is important to consider the existence of several interaction points (IPs), that are important for a better understanding of the passage of *M. tuberculosis* along the lung. The infection caused by *M. tuberculosis* requires the transmission of droplets, and there are some intrinsic and extrinsic factors that determine if these droplets reach the alveolar space successfully. Firstly, the entry of droplets through the sinuses is hampered by mechanical barriers, which limit the passage of these droplets to the lower respiratory tract. ⁽²⁶⁾

Droplets with dimensions of 3-5 micrometers cross the initial barriers, reaching the tracheobronchial tree (the first interaction point). In this place, there are several types of

epithelial cells, which induce a mucociliary clearance. The particles that manage to cross this barrier find divisions of the bronchi (also an IP), culminating in alveolar ducts formed by alveolar sacs (the third IP).⁽²⁷⁾

In the alveolar space, we find alveolar epithelial cells and alveolar macrophages. Alveolar macrophages can be infected by *M. tuberculosis*, triggering innate immune events that initiate cellular immune responses, resulting in the formation of granulomas (fourth IP). Granulomas have the capacity to control the infection, however, they allow the survival of the bacteria in our respiratory system, during latent TB infection, being precisely in these places that there is greater resistance to the treatments of the disease.

Disorders caused by pollutants, cigarette smoke, inflammatory lung disorders, changes in the microbiota or even co-infections, can result in different types of lung inflammation, with a greater propensity to result in active TB, increasing the potential for transmission.⁽²⁶⁾

The impact of many environmental factors on the progression of TB, and on the different responses to the currently used therapies is confirmed, however it is not clear how it happens. There is a link between exposure to certain particles, such as tobacco smoke, and the activity of the alveolar macrophages, that are responsible for initiating immune responses. One of the great challenges of the moment is to explain the impact of the different IPs in the development of infection caused by *M. tuberculosis*, and in the subsequent appearance of TB disease.⁽²⁷⁾

4. Diagnosis and prevention

4.1. Methods of diagnosis

The early diagnosis of TB, as well as, starting the treatment as soon as possible are essential, minimizing the transmission and the morbidity and mortality caused by TB. Clinical diagnosis is frequently difficult, because of the nonspecific symptoms, and the diversity of possible radiological presentations. Most of the times, diagnostic of TB sits on a combination of different diagnostic methods, as further explained below. ⁽³²⁾

When talking about diagnosing a disease it is essential to analyze the associated symptoms. According to WHO, the most common symptoms of active lung TB are cough with sputum, and blood sometimes, chest pains, weight loss, fever, weakness, and night sweats. Taking these factors into account, some countries use a method called sputum smear microscopy to diagnose TB. This method uses a microscope and sputum samples, trying to detect the presence of the bacteria, being able to detect only half of the TB cases and without the capacity to detect drug resistant tuberculosis (DR-TB). ⁽³³⁾

In 2010, WHO made a recommendation against the use of serological tests, using breath-based, blood and urine tests once the results presented lack of specificity and sensitivity. Currently, different diagnosis techniques are being explored, trying to provide rapid tests for TB diagnosis, such as imaging, acid amplification tests and the analysis of volatile organic compounds. ⁽³⁴⁾

Since 2010, WHO started recommending the use of a rapid test, called Xpert MTB/RIF[®], that in just 2 hours, have the ability to detect TB, and simultaneously, resistance to rifampicin, a drug with major importance in the treatment of TB. Currently, this test is the first recommended diagnosis method to all the persons with signs and symptoms of TB. Furthermore, it is necessary to detect resistances to other important first- and second-line TB medicines, not always being possible to use Xpert MTB/RIF[®]. Having that in mind, in 2016 WHO started recommending the use of other tests to diagnose these cases. However, it remains particularly difficult diagnosing TB in children. ⁽³³⁾

Several diagnostic methods recommended by WHO can be enumerated, particularly: microscopic tests, culture and species identification, Drug-Susceptibility Testing (DST), Molecular Testing and testing for latent TB infection persons; which I will briefly describe. ⁽³⁵⁾

4.1.1. Microscopic Tests

The thick lipid containing cell walls of mycobacteria, with the capacity to retain biochemical stains, allows us to differentiate them from other microorganisms. From 95% to 98% of TB cases, can be diagnosed, by examining two sputum samples, while ensuring that the quality standards are fulfilled. That said, a positive smear is one in which at least one acid-fast bacillus in at least 100 microscopic fields. In 2010, WHO confirmed the accuracy of using two consecutive smears on the same day to diagnose TB, and to immediately starting the treatment of the patients. ⁽³⁵⁾

4.1.2. Culture and species identification

It is possible to culture *M. tuberculosis* in special solid or liquid media, and consequently, we can identify bacterial growth by identifying specific characteristics. However, positive cultures should always be tested to confirm the identification of the *M. tuberculosis* complex. ⁽³⁵⁾

4.1.3. Drug-Susceptibility Testing (DST)

Drug-Susceptibility Testing (DST) is used to determine the susceptibility of a given strain to anti-TB agents. If the result obtained indicates that the strain is sensitive to a particular anti-TB agent, we can infer that the treatment with that agent will probably be successful, and if the result indicates that the strain is resistant, there is a greater probability of the treatment using this agent to be ineffective. With the use of standardized DST for *M. tuberculosis* we have more specific information to treat patients with the most suitable agents. ⁽³⁵⁾

4.1.4. Molecular Testing

Molecular assays use genotypic methods, allowing a rapid identification of rifampicin-resistant tuberculosis (RR-TB) and MDR-TB, with reduced requirements for biosafety. ⁽³⁵⁾

An example of molecular testing is the Xpert MTB/RIF[®] assay, that allows us to simultaneously detect TB and rifampicin resistance in less than two hours, using a platform that entails fewer biosafety and human resource requirements than traditional culture. Moreover, the sensitivity of this test in the detection of TB is significantly higher than that for microscopy, essentially in people with coinfections (e.g. HIV). ⁽³⁶⁾

4.1.5. Testing for latent TB infection persons

Persons with latent TB infection do not have active TB disease, but the reactivation can happen in the future. For these patients, the probability of developing TB is 5 to 10%, with most of these patients developing the disease in the first five years after the initial infection. WHO recommends the tuberculin skin test and the interferon gamma release assays to test persons for latent TB infection in countries with an estimated incidence of TB upper than 100 per 100.000 population. These tests have the capacity to detect memory T-cell response, which means the presence of host sensitization to *M. tuberculosis* antigens. ⁽³⁵⁾

4.2. Preventive treatments

The *Bacille Calmette-Guérin*, designated as BCG, from here, is a vaccine against TB, created in 1921. WHO recommends the vaccination with BCG of HIV-uninfected children, once it proved protection against non-lung forms of pediatric TB. Nevertheless, BCG has a doubtful efficacy against pulmonary TB, so a safe and effective vaccine, would bring us a big advantage in the control of the disease. ⁽³⁷⁾ BCG vaccine still being used as the main prevention method in a big number of countries. However, in countries with a low prevalence of TB, such as, United States and Italy, the immunization by BCG had never be included in an universal immunization program, being recommended just in risk groups. ⁽³²⁾

In Portugal, BCG has been part of the National Vaccination Program (PNV) over the last decades. However, the new PNV, which was applied from January 2017, determined the end of the universal vaccination with BCG, and only children who belong to groups at risk for TB, or those who live in a certain community, with a high incidence of the disease, are vaccinated. ⁽³⁸⁾

Given the different realities, WHO recommends the realization of a tuberculin skin test or interferon-gamma release assay to test for TB, in order to find those who really benefit from a TB preventive treatment. ⁽³⁾

The most used method in the screenings of TB remains the tuberculin test, which is a skin exam, consisting of an intradermal injection of a protein fraction extracted from *M. tuberculosis*. One to three days after the injection, an immune reaction occurs that only tells us that this individual has been exposed to the microorganism in the past. This immunity, which can be protective for some individuals, can also trigger a post-primary infection in a small number of people, which is why individuals with a positive test are usually treated, in order to reduce the

potential risk of reactivation. ⁽³²⁾ WHO recommends a widespread use of TB preventive treatments among regions with higher risk, namely, people living with HIV or with another diseases that decrease immunity, and those with household contact with TB patients. ⁽³⁾

There are two different types of preventive treatment for drug-susceptible TB: monotherapy with isoniazid (Figure 5.1) for at least six months, and preventive treatment using rifamycin (rifampicin, Figure 5.2, or rifapentine, Figure 4). The first option has been the most widely used, however regimens with rifamycin presents the advantage of having a shorter duration.

⁽¹¹⁾ In cases of MDR-TB, preventive treatment is performed using fluoroquinolones or another second-line drug. ⁽³²⁾

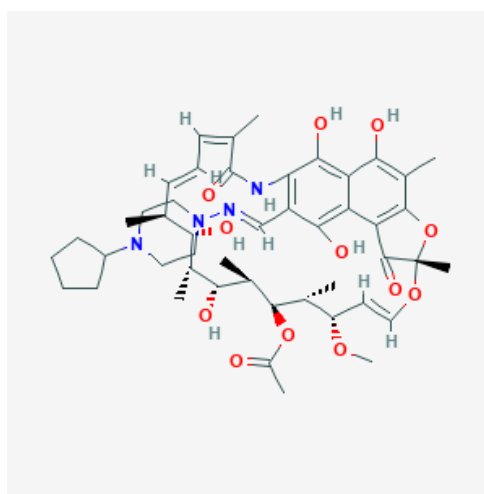


Figure 4 – **Rifapentine** - classification:
Macrolactam.

4.3. TBXpert Project

It is expected that only 59% of the estimated number of TB cases were diagnosed and notified to WHO in 2015. ⁽²⁾ It happened, in part, for the worst capacity of low- and middle- income countries to carry out different diagnostic tests, necessary for the confirmation and validation of TB diagnosis.

The global programme for TB developed by WHO, has the main objective of reverse TB, looking forward to eliminating the disease. In order to achieve this goal, WHO decided to create the TBXpert Project, providing the necessary technology and its integration into strong laboratory networks, in low- and middle- income countries. ⁽³⁶⁾

5. Drugs used to treat tuberculosis

According to WHO the treatment goals of TB are: cure sick patients, avoiding death and recurrences, decrease the transmission of *M. tuberculosis*, as well as the resistance to the antibiotics. TB treatment saved 58 million lives worldwide, between 2000 and 2018. When the treatment is well implemented, cure levels are around 85%.^(4,5)

TB is never treated using only one drug, and the therapeutic schemes used are based on an understanding of the morphology of *M. tuberculosis*, the physiology of the host and the intrinsic activities of the drugs. The drugs available to treat TB are divided into two broad categories, based on their safety and effectiveness: first-line drugs (Figure 5), that combine greater efficacy with less toxicity, and second line drugs, combining lower efficacy with greater toxicity, being used when there is resistance to the first-line drugs.^(4,5)

First-line drugs are used to treat drug-susceptible TB. In the other hand, the second-line drugs are all that are used for the treatment of DR-TB. Nevertheless, first-line drugs can be used in the treatment of MDR-TB, as we will see.⁽⁶⁾

Classical anti-TB therapy looks first to quickly eliminate the bacillus, improving symptoms (intensive phase).⁽⁵⁾ The intensive phase has the duration of two months, including a four-drug cocktail containing the TB first-line drugs: rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol (Figure 5).⁽⁸⁾

After that, it demands to prevent recurrences, being this phase designated as a continuation phase.⁽⁵⁾ In this phase, are used a combination of rifampicin and isoniazid, that aims to eradicate the remaining bacilli that have entered to the latent phase.⁽⁸⁾

In 2020, the WHO Consolidated Guidelines on TB, released on March 24th, introduced new options of alternative TB treatments, including conditional recommendations for a 1-month daily rifapentine and isoniazid regimen and 4-month daily rifampicin regimen.⁽¹¹⁾

Furthermore, given that these therapies need to be adapted depending on the different resistances of the patients, in 2019, WHO also defined a new guidance on the drugs that should be used for the treatment of the different cases of DR-TB. These guidelines include policy recommendations on treatment regimens for isoniazid resistant TB and MDR-TB, including longer and shorter regimens; the timing of antiretroviral therapy in DR-TB patients with HIV, as well as, orientations for the use of surgery during the application of these regimens.⁽³⁹⁾ During pregnancy a six-month regimen based on isoniazid, rifampicin and pyrazinamide must be used whenever possible.⁽³⁹⁾

5.1. First-line drugs

As previously stated, the first-line drugs to treat TB are Isoniazid, Pyrazinamide, Ethambutol and Rifampicin. ⁽³⁹⁾ Streptomycin (Figure 1) is now considered a second-line TB drug, used particularly in case of resistance to amikacin or due to the unavailability of this drug. ⁽⁶⁾

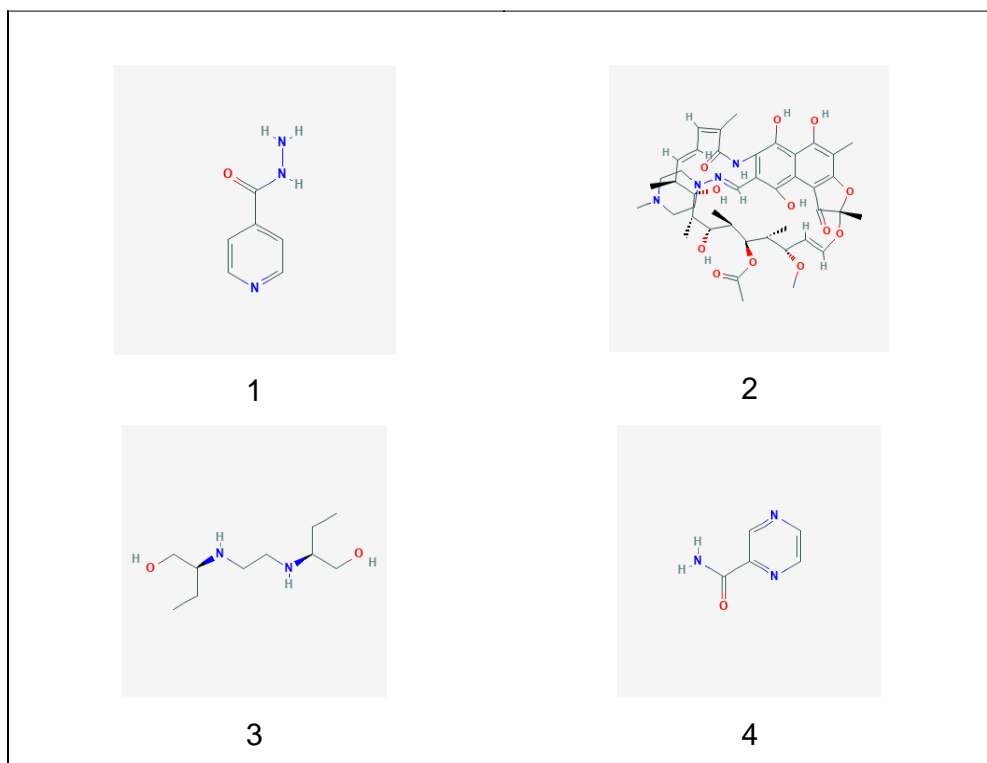


Figure 5 – TB First-line drugs. 1 - **Isoniazid** – classification: hydrazide of isonicotinic acid; 2 - **Rifampicin** – classification: semisynthetic derivative of rifamycin; 3 - **Ethambutol** – classification: synthetic congener of 1,2-ethanediamine; 4 - **Pyrazinamide** – classification: synthetic analogue of nicotinamide.

Isoniazid (Figure 5.1) is bactericidal used against the replication of the tubercle bacilli, being absorbed, and diffusing into the fluids and tissues rapidly. It is usually taken orally, but, exceptionally, may be administered intramuscularly or intravenously. The dosage should be monitored for pregnant, and for people with comorbidities as HIV infection, renal failure, epilepsy, or diabetes. Generally, this drug is well tolerated at recommended doses. Nevertheless, isoniazid inhibits the metabolism of some drugs, which can become toxic, as result of the increase in the plasma concentration of certain drugs (as acetaminophen, valproate and warfarin). ⁽⁴⁰⁾

Rifampicin (figure 5.2) is a semisynthetic derivative of rifamycin, a complex macrocyclic antibiotic with the capacity to inhibit ribonucleic acid synthesis in different microbial pathogens. It is lipid-soluble, has bactericidal action, and a strong sterilising effect against *M. tuberculosis*. People with pre-existing liver disease should be monitored, and during pregnancy, vitamin K1 must be administered to the infant after the birth, due to the risk of postnatal hemorrhage.

Ethambutol (figure 5.3) is active against *M. tuberculosis*, and also against *M. bovis*. It must be used in combination with other anti-TB drugs, with the main objective of preventing the appearance of resistant strains. Ethambutol is administered orally, and the dosage should be carefully determined based on the weight of the patients, to avoid toxicity. It is rapidly absorbed from the gastrointestinal tract. Ocular toxicity may appear in specific situations but is rare when it is used in the recommended doses, for 2-3 months. Nevertheless, ocular examination is recommended during the treatment period. ⁽²⁾

Pyrazinamide (Figure 5.4) is weakly bactericidal against *M. tuberculosis*, but has high sterilising activity, mostly in areas of acute inflammation and in acidic intracellular environment of macrophages. It is particularly high effective during the first two months of treatment due to the persistence of acute inflammatory changes during this stage. It is administered orally, and people with diabetes must be carefully monitored, once blood glucose concentrations become inconsistent. ⁽²⁾

5.2. Second-line drugs

The 2016 WHO Guidelines changed the previous classification of 2011, until then the drugs used for the treatment of TB were classified from group I (which included the first-line drugs) to groups 2-5 (which included the second-line drugs). The new classification of second-line TB medicines was specifically created for rifampicin-resistant or MDR-TB cases, being constituted by a hierarchy of four groups: fluoroquinolones are in group A, second-line injectables in group B, other nucleus second-line drugs in group C and add-on drugs in group D (divided in subgroups D1, D2 and D3). ⁽⁹⁾

GROUP A – Fluoroquinolones

This group includes the most used agents in the treatment of MDR-TB, consisting essentially of high-dose fluoroquinolones, such as moxifloxacin, whose molecular structure is shown in

Figure 6. This type of molecules has a good safety profile, demonstrating bactericidal and sterilising activities. ⁽⁴¹⁾

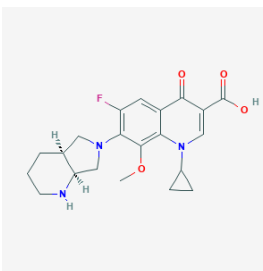


Figure 6 – **Moxifloxacin** – classification: fluoroquinolone.

GROUP B – Second-line Injectables

The group B includes injectable drugs with bactericidal activity, without sterilising activity and with a lower safety profile than fluoroquinolones. This group includes aminoglycosides, such as amikacin, shown in Figure 7. ⁽⁴¹⁾

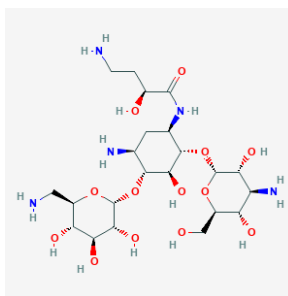


Figure 7 – **Amikacin** – classification: aminoglycoside.

GROUP C – Other Core Second-line Drugs

This group includes other core second-line drugs, as linezolid (Figure 8.1), ethionamide (Figure 8.2), clofazimine (Figure 8.3) and cycloserine (Figure 8.4).

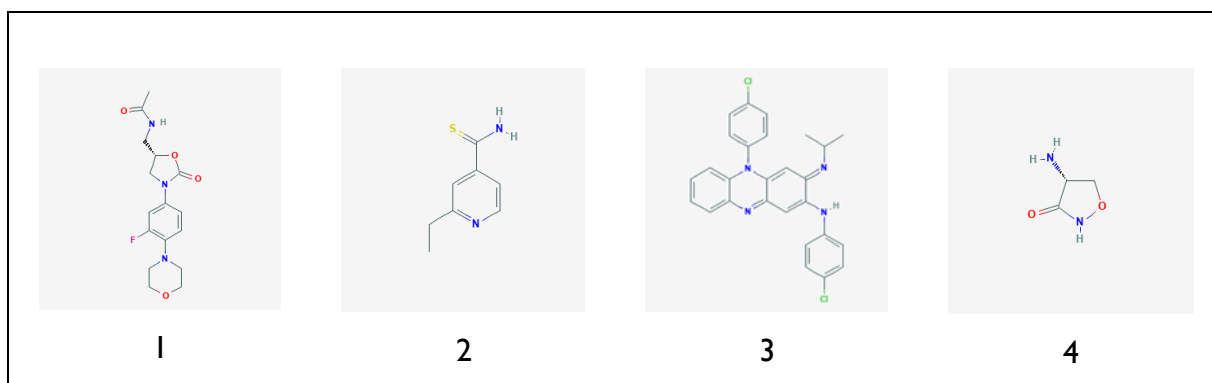


Figure 8 – Group C – Other Core Second-line drugs. 1 – **Linezolid**, 2 – **Ethionamide**; 3 – **Clofazimine**; 4 – **Cycloserine**.

Linezolid (Figure 8.1) has bactericidal and sterilising action, but there is documented toxicity, requiring constant monitoring during the application of this drug. Ethionamide (Figure 8.2) has a moderate bactericidal activity, but it also has documented toxicity. Clofazimine (Figure 8.3) has good tolerance, with sterilising activity documented. The one considered the less advantageous drug of the four mentioned, is cycloserine (Figure 8.4), that has very little bactericidal and sterilising activity, and without a good toxicity profile. ⁽⁴¹⁾

GROUP D – Add-on Drugs

This group has three subtypes (D1 to D3) classified as add-on drugs (not core MDR-TB regimen components).

GROUP D1

The group D1 comprises first-line drugs as isoniazid (Figure 5.1) in high dose, ethambutol (Figure 5.3) and pyrazinamide (Figure 5.4). ⁽⁴¹⁾

GROUP D2

The group D2 includes bedaquiline (Figure 9.1) and delamanid (Figure 9.2). These drugs had been conditionally approved by the European Medicines Agency (EMA) because adverse events have been noted. Food and Drug Administration (FDA) approved Bedaquiline for MDR-TB and Delamanid for extensive drug-resistant TB (XDR-TB), and for totally drug-resistant TB (TDR-TB); and EMA approved both agents for MDR-TB.

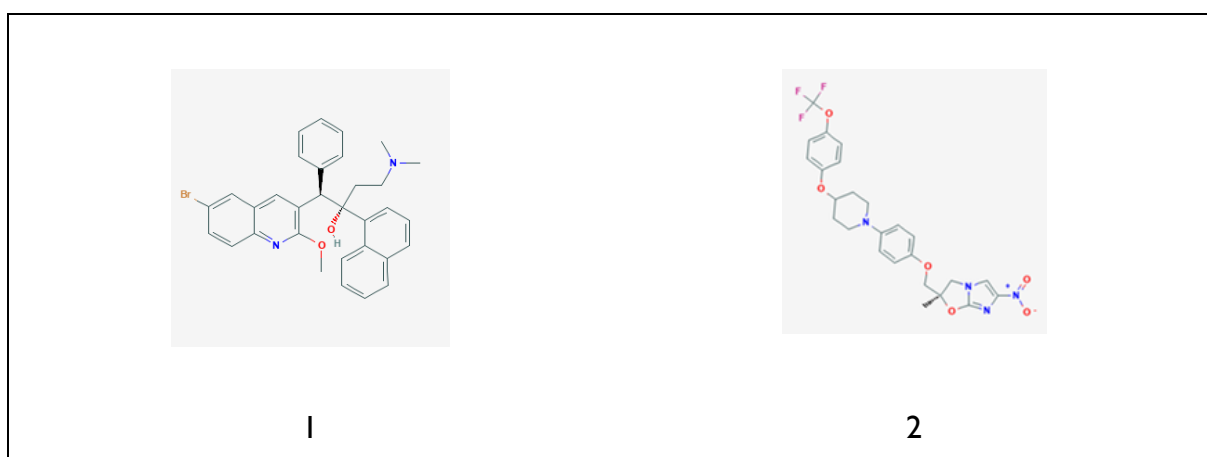


Figure 9 – 1- **Bedaquiline**, classification: Diarylquinoline; 2 - **Delamanid**, classification: Nitroimidazole.

Bedaquiline is a diarylquinoline that targets the proton pump of adenosine triphosphate (ATP) synthesis, leading to inadequate ATP levels. It has bactericidal activity, superior when compared to that of isoniazid and rifampicin. ⁽³⁴⁾ It is the first anti-TB drug for over forty years. ⁽⁹⁾

Delamanid and Pretomanid are part of the nitroimidazole class. These drugs are structurally similar to metronidazole and have shown potential for better outcomes for MDR-TB treatments. Delamanid and Pretomanid are both orally administered; they inhibit the synthesis of mycolic acids and are active against both replicating and anaerobic, nonreplicating *M. tuberculosis* persisters. ⁽⁴²⁻⁵¹⁾

GROUP D3

The group D3 contains drugs with limited safety and efficacy data to support its use against TB. Para-aminosalicylic acid (PAS), Figure 10.1, Thioacetazone, Figure 10.2, and also, carbapenems, as Imipenem and Meropenem (both represented in the Figure 13), are part of this class. ⁽⁵²⁾

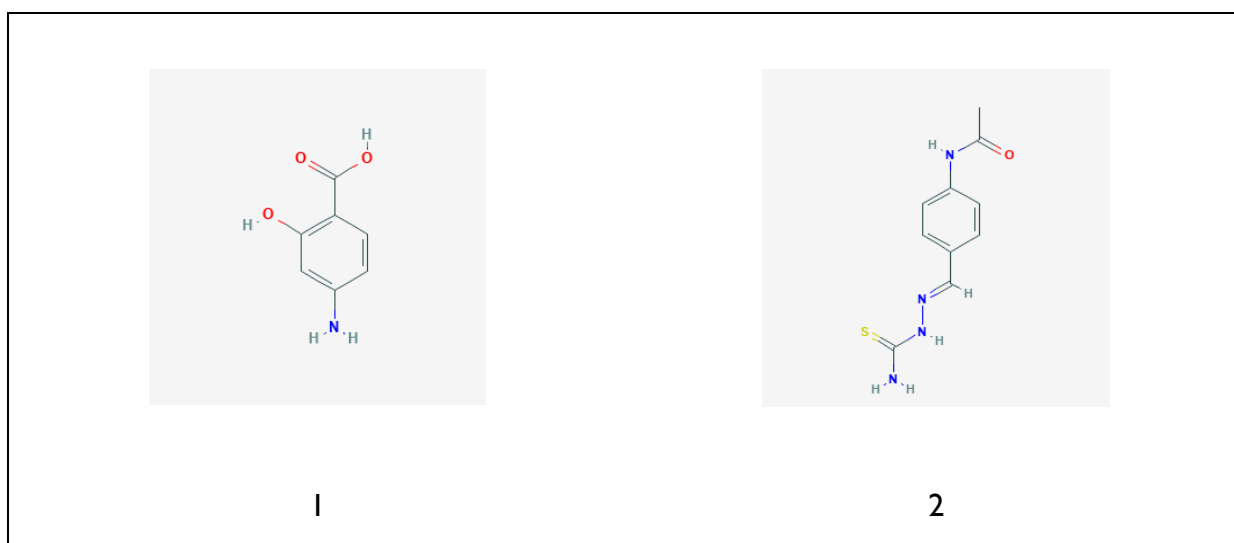


Figure 10 – 1 - **Para-aminosalicylic acid (PAS)** – classification: pro-drug that generates a hydroxyl dihydrofolate antimetabolite, which in inhibits dihydrofolate reductase (DHFR) enzymatic activity; 2 - **Thioacetazone** – classification: oral antibiotic that interferes with mycolic acid synthesis.

6. Characterization of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) and types of treatment

Sometimes, *M. tuberculosis* develops resistance against the antimicrobial drugs used to treat TB. ⁽²⁾

There are different types of TB drug resistance. The designated mono-resistance refers to resistance to a first-line drug. On the other hand, it is called poly-resistance, when there is resistance to more than one first-line drug, except for simultaneous resistance to isoniazid and rifampicin. In the circumstances, in which there is resistance to at least these two drugs, that are considered the most effective anti-TB drugs, we are facing MDR-TB. The XDR-TB is a form of MDR-TB that is also resistance to any fluoroquinolone and at least one of the second-line injectable drugs (amikacin, kanamycin or capreomycin). RR-TB is considered as long as it has been detected using phenotypic or genotypic methods, with or without resistance to other anti-TB drugs. ⁽⁵³⁾ According to WHO, MDR-TB is one of the biggest public health threats and in 2018, there were about half a million new cases of RR-TB, and almost 80% of them, has resistant also to isoniazid. ⁽²⁾

Nowadays there are still cases of MDR-TB which are caused by two fundamental reasons: mismanagement of TB treatments, and person-to-person transmission. Nevertheless, the inappropriate use of antimicrobial drugs, the use of ineffective formulations, and also, the premature interruption of the treatments, are factors that can be associated with the appearance of MDR-TB. MDR-TB can be highly transmitted in prisons and hospitals, and the options of treatment are limited, expensive, and characterized for the experiencing of many adverse effects. ⁽⁵⁴⁾

There are two different types of MDR-TB treatment: shorter regimen and longer regimen. The shorter regimen lasts between 9 and 12 months, being indicated, for example, when patients with documented MDR or RR-TB, have not been subjected to second-line drugs for more than one month. Another target audience for the use of this type of treatment, are the patients who do not show resistance to treatment with fluoroquinolones, neither to second-line injectable agents. ⁽⁶⁾

On the other hand, the MDR-TB longer regimen, have a duration of at least 18 months, being designed to include more than one second-line drug, considered effective, based on the patient's clinical history and documented resistance patterns. When longer-regimen are applied, three agents belonging to group A, and at least one from group B, are immediately prescribed. ⁽⁶⁾

7. Discovery and optimization of new active compounds against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

The application of incorrect dosages, and the fact that some people interrupt the treatments before the supposed, as well as the fact that the bacilli of tuberculosis has the capacity to cause latent infections, have potentiated the risk of MDR-TB. The current drugs used to treat TB are frequently associated with specific resistance mutations. ^(8,10)

It is crucial to optimize the treatment of MDR-TB, which is a huge clinical challenge. In this chapter, some drug discovery approaches that may originate more effective treatment regimens in the case of drug resistance, are presented.

In the last few years, the first new anti-TB drugs were approved, after a period of fifty years without innovation. The contribution of governmental and non-governmental programs, as well as funding from various pharmaceutical industries, contributed significantly to these developments. In addition, the STOP TB Partnership has contributed to a greater organization of clinical and non-clinical information, increasing the awareness of the population regarding MDR-TB. ⁽⁵⁵⁾

We must also highlight the recent technological advances that have allowed us to a better understanding of the life cycle of *M. tuberculosis*. Among these advances, it is important to mention the importance of genomics, imaging of drug distribution within the infected lung and screening under defined growth conditions. ^(56–59)

Genomics allows the development of drugs for more specific therapeutic targets, as well as to detect similarities with targets existing in other bacteria. ⁽⁵⁹⁾ Technologies that allow the detection of the image of the drug distribution, allows a better understanding of the distribution of drugs used to treat TB in the lungs of patients, and even to understand how this exposure can be compared with rodent models of infection by *M. tuberculosis*. ⁽⁶⁰⁾ The screening of *M. tuberculosis* under defined growth conditions, gives the opportunity to represent the microenvironments of the bacteria's life cycle. ⁽⁶¹⁾

The prevalence of resistance to first-line therapies, and the poor efficacy and safety of second-lines therapies, potentiated the need of developing new treatment regimens that can be, simultaneously, efficient, and well-tolerated. It is why, the interest of reanalyzing the potential of using β -lactams for treatment of DR-TB came back recently. ⁽¹⁰⁾

The use of β -lactams, could be introduced, essentially in developing countries, for patients with limited options for their treatments, once this class of antibiotics are economic accessible, with safety proven and with a quick clinic implementation. The activity of the β -lactams results

from the inhibition of peptidoglycan synthesis and metabolism, being the carbapenems considered the most suitable β -lactams in the treatment of *M. tuberculosis*.^(62–64) Therefore, in the next chapters I will focus, particularly, on the strategies that target the peptidoglycan against TB.

7.1. Strategies that target the peptidoglycan structure against TB

M. tuberculosis cell envelope comprises three essential structures: a long chain of mycolic acids, a highly branched arabinogalactan polysaccharide, and a very cross-linked meshwork of peptidoglycan. All this complex, called mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan (mAGP) is essential for the viability and capacity of virulence of *M. tuberculosis*, and can modulate the innate immune response. It is also proved that the constitution of this complex acts as a barrier, responsible for the intrinsic resistance of *M. tuberculosis* against many drugs.^(65–67)

The cell wall of *M. tuberculosis* is linked with the genetic differences among different lineages of *M. tuberculosis*, and its peptidoglycan layer is linked with the immunogenic activity of the cell wall. Peptidoglycan have a huge number of subtleties that allow *M. tuberculosis* to survive inside the host, resisting to different antibiotics.⁽⁶⁸⁾

Peptidoglycan is a polymer of glycan blocks and peptides. The last reaction in peptidoglycan synthesis involves a transpeptide bond, linking two amino acids in adjacent peptide chains by transpeptidases. Historically, the model used to describe the biosynthesis of peptidoglycan is influenced by observations from model organisms as *Escherichia coli*, which considers that there is only one class of transpeptidases, namely D,D-transpeptidases (DDTs), that use 4 \rightarrow 3 linkages to glue their peptidoglycan layer.⁽⁶⁴⁾

However, it was reported that in *M. tuberculosis* peptidoglycan, 80% of the stem peptides were linked between the third amino acid of one peptide to the third amino acid of another, establishing a 3 \rightarrow 3 transpeptide bond.⁽⁶⁹⁾ These linkages are generated by a new enzyme class, referred to as L,D-transpeptidases (LDTs).^(70–72) The synthesis of *M. tuberculosis* peptidoglycan involves LDTs and DDTs, with 3 \rightarrow 3 and 4 \rightarrow 3 links being generated, respectively. It is essential to inhibit both enzymes (LDTs and DDTs) to prevent PG synthesis and kill *M. tuberculosis*.^(73,74)

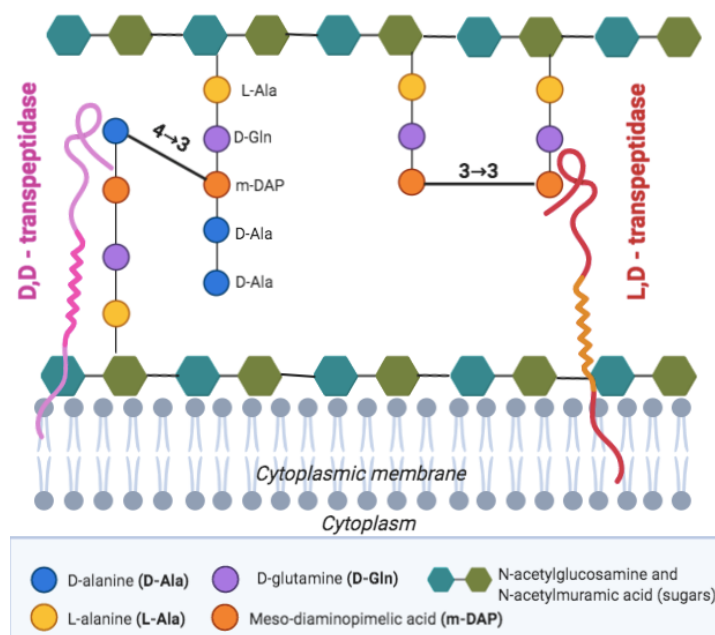


Figure 11 – Model of *M. tuberculosis* peptidoglycan. ⁽¹⁰⁾

7.2. Potential of β -lactams for treating MDR-TB

Compounds belonging to β -lactams family are the most used class of antibiotics against bacterial infections in humans, owning a well-established efficacy and safety in clinical use against a big number of pathogenic bacteria, including *M. tuberculosis*. ⁽⁷⁵⁾ The activity of the β -lactams results from the inhibition of peptidoglycan synthesis and metabolism. ⁽⁶⁴⁾ β -lactams have the ability to mimic D-alanyl-D-alanine, or the structure and the chemical composition of the free end of the peptide side chains before they are crosslinked by transpeptidases. ⁽⁷⁶⁾ β -lactams are able to prevent peptidoglycan synthesis through enzymatic binding. An intermittent administration of antibiotic during the pharmacological treatment, allows the maintenance of enzyme inhibition, resulting in an inhibition of cell wall synthesis and eventual death of bacteria. ⁽⁷⁷⁾

The five main classes of β -lactam antibiotics in clinical use today have in common a four-membered ring. This ring is capable to mimic the peptide bond existent in native substrates in bacteria. These classes, represented in the Figure 12, include penicillins, cephalosporins, monobactams, carbapenems and penems. ⁽¹⁰⁾

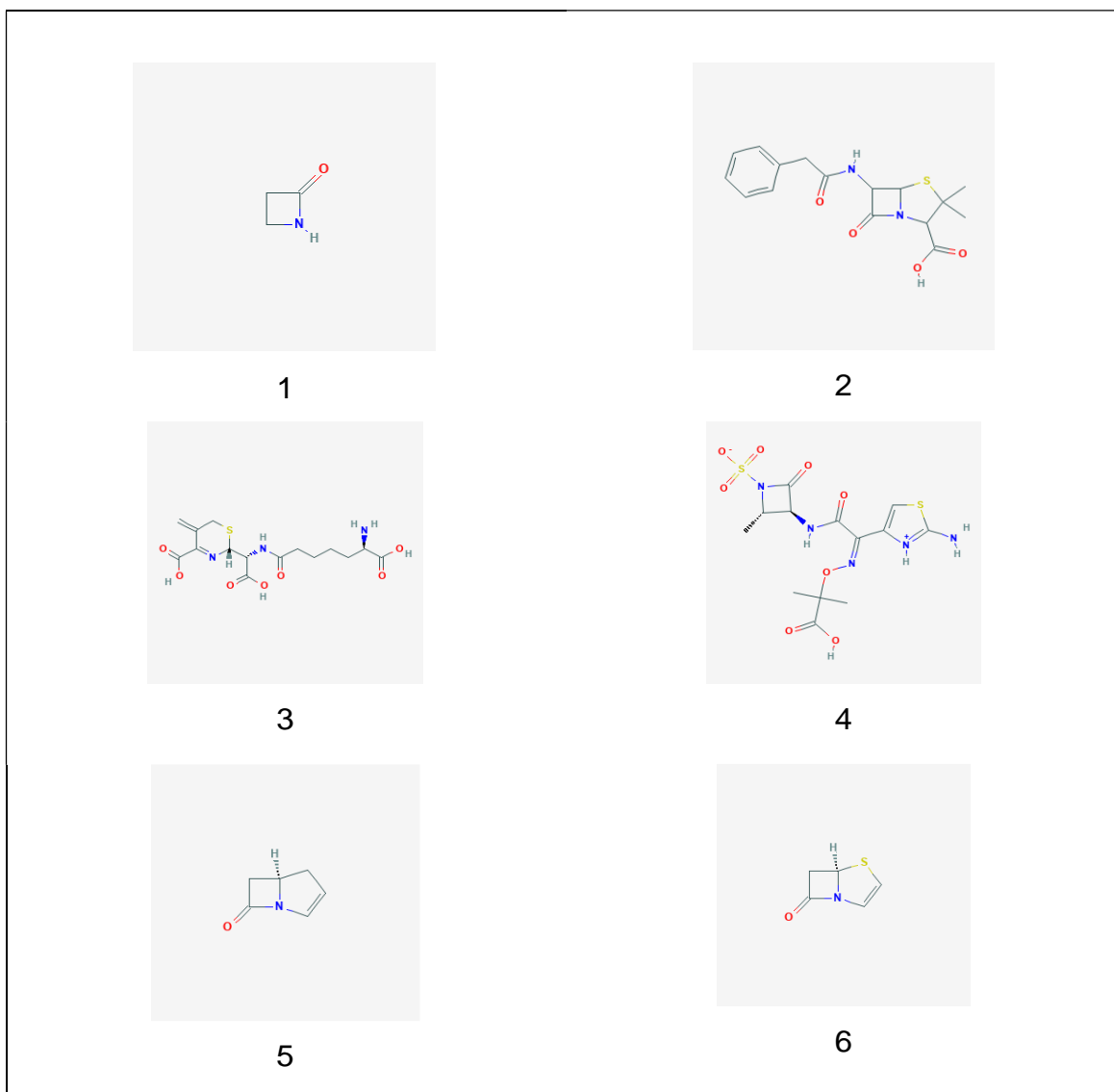


Figure 12 – Structures of the β -lactam core and of the five major categories of β -lactam antibiotics. 1 - β -lactam core; 2 - Penicillin; 3 - Cephalosporin; 4 - Monobactam; 5 - Carbapenem; 6 - Penem.

M. tuberculosis have a strong β -lactamase that can inactivate β -lactams, and in the 90s decade it was considered the most probable reason why penicillins and cephalosporins were not truly efficient against *M. tuberculosis*. This β -lactamase, called BlaC, is chromosomally encoded and can strongly hydrolyze penicillins and cephalosporins turning them ineffective. ^(67,78) Nevertheless, the use of β -lactamase inhibitor, such as clavulanate, as a companion agent, can minimize the minimum inhibitory concentration (MIC) of penicillins and cephalosporins against *M. tuberculosis*. ^(79,80)

Penems were recently developed, and are the least known β -lactams, and there is only one drug available, within this class, faropenem. Penems differ from carbapenems by the existence

of a sulfur atom instead of a carbon atom in its bicyclic ring structure, improving their chemical stability. ⁽⁸¹⁾

As mentioned before, it is essential to inhibit both enzymes (LDTs and DDTs) to prevent PG synthesis and destroy *M. tuberculosis*. ^(73,74) Penicillin G (penicillin), ceftriaxone (a cephalosporin) and imipenem (a carbapenem) provided evidence of binding and inhibition of a DDT in *M. tuberculosis*. ⁽⁸²⁾ There is also scientific evidence that penicillins do not inhibit LDTs in *M. tuberculosis*. ⁽⁶¹⁾ Some cephalosporins inhibit LDTs, however they are less effective, when compared to carbapenems. ⁽⁸³⁾ When compared to other classes of β -lactams, carbapenems provided evidence of bind more tightly and react more strongly with LDTs of *M. tuberculosis* than the other molecules. ^(61,84)

Carbapenems are also considered the most suitable β -lactams in the treatment of *M. tuberculosis*, because they target the high-molecular-weight penicillin-binding proteins and are less favorable substrates for the *M. tuberculosis* β -lactamase BlaC, which inactivate a large part of the other β -lactams. ^(83,85) Therefore, the current scientific evidence on the activity of carbapenems against *M. tuberculosis* deserves to be further explored.

7.3. Carbapenems against *M. tuberculosis*

The WHO anti-TB classification, includes carbapenems in group D3, which indicates that safety and efficacy information to support its use against TB is limited and should not be considered as an alternative regimen designated to treat TB. ⁽⁸⁶⁾

Carbapenems are potent inhibitors of BlaC and are relatively resistant to the hydrolytic activity of this β -lactamase. Carbapenems have also the capacity of inhibit some of the enzymes that contribute to the assembly of mycobacterial peptidoglycan. As mentioned earlier, the synthesis of *M. tuberculosis* peptidoglycan involves both LDTs and DDTs, with 3 \rightarrow 3 and 4 \rightarrow 3 links being generated, respectively. There is scientific evidence that carbapenems inhibit both enzymes, a fact that increases their efficacy in killing *M. tuberculosis*. It was also observed a synergistic effect of carbapenem with rifampicin against rifampicin-resistant clinical isolates of *M. tuberculosis*. ⁽⁸⁷⁻⁹⁰⁾ The clinical carbapenems that are used today are shown in the figure below (Figure 13).

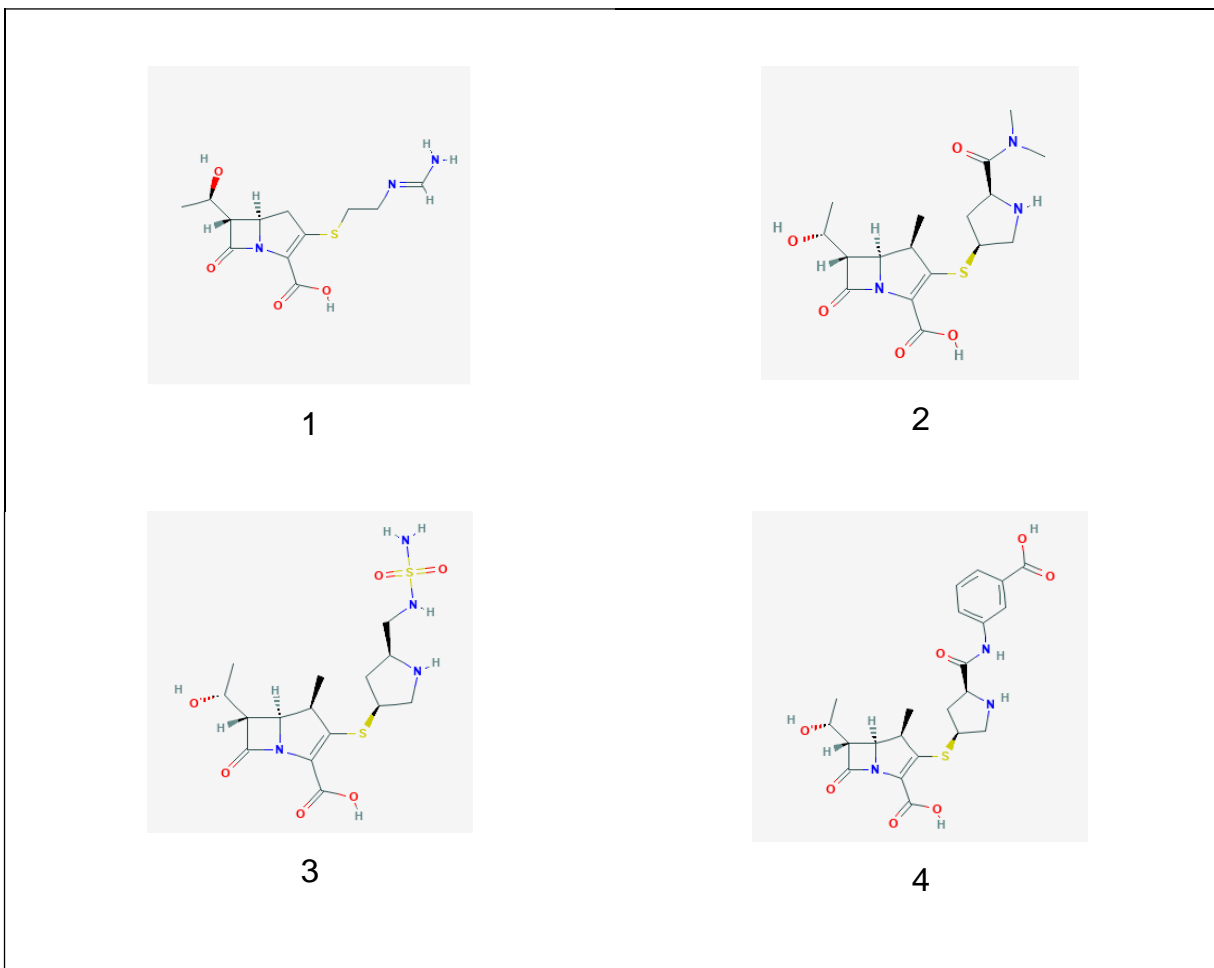


Figure 13 – Carbapenems: most relevant structures 1 - **Imipenem**; 2 - **Meropenem**; 3 - **Doripenem**; 4 - **Ertapenem**.

A combinatorial treatment based on the use of the β -lactamase inhibitor clavulanate and meropenem has shown effectiveness against actively replicating and non-replicating XDR *M. tuberculosis* isolates. ⁽⁸⁰⁾

Clinical studies indicated that there are advantages in carbapenem use as they are usually well-tolerated, despite the variance in the extent of the treatment, dosing, and the limited pharmacokinetic data of the effectiveness of these antibiotics against TB. Mutations in cell wall biosynthesis genes have been associated with resistance to different carbapenem, such as imipenem and meropenem. ^(88,91)

One possible alternative may involve the modification of carbapenems making them more effective, tolerable, stable and specific against *M. tuberculosis*. ⁽⁹²⁾

Conclusion

According to WHO the treatment goals of TB are: to cure sick patients, avoiding death and recurrences, to decrease the transmission of *M. tuberculosis*, as well as the resistance to the antibiotics. TB treatment saved 58 million lives worldwide, between 2000 and 2018. When the treatment is well implemented, cure levels are around 85%.

TB is never treated using only one drug, and the therapeutic schemes used are based on an understanding of the morphology of *M. tuberculosis*, the physiology of the host and the intrinsic activities of the drugs. According to WHO, multidrug-resistant TB is one of the biggest public health threats and, in 2018, there were about half a million new cases of RR-TB, and almost 80% of them, has resistant also to isoniazid.

Recent technological advances have allowed us to better understand the life cycle of *M. tuberculosis*. Among these advances, it is important to mention the importance of genomics, imaging of drug distribution within the infected lung and screening under defined growth conditions. The high prevalence of resistance to the antibiotics used in the treatment of TB, exponentially increases the need to develop an optimal regimen in order to deal more effectively with this disease. It is necessary to develop cheaper formulations, with higher availability and that allow treatments that do not require complicated logistics. As mentioned before, for patients with drug-resistant TB, essentially in developing countries, the use of β -lactams could be introduced, since this class of antibiotics are economically accessible, with safety proven and with a quick clinic implementation.

The most recent scientific evidence demonstrated that carbapenems may be considered the most promising β -lactams in the treatment of multidrug-resistant TB.

However, carbapenems are broad-spectrum agents, and their continued use may increase the risk of resistance to other organisms. We should also remember that these antibiotics have been included in subclass D3, by the World Health Organization, and should be used only if other options are unavailable, due to resistance or intolerance. One possible alternative may involve the modification of carbapenems making them more effective, tolerable, stable and specific against *M. tuberculosis*.⁽⁹²⁾ Nevertheless, it is necessary to conduct further studies related to the discovery and development of therapies that increase the effectiveness of currently available treatments and of enzymes that target the peptidoglycan metabolism, which is not currently considered a therapeutic target in the treatment of tuberculosis.

Bibliography

1. MEDCALF, A.; ALTINK, H.; SAAVEDRA, M.; BHATTACHARYA, S. – **Tuberculosis A Short History**. *The University of York, Centre Global Health Histories*; (2013). 60.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Global Tuberculosis Report**. (2019).
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **New WHO recommendations to prevent tuberculosis aim to save millions of lives** [Accessed on 12th of March, 2020]. Available on the internet: <https://www.who.int/news-room/detail/24-03-2020-new-who-recommendations-to-prevent-tuberculosis-aim-to-save-millions-of-lives>
4. CAMPOS, S. – **Tuberculosis: etiopathogenesis and clinical presentations**. (2006); *15*(1):29–35.
5. DELOGU, G.; SALI, M.; FADDA, G. – **The biology of mycobacterium tuberculosis infection**. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. (2013); *5*(1).
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment**. (2019).
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care**. *Kekkaku*. (2017).
8. HOAGLAND, D.T.; LIU, J.; LEE, R.B.; LEE, R.E. – **New agents for the treatment of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis**. *Adv Drug Deliv Rev*. (2016); *102*:55–72.
9. SLOAN, D.J.; LEWIS, J.M. – **Management of multidrug-resistant TB: Novel treatments and their expansion to low resource settings**. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. (2015); *110*(3):163–72.
10. STORY-ROLLER, E.; LAMICHHANE, G. – **Have we realized the full potential of β -lactams for treating drug-resistant TB?** *IUBMB Life*. (2018); *70*(9):881–8.
11. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **WHO Consolidated Guidelines on Tuberculosis**. (2020).
12. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **World Health Organization Information Note: Tuberculosis and COVID-19** (2020) [Accessed on 20th of May, 2020]. Available on the internet: <https://www.who.int/docs/default-source/documents/tuberculosis/infonote-tb-covid-19.pdf>

13. **Tuberculosis: History.** – [Accessed on 12th of February, 2020]. Available on the internet: <https://www.nationaljewish.org/conditions/tuberculosis-tb/history>
14. BYNUM, H. – **Tuberculosis, A Short History.** *Orient BlackSwan, University of York.* (2013). 1–2.
15. GRADMANN, C. – **Tuberculosis, A Short History.** *Orient BlackSwan, University of York.* (2013). 11.
16. BRIMNES, N. – **Tuberculosis, A Short History.** *Orient BlackSwan, University of York.* (2013). 19–20.
17. FARIA, R. – **Tuberculose, doença social. Conferências da Liga Portuguesa de Profilaxia Social;** (1936). 161.
18. PROENÇA, M.C. – **D. Manuel II.** (2006).
19. RODRIGUES, A.B. – **A phtisica pulmonar e sua curabilidade.** *Typ. da Real Officina de S. José;* (1895). 37–40.
20. VIEIRA, I.C. – **Conhecer , tratar e combater a “peste branca”. A tisiologia e a luta contra a tuberculose em Portugal (1853-1975).** (2012). 500.
21. **Assistência Nacional aos Tuberculosos: os seus anos 50.** – *Hospitais Portugueses.* (1949); 4:30.
22. **Tuberculose Em Portugal - Desafios e Estratégias.** – *Acta Med Port.* (2018).
23. SOUSA, J.; FERREIRA, W.; **Mycobacterium.** – *Lidel. Edições Técnicas.* (2000). 85–98.
24. FENTON, M.; VERMEULEN, M. – **Immunopathology of tuberculosis: roles of macrophages and monocytes.** (1996). 64:683-90.
25. DARTOIS, V. – **The path of anti-tuberculosis drugs: from blood to lesions to mycobacterial cells.** 12th ed. *Nat Rev Microbiol;* (2014). 159–167.
26. FENTON, M.J.; VERMEULEN, M.W. – **Immunopathology of tuberculosis: Roles of macrophages and monocytes.** *Infect Immun.* (1996);64(3): 683–90.
27. TORRELLES, J.B.; SCHLESINGER, L.S. – **Integrating Lung Physiology, Immunology, and Tuberculosis.** *Trends Microbiol.* (2017);25(8): 688–97.
28. CARDONA, P.J. – **Pathogenesis of tuberculosis and other mycobacteriosis.** *Enfermedades Infecc y Microbiol Clin* (2018); 36(1):38–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimce.2017.10.009>

29. AHMAD, S. – **Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent mycobacterium tuberculosis infection.** *Clin Dev Immunol.* (2011).
30. NIEDERWEIS, M.; WOLSCHEENDORF, F.; MITRA, A.; NEYROLLES, O. – **Mycobacteria, Metals, and the Macrophage.** *Physiol Behav.* (2015);176(1):139–48.
31. TOMALTY, L.; DELISLE, G. – **Mycobacterium Tuberculosis.** (2009) [Accessed on 12th of March, 2020]. Available on the internet: <https://www.asmscience.org/content/education/imagegallery/image.2946>
32. NOGUEIRA, A.; FACCHINETTI, V.; SOUZA, M.; VASCONCELOS, T. – **Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos.** (2012);93(1):3–9.
33. **10 facts on tuberculosis** – [Accessed on 24th of April, 2020]. Available on the internet: <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/tuberculosis>
34. SCHITO, M.; MIGLIORI, G.B.; FLETCHER, H.A.; MCNERNEY, R.; CENTIS, R.; D’AMBROSIO, L. – **Perspectives on Advances in Tuberculosis Diagnostics, Drugs, and Vaccines.** *Clin Infect Dis.* (2015);61(3):102–18.
35. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Implementing Tuberculosis Diagnostics Policy Framework.** (2015).
36. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **TBXpert Project.** (2016).
37. **Preventing TB** – [Accessed on 14th of April, 2020]. Available on the internet: <https://www.who.int/activities/preventing-tb/>
38. **Novo Programa Nacional de Vacinação.** – [Accessed on 18th of April, 2020]. Available on the internet: <https://www.dgs.pt/em-destaque/novo-programa-nacional-de-vacinacao2.aspx>
39. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care.** (2017).
40. BENTO, J; SILVA, A.; RODRIGUES, F.; DUARTE, R. – **Métodos diagnósticos em tuberculose.** *Acta Med Port.* (2011);24(1):145–54.
41. TIBERI, S.; SCARDIGLI, A.; CENTIS, R.; D’AMBROSIO, L.; MUÑOZ-TORRICO, M.; SALAZAR-LEZAMA, M. – **Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives.** *Int J Infect Dis.* (2016);56:181–4.
42. GLER, M.; SKRIPCONOKA, V.; SANCHEZ-GARAVITO, E.; ET AL. – **Delamanid for multidrug resistant pulmonary tuberculosis.** *N Engl J Med.* (2012); 366(21):51–60.

43. SKRIPCONOKA, V.; DANILOVITS, M.; ET AL. – **Delamanid improves outcomes and reduces mortality in multidrug-resistant tuberculosis.** *Eur Respir J.* (2013); 41(1):393–400.
44. DIACON, A.; DAWSON, R.; SYMONS, G.; ET AL. – **14-day bactericidal activity of PA-824, bedaquiline, pyrazinamide, and moxifloxacin combinations: a randomised trial.** *Lancet.* (2012); 380(9):86–93.
45. DAWSON, R.; EVERITT, D.; ET AL. – **Efficiency and safety of the combination of moxifloxacin, pretomanid (PA-824), and pyrazinamide during the first 8 weeks of antituberculosis treatment: a phase 2b, open-label, partly randomised trial in patients with drug-susceptible or drug-resistant pulmonary tuberculosis.** *Lancet.* (2015); 385(17):38–47.
46. DIACON, A.; DAWSON, R.; VON, GROOTE-BIDLINGMAIER.; ET AL. – **Bactericidal activity of pyrazinamide and clofazimine alone and in combinations with pretomanid and bedaquiline.** *Am J Respir Crit Care Med.* (2015); 191(9):43–53.
47. MATSUMOTO, M.; HASHIZUME, H.; TOMISHIGE, T. – **OPC-67683, a nitroimidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice.** *PLoS Med.* (2006); 3(466).
48. DIACON, A.; DAWSON, R.; HANEKOM, M. – **Early bactericidal activity of delamanid (OPC-67683) in smear-positive pulmonary tuberculosis patients.** *Int J Tuberc Lung Dis.* (2011); 15(9):49–54.
49. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **The use of delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. Interim policy guidance.** (2014).
50. ESPOSITO, S.; D'AMBROSIO, L.; TADOLINI, M. – **ERS/WHO Tuberculosis Consilium assistance with extensively drug-resistant tuberculosis management in a child: case study of compassionate delamanid use.** *Eur Respir J.* (2014); 44(81):1–5.
51. DIACON, A.; PYM, A.; GROBUSCH, M.P. – **Multidrug-resistant tuberculosis and culture conversion with bedaquiline.** *N Engl J Med.* (2014); 371(7):23–32.
52. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis.** (2016).

53. **TB drug resistance types.** – [Accessed on 15th of February, 2020]. Available on the internet: <http://www9.who.int/tb/areas-of-work/drug-resistant-tb/types/en/>
54. RENDON, A.; CENTIS, R.; D'AMBROSIO, L.; MIGLIORI, G.B. – **WHO strategies for the management of drug-resistant tuberculosis.** *Arch Bronconeumol.* (2017); 53(3):95–7.
55. ZUMLA, A.; NAHID, P.; COLE, S. – **Advances in the development of new tuberculosis drugs and treatment regimens.** *Nat Rev Drug Discov.* (2013); 12:388–404.
56. IOERGER, T.; O'MALLEY, T.; LIAO, R.; GUINN, K.; HICKEY, M.; MOHAIDEEN, N. – **Identification of New Drug Targets and Resistance Mechanisms in Mycobacterium tuberculosis.** *PLoS One.* (2013); 8(9).
57. SCHUBERT, O.T.; MOURITSEN, J.; LUDWIG, C.; RÖST, H.L.; ROSENBERGER, G.; ARTHUR, P.K. – **The Mtb Proteome Library: A Resource of Assays to Quantify the Complete Proteome of Mycobacterium tuberculosis.** *Cell Host Microbe.* (2013); 13(5):602–12.
58. COHEN, K.A.; ABEEL, T.; MCGUIRE, A.M.; DESJARDINS, C.A.; MUNSAMY, V.; SHEA, T.P. – **Evolution of extensively drug-resistant tuberculosis over four decades revealed by whole genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis from KwaZulu-Natal, South Africa.** *Int J Mycobacteriology* (2015); 4:24–5.
59. CASALI, N.; NIKOLAYEVSKYY, V.; BALABANOVA, Y.; ET AL. – **Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population.** *Nat Genet.* (2014); 46:279–286.
60. PRIDEAUX, B.; VIA, L.E.; ZIMMERMAN, M.D.; EUM, S.; SARATHY, J.; O'BRIEN, P. – **The association between sterilizing activity and drug distribution into tuberculosis lesions.** *Nat Med.* (2015); 21(10):1223–7.
61. KUMAR, K.; ABUBAKAR, I. – **Clinical implications of the global multidrug-resistant tuberculosis epidemic.** *Clin Med (Northfield Il).* (2015); 15(6):37–42.
62. NADLER, J.; BERGER, J.; NORD, J.; COFSKY, R.; SAXENA, M. – **Amoxicillin-clavulanic acid for treating drug-resistant Mycobacterium tuberculosis.** (1991); 99:1025–6.
63. YEW, W.; WONG, C.; LEE, J.; WONG, P.; CHAU, C. – **Do β -lactam- β -lactamase**

- inhibitor combinations have a place in the treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis?** *Tubercle Lung Dis Off J Int Union against Tuberc Lung Dis.* (1995); 76:90–2.
64. MAHAPATRA, S.; BASU, J.; BRENNAN, P.; CRICK, D. – **Structure, Biosynthesis, and Genetics of the Mycolic Acid-Arabinogalactan Peptidoglycan Complex.** (2005); 275–85.
 65. BRENNAN, P.J.; NIKAIIDO, H. – **The envelope of mycobacteria.** *Annu Rev Biochem.* (1995); 64:29–63.
 66. NASIRI, M.J.; HAEILI, M.; GHAZI, M.; GOUDARZI, H.; PORMOHAMMAD, A.; IMANI, A. – **New insights in to the intrinsic and acquired drug resistance mechanisms in mycobacteria.** *Front Microbiol.* (2017); 8(681).
 67. WANG, F.; CASSIDY, C.; SACCHETTINI, J.C. – **Crystal structure and activity studies of the Mycobacterium tuberculosis β -lactamase reveal its critical role in resistance to β -lactam antibiotics.** (2006); 50(8):2762–2771.
 68. GYGLI, S.M.; BORRELL, S.; TRAUNER, A.; AND GAGNEUX, S. – **Antimicrobial resistance in Mycobacterium tuberculosis: mechanistic and evolutionary perspectives.** *FEMS Microbiol.* (2017); 41:354–373.
 69. WIETZERBIN, J.; LEDERER, E.; ET AL. – **Occurrence of D-alanyl-(D)-meso-diaminopimelic acid and meso- diaminopimelyl-meso-diaminopimelic acid interpeptide linkages in the peptidoglycan of Mycobacteria.** (1975); 13(17):3471–3476.
 70. LAVOLLAY, M.; ARTHUR, M.; ET AL. – **The peptidoglycan of stationary-phase Mycobacterium tuberculosis predominantly contains cross-links generated by L,D-transpeptidation.** *J Bacteriol.* (2008); 190(12): 4360–6.
 71. GUPTA, R.; LAVOLLAY, M.; ET AL. – **The Mycobacterium tuberculosis protein LdtMt2 is a nonclassical transpeptidase required for virulence and resistance to amoxicillin.** *Nat Med.* (2010);16(4):466–9.
 72. SANDERS, A.; WRIGHT, L.; PAVELKA, M.J. – **Genetic characterization of mycobacterial L,D-transpeptidases.** (2014); 160(8):1795–806.
 73. KIESER, K.J.; BARANOWSKI, B.; ET AL. – **Peptidoglycan synthesis in Mycobacterium tuberculosis is organized into networks with varying drug susceptibility.**

- Proc Natl Acad Sci U S A.* (2015); *112*(42):13087–13092.
74. KUMAR, P.; KAUSHIK, A.; ET AL. – **Non-classical transpeptidases yield insight into new antibacterials.** *Nat Chem Biol.* (2017); *13*(1):54–61.
 75. HAMAD, B. – **The antibiotics market.** *Nat Rev Drug Discov.* (2010); *9*:675–6.
 76. PARK, J.; STROMINGER, J. – **Mode of action of penicillin.** (1957); *125*(3238):99–101.
 77. WAXMAN, D.; STROMINGER, J. – **Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of β -lactam antibiotics.** *Annu Rev Biochem.* (1983);*52*:825–869.
 78. KASIK, J. – **Mycobacterial β -lactamases.** *Acad Press.* (1979);339–350.
 79. SORG, T.; CYNAMON, M. – **Comparison of four β -lactamase inhibitors in combination with ampicillin against *Mycobacterium tuberculosis*.** *J Antimicrob Chemother.* (1987);*19*(1):59– 64.
 80. SOLAPURE, S.; DINESH, N.; SHANDIL, R.; RAMACHANDRAN, V.; SHARMA, S.; BHATTACHARJEE, D. – **In vitro and in vivo efficacy of β -lactams against replicating and slowly growing/non-replicating *Mycobacterium tuberculosis*.** *Antimicrob Agents Chemother.* (2013);*57*:2506–10.
 81. SCHUREK, K.N. – **Faropenem: review of a new oral penem.** *Expert Rev Anti Infect Ther.* (2007);*5*(2):185–98.
 82. FEDAROVICH, A.; NICHOLAS, R.; DAVIES, C. – **The role of the β 5- α 11 loop in the active-site dynamics of acylated penicillin-binding protein A from *Mycobacterium tuberculosis*.** *J Mol Biol.* (2012);*418*(5):316–30.
 83. DUBÉE, V.; TRIBOULET, S.; ET AL. – **Inactivation of *Mycobacterium tuberculosis* L,D-transpeptidase LdtMt1 by carbapenems and cephalosporins.** *Antimicrob Agents Chemother.* (2012);*56*(8):4189–4195.
 84. STEINER, E.; SCHNEIDER, G. – **Binding and processing of β -lactam antibiotics by the transpeptidase LdtMt2 from *Mycobacterium tuberculosis*.** *FEBS J.* (2017);*284*(5):725–41.
 85. KELLY, E.D.; EKWARO, A.O.; NADZA, D.; VERA, B.; CAROLE, M.; ERIC, L.N. – **World Health Organization Group 5 Drugs for the Treatment of Drug-Resistant Tuberculosis: Unclear Efficacy or Untapped Potential?** *J Infect Dis.* (2013);*207*(9):1352–1358.

86. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Companion Handbook to the WHO Guidelines for the Programmatic Management of Drug-Resistant Tuberculosis.** (2014).
87. TREMBLAY, L.W.; FAN, F.; BLANCHARD, J.S. – **Biochemical and structural characterization of *Mycobacterium tuberculosis* β -lactamase with the carbapenems ertapenem and doripenem.** *Biochemistry.* (2010);49:3766–73.
88. KAUSHIK, A.; AMMERMAN, N.C.; TASNEEN, R.; STORY-ROLLER, E.; DOOLEY, K.E.; DORMAN, S. E – **In vitro and in vivo activity of biapenem against drug-susceptible and rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*.** *J Antimicrob Chemother.* (2017);72:2320–2325.
89. GUPTA, R.; LAVOLLAY, M.; MAINARDI, J.L.; ARTHUR, M.; BISHAI, W.R.; LAMICHHANEM, G. – **The *Mycobacterium tuberculosis* protein LdtMt2 is a nonclassical transpeptidase required for virulence and resistance to amoxicillin.** *Nat Med.* (2010);16:466–9.
90. BARANOWSKI, C.; WELSH, M.A.; SHAM, L.T.; ESKANDARIAN, H.A.; LIM, H.C.; KIESER, K. J. – **Maturing *Mycobacterium smegmatis* peptidoglycan requires non-canonical crosslinks to maintain shape.** (2018).
91. LUN, S.; MIRANDA, D.; KUBLER, A.; GUO, H.; MAIGA, M.C.; WINGLEE, K. – **Synthetic lethality reveals mechanisms of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to β -lactams.** (2014).
92. IANNAZZO, L.; SOROKA, D.; TRIBOULET, S. – **Routes of synthesis of carbapenems for optimizing both the inactivation of I, d-transpeptidase LdtMtI of *Mycobacterium tuberculosis* and the stability toward hydrolysis by β -lactamase BlaC.** 59th ed. (2016). 3427–3438 p.