



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Bárbara Tadeu Tavares

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Pseudomonas aeruginosa* e Resistência aos Beta-Lactâmicos, Aminoglicosídeos e Fluoroquinolonas” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Cláudia Gama, da Dra. Cláudia Silvestre e da Professora Doutora Olga Maria Antunes Rodrigues Carvalho Cardoso, 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



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Bárbara Tadeu Tavares

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Pseudomonas aeruginosa* e Resistência aos Beta-Lactâmicos, Aminoglicosídeos e Fluoroquinolonas” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Cláudia Gama, da Dra. Cláudia Silvestre e da Professora Doutora Olga Maria Antunes Rodrigues Carvalho Cardoso e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020

Eu, Ana Bárbara Tadeu Tavares, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015239220, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Pseudomonas aeruginosa* e Resistência aos Beta-Lactâmicos, Aminoglicosídeos e Fluoroquinolonas” 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 de opiniões pessoais.

Coimbra, 25 de setembro de 2020.

Ana Bárbara Tadeu Tavares

(Ana Bárbara Tadeu Tavares)

AGRADECIMENTOS

À minha “Madrinha”, a minha primeira professora e quem tanto me ensinou. A que sempre cuidou de mim e possibilitou a chegada deste dia. Sem ela nada disto seria possível.

À Avó Mimi e ao Avô João, as minhas duas maiores estrelas no céu. Houvessem palavras para o quanto eu vos agradeço e o quanto vos queria aqui. Guardo-vos para sempre e com todo o carinho no meu coração.

À Avó São, por toda a preocupação e ternura. A quem sempre fez por me mostrar o lado bom das coisas, mesmo quando ele parecia não existir.

Aos meu pais, por me terem criado segundo os melhores valores, por me ensinarem o verdadeiro significado do amor e por sempre me apoiarem, em qualquer etapa da minha vida. Obrigada por todos os sacrifícios e por todas as oportunidades que deles decorreram.

Em especial, à minha mãe, o meu refúgio, por ser o maior exemplo de mulher que tenho.

À minha irmã, o maior orgulho que tenho na vida. A quem me ensinou que a vida é melhor na partilha. A quem me ensinou a limpar as lágrimas e lutar pelos meus objetivos. A quem é genuinamente bonita, por dentro e por fora. Obrigada por tudo o que permitiste que eu aprendesse contigo. Se sou a mulher que sou hoje, muito a ti o devo.

Ao Sr. Américo, à Gracinha, à Aninhas e à Teresinha, uma segunda família que estará para sempre no meu coração. Ao Sr. Mário, que nunca permitiu que eu desistisse dos meus sonhos. Sei bem que estará sempre a olhar por mim, por nós.

Ao Francisco, por ser (sempre) o meu porto de abrigo. Por ser aquele que, mesmo estando longe, faz de tudo para poder estar perto. Obrigada por seres a minha força nos momentos de quebra e por sempre me relembrares que desistir nunca é opção. Por toda a paciência, carinho e amor, o meu profundo obrigada.

À Catarina, à Daniela e à Rute, a melhor companhia que poderia ter tido durante estes cinco anos. A quem tornou tudo tão mais simples e descomplicado. A quem está sempre presente, independentemente do número de km que nos separam. Obrigada por me mostrarem que “casa” é qualquer sítio onde houver carinho e amor. A vocês, à nossa amizade e ao Vale das Gatas.

Ao Mano e ao Nuno, pelo companheirismo, pela amizade e por tornarem os meus dias tão mais risonhos.

Ao Smiguel, que demorou a apadrinhar-me, mas fê-lo tão bem. Obrigada por me guiares e me deixares guiar-te durante estes cinco anos.

Às eternas caloiras, Inês, Mestres e Nicole, por serem a minha segunda casa de Coimbra, com a qual sempre pude contar. Levo-vos para sempre no meu coração. Aos de sempre, à velha guarda, aos de Fornos. Aos que me ensinaram o verdadeiro significado da amizade. A quem tanto suportou durante os últimos cinco anos mas, também, quem sempre viveu comigo as minhas vitórias. A quem sempre se preocupou e sempre me apoiou, a cada passo que eu dava. A quem me faz sentir que tenho sempre um sítio para regressar a casa. Nada disto fazia sentido sem vocês. Não posso deixar de agradecer em especial ao meu companheiro de longa data, ao sempre-presente e eterno melhor-amigo, Hugo; à que nunca me falha, à parceira de todas as horas, Vanessa; à inconfundível Daniela; ao Rui Jorge; ao Nelson; ao Henrique; ao Daniel e ao Torres, obrigada pela luz e genuinidade que dão à minha vida, por nunca me terem vacilado e estarem sempre ao meu lado, para tudo.

À Professora Doutora Olga Cardoso, por todo o apoio, atenção e disponibilidade durante este percurso. Pela orientação e partilha de conhecimentos na elaboração desta monografia, o meu muito obrigada.

À pequena família da Farmácia de Celas, que tanto me ensinou e tornou o meu estágio tão mais feliz. Obrigada pela amizade e por me acolherem de braços abertos.

À Ana Paula e ao João Carlos Martins por toda a simpatia, companheirismo e integração no ambiente novo que foi a Bluepharma.

À minha restante família e a todos os que se cruzaram comigo e tornaram o meu percurso e a minha vida mais bonita, meu enorme obrigada.

E a ti, Coimbra. A cidade que me acolheu e que foi palco destes cinco anos incríveis. Pelas pessoas, momentos inesquecíveis e lições que me deste, só existe para mim uma palavra que demonstra verdadeiramente a minha gratidão para contigo: Saudade.

ÍNDICE

PARTE I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária	9
LISTA DE ABREVIATURAS	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. ANÁLISE SWOT	12
2.1. PONTOS FORTES (STRENGTHS)	12
2.1.1. Equipa	12
2.1.2. Plano de Estágio	13
2.1.3. Localização e Heterogeneidade dos Utentes	14
2.1.4. Metodologia <i>Kaizen</i>	14
2.1.5. Preparação de Manipulados	16
2.1.6. Diversidade de Serviços Farmacêuticos	16
2.1.7. Área da Cosmética	17
2.2. PONTOS FRACOS (WEAKNESSES)	18
2.2.1. Duração do Estágio Curricular	18
2.2.2. Insegurança e Limitações no Atendimento	18
2.2.3. Área da Veterinária	19
2.3. OPORTUNIDADES (OPPORTUNITIES)	20
2.3.1. Formação Complementar Contínua	20
2.3.2. Sifarma® 2000 e Novo Módulo de Atendimento	20
2.4. AMEAÇAS (THREATS)	21
2.4.1. Competitividade com Outros Estabelecimentos	21
2.4.2. Falta de Proximidade com o Utente	22
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
PARTE II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica	25
LISTA DE ABREVIATURAS	26
1. INTRODUÇÃO	27
1.1. Instituição: Bluepharma – Indústria Farmacêutica, S.A.	27
1.2. Controlo de Qualidade – Laboratório de Microbiologia	28
2. ANÁLISE SWOT	29
2.1. PONTOS FORTES (STRENGTHS)	29
2.1.1. Formação Contínua	29
2.1.2. Sistema de Comunicação Interna	30

2.1.3.	Plano de Estágio	31
2.1.4.	Metodologia Kaizen.....	34
2.2.	PONTOS FRACOS (WEAKNESSES)	35
2.2.1.	Registos.....	35
2.2.2.	Métodos de Análise Microbiológica.....	35
2.2.3.	Controlo Microbiológico de Formas Farmacêuticas	36
2.3.	OPORTUNIDADES (OPPORTUNITIES).....	36
2.3.1.	Acompanhamento de Outros Setores.....	36
2.3.2.	Auditorias	36
2.3.3.	Contacto com o Mercado Estrangeiro.....	37
2.4.	AMEAÇAS (THREATS).....	38
2.4.1.	Abordagem da Indústria Farmacêutica em MICF	38
2.4.2.	Medidas de Contingência na Bluepharma ao Abrigo da COVID-19	38
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
5.	ANEXOS	42
 PARTE III - Monografia		44
RESUMO		45
1.	INTRODUÇÃO	48
2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>.....	49
2.1.	Fatores de Virulência	49
2.1.1.	Estruturas Superficiais.....	49
2.1.2.	Produtos Extracelulares	49
2.1.3.	Sistemas de Secreção.....	50
2.1.4.	Produção de alginato.....	50
2.1.5.	Formação de Biofilmes	51
2.1.6.	Sistema de Sinalização por <i>Quorum Sensing</i>	51
2.2.	Epidemiologia das Infecções causadas por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53
3.	SUSCETIBILIDADE DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> AOS ANTIBIÓTICOS...56	
3.1.	Diagnóstico e Terapêutica	56
3.2.	Mecanismos de Ação.....	57
4.	RESISTÊNCIA DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> AOS β-LACTÂMICOS, AMINOGLICOSÍDEOS E FLUOROQUINOLONAS.....58	
4.1.	Resistência Intrínseca, Adquirida e Adaptativa.....	58
4.2.	Mecanismos de Resistência.....	59

4.2.1. β-lactâmicos	59
4.2.1.1. Produção de β -lactamases.....	60
4.2.1.2. Sistemas de Efluxo Ativo	62
4.2.1.3. Alteração da Permeabilidade da Membrana.....	62
4.2.1.4. Modificação do Alvo	63
4.2.2. Aminoglicosídeos	63
4.2.2.1. Modificação Enzimática – Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos.....	63
4.2.2.2. Alterações de Permeabilidade na Membrana.....	63
4.2.2.3. Sistema de Efluxo Ativo	64
4.2.2.4. Modificação do Alvo	64
4.2.3. Fluoroquinolonas	64
4.2.3.1. Modificações nas Enzimas-Alvo.....	64
4.2.3.2. Sistemas de Efluxo Ativo	65
4.2.3.3. Resistência por <i>qnr</i>	65
5. EPIDEMIOLOGIA DAS RESISTÊNCIAS DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
5.1. Resistências em Portugal – Panorama Nacional.....	67
5.2. Contextualização Europeia	68
6. PERSPETIVAS FUTURAS	71
6.1. Compostos Inibidores de Biofilmes e de <i>Quorum Sensing</i>	71
6.2. Bacteriófagos.....	71
6.3. Imunoterapia	72
6.4. Furanonas.....	72
7. CONCLUSÃO	73
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia de Celas, Coimbra

LISTA DE ABREVIATURAS

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

COVID-19 – Doença por Coronavírus (do inglês, *Coronavirus Disease*)

DGS – Direção Geral da Saúde

EC – Estágio Curricular

EE – Estado de Emergência

FC – Farmácia de Celas

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

PIM – Preparação Individualizada de Medicação

SARS-CoV-2 – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (do inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*)

SifarmaMA – Novo Módulo de Atendimento

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. INTRODUÇÃO

O Estágio Curricular (EC) em Farmácia Comunitária, que toma lugar no segundo semestre do quinto ano de estudos, constitui um pilar fulcral na nossa formação enquanto estudantes do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), sendo, por esse mesmo motivo, de caráter obrigatório no nosso percurso acadêmico.

A importância do papel do farmacêutico na área de Farmácia Comunitária é exaltada devido à sua formação na dispensa de medicamentos, na promoção do seu uso racional e no aconselhamento de excelência que lhe é acometido, aquando o atendimento ao utente. Contudo, um ponto de distinção desta área farmacêutica em particular é a proximidade que o farmacêutico tem com a população, permitindo-lhe estabelecer uma relação pessoal e de cumplicidade com o utente.

É neste seguimento que este EC tem uma dimensão tão importante no nosso percurso formativo, permitindo a moldagem do futuro farmacêutico que irá, posteriormente, estar na linha da frente, potenciando a promoção e educação para a saúde em toda a sociedade. Neste âmbito, tive o prazer de realizar o meu Estágio Curricular na Farmácia de Celas (FC), sob a orientação da Dra. Cláudia Silvestre e de uma equipa que me providenciou a melhor formação, sempre prezando pela união, companheirismo e profissionalismo.

O presente relatório foi redigido de modo a contemplar a minha aprendizagem e percurso na Farmácia de Celas, baseando-se o mesmo numa Análise SWOT. Esta é uma ferramenta de avaliação precisa que se divide numa componente interna – Pontos Fortes (S - *Strengths*) e Pontos Fracos (W - *Weaknesses*) - e numa componente externa - Oportunidades (O - *Opportunities*) e Ameaças (T - *Threats*) (1),(2),(3).

2. ANÁLISE SWOT

ANÁLISE SWOT

Pontos Fortes (<i>Strengths</i>)	Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>)
<ol style="list-style-type: none">1. Equipa2. Plano de Estágio3. Localização e Heterogeneidade de Utentes4. Metodologia <i>Kaizen</i>5. Preparação de Manipulados6. Diversidade de Serviços Farmacêuticos7. Área da Cosmética	<ol style="list-style-type: none">1. Duração do Estágio Curricular2. Insegurança e Limitações no Atendimento3. Área da Veterinária
Oportunidades (<i>Opportunities</i>)	Ameaças (<i>Threats</i>)
<ol style="list-style-type: none">1. Formação Complementar Contínua2. Sifarma2000® e Novo Módulo de Atendimento	<ol style="list-style-type: none">1. Competitividade com outros estabelecimentos2. Falta de Proximidade com o Utente

2.1. PONTOS FORTES (*STRENGTHS*)

2.1.1. Equipa

É impossível não reparar no profissionalismo, cumplicidade e simpatia da equipa da Farmácia de Celas. Desde o primeiro dia que me senti totalmente integrada na farmácia e no ambiente envolvente, o que de imediato me deu a sensação de que aquele era um “lugar seguro”. Um lugar seguro para questionar, para aprender, para falhar, para melhorar, mas também para fazer amizades e, sobretudo, para crescer, tanto a nível profissional como a nível pessoal.

Além da boa disposição que reina de modo constante, a Farmácia de Celas prima pelo profissionalismo e por um bom trabalho de equipa entre todos os seus elementos. A responsabilidade de trabalhar segundo estes valores foi-me incutida logo desde início, graças à exigência da Dra. Cláudia Silvestre e da restante equipa, bem como graças ao plano de estágio delineado para mim.

A disponibilidade e amabilidade da Dra. Cláudia, Dra. Catarina, Dra. Rita, Cristina e Isabel durante todas as etapas da minha aprendizagem, o rigor no ensino, a atenção ao utente e a confiança que depositaram em mim ao longo de todo o estágio, permitiram-me não só uma experiência completa e enriquecedora do verdadeiro papel do farmacêutico em farmácia comunitária, como também a descoberta da pequena farmacêutica que vivia em mim.

2.1.2. Plano de Estágio

Devido à importância associada a este EC, é essencial a abordagem de ensino que o orientador escolhe fazer. O plano de estágio idealizado pela Dra. Cláudia Silvestre contemplou uma estrutura lógica e faseada que permitiu uma aprendizagem gradual e contínua, sem nunca descurar as diferentes competências inerentes ao trabalho de um farmacêutico em farmácia comunitária.

A cronologia do meu plano de estágio na Farmácia de Celas contemplou duas principais fases, sendo que no decorrer das mesmas a equipa assegurou que conteúdos de gestão, *marketing* e vendas eram introduzidos na minha formação, devido à importância paralela que apresentam no trabalho do farmacêutico. Numa fase inicial, e centrada essencialmente no *back-office*, procedi à receção e aprovisionamento de encomendas o que me permitiu uma familiarização não só com os nomes comerciais dos produtos existentes na farmácia, como também com o sistema informático, no caso da Farmácia de Celas, o Sifarma2000® e o Novo Módulo de Atendimento (SifarmaMA). Foi-me dada ainda a oportunidade de estudar diversos fluxogramas de aconselhamento terapêutico e ainda participar na discussão/resolução de casos clínicos criados pela Dra. Cláudia, o que, a longo prazo, contribuiu para a minha preparação, confiança e independência aquando a fase de atendimento ao público, possibilitando assim a consolidação dos conhecimentos teóricos adquiridos nos últimos anos.

Após esta fase introdutória e mais centrada na realidade administrativa da farmácia, comecei a estabelecer contacto com o utente, primeiramente apenas a assistir aos atendimentos e, de seguida, realizando alguns com o acompanhamento de uma das farmacêuticas da equipa. À medida que o conhecimento e a segurança foram aumentando, rapidamente me foi dada a responsabilidade de proceder ao atendimento ao público sozinha. Neste processo de adaptação foi fulcral o apoio da equipa, que sempre se mostrou disponível para me ensinar e amparar, o que me permitiu construir uma certa confiança no atendimento e aconselhamento a solo.

Em retrospectiva, compreendo agora com mais clareza a importância dos passos que tive de percorrer até chegar ao atendimento ao público. Apesar de todas as tarefas desenvolvidas no estágio terem a sua devida relevância, a responsabilidade inerente ao aconselhamento ao utente torna indiscutível a preponderância desta última fase, que tão bem alicerçada foi, em todo o decorrer do estágio.

2.1.3. Localização e Heterogeneidade dos Utentes

A Farmácia de Celas situa-se na Estrada de Coselhas, na proximidade das Circulares Externa e Interna de Coimbra, que dão acesso ao Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), Hospital Pediátrico e Hospital da Luz. A proximidade da farmácia das diversas unidades hospitalares referidas anteriormente, leva a uma heterogeneidade de utentes, sendo que, frequentemente, muitos deles apenas estão de passagem (4).

Apesar da FC ter uma porção considerável de utentes habituais, e que estão fidelizados à farmácia, a maior fatia corresponde aos utentes oriundos de diferentes partes do país e provenientes das consultas médicas nas imediações hospitalares, o que resulta num problema em termos de fidelização à farmácia mas também numa maior diversidade de pessoas e atendimentos.

No decorrer do meu estágio pude experienciar esta diversidade o que, a meu ver, contribuiu em grande escala para o enriquecimento do mesmo. A pluralidade de personalidades que surgia diariamente na farmácia obrigava-me a adaptar a minha comunicação e a minha vertente social. Em paralelo, a heterogeneidade de utentes conduziu a uma variedade também ao nível do atendimento, sendo importante ajustar o mesmo às necessidades de cada um. Terminei o meu estágio com uma maior perceção de que cada atendimento é singular e, como tal, é primordial sabermos adaptar à situação que temos em mãos, de modo a priorizar o utente e a garantir o profissionalismo.

2.1.4. Metodologia Kaizen

Mudança (“Kai”) para melhor (“Zen”). De acordo com a ideologia japonesa, a metodologia *Kaizen* baseia-se na imposição de um conjunto de princípios que se traduzem numa melhoria contínua. Esta filosofia funciona como um pilar estratégico e é implementada nas mais diversas empresas, como é o caso da Farmácia de Celas (5),(6).

No que concerne à FC, a metodologia *Kaizen* integra-se de forma ativa no trabalho da sua equipa, visando a resolução de problemas, minimização de falhas e a otimização do trabalho, sempre preferenciando a comunicação transparente entre colaboradores. A existência de reuniões diárias, de curta duração, permite a exposição de questões, de metas alcançadas e das tarefas que se encontram ao encargo de cada elemento. Para rentabilizar esta reunião, no *back-office* existem diversas tabelas com as obrigações de cada colaborador ou da equipa em si. Esta discussão de ideias permite à equipa delinear novos objetivos e estratégias, bem como delegar tarefas, rentabilizando assim o tempo de trabalho e

criticando/eliminando possíveis falhas ao longo do processo, o que contribui para uma melhoria contínua profissional e do ambiente de trabalho (6).

O método *Kaizen* está ainda presente na organização do espaço e na gestão de toda a farmácia, contribuindo para a elevação da produtividade e a priorização do utente (6). A aplicação desta metodologia é bem visível na fase de provisionamento dos medicamentos que, após serem rececionados no sistema informático, são dispostos num carrinho, preferencialmente por ordem alfabética, para posterior arrumação no seu local de destino. Apenas após a confirmação da receção da encomenda, se procede à arrumação dos produtos nos espaços destinados. Na FC os medicamentos são organizados, na maioria dos casos, de acordo com a forma farmacêutica que apresentam, havendo assim espaços exclusivos para: comprimidos e cápsulas, pomadas e cremes, colírios, injetáveis, xaropes, supositórios, transdérmicos, gotas, entre outros, sendo que todos estes são organizados por ordem alfabética de modo facilitar a pesquisa dos mesmos. Na sequência deste último ponto, existem ainda 4 gavetas de arrumação, localizadas imediatamente atrás de cada par de balcões, com um conjunto de medicamentos que apresenta maior rotação na farmácia, facilitando a acessibilidade aos mesmos. O conjunto dessas gavetas, denominado de *cockpit*, aumenta a eficiência do atendimento ao público, uma vez que, em muitos casos, não é necessário recorrer ao *back-office* para fornecer a medicação pedida, poupando assim tempo no atendimento e facilitando o mesmo através da proatividade. No decorrer do meu estágio pude participar na atualização do *cockpit*, da qual resultou um novo conjunto de medicamentos que apresentavam maior rotação na farmácia. No sentido de seguir a ideologia *Kaizen*, foram criadas tabelas, com uma disposição similar ao *cockpit* atualizado, através das quais se podem contabilizar as falhas de medicamentos e potenciar uma reposição simplificada.

Apesar de inicialmente não ter dado a devida importância a esta metodologia, com o passar das semanas apercebi-me de como realmente contribui para uma melhoria contínua da farmácia e da sua equipa. A procura constante de soluções, a dinâmica de grupo que esta ideologia pede, a organização e o pensamento de melhoria constante foram ferramentas que pude adquirir no meu estágio, que permitiram a minha integração na equipa, que me tornaram uma melhor profissional e que, a longo prazo, irão ser uma mais-valia em qualquer que seja a minha área de trabalho.

2.1.5. Preparação de Manipulados

“*Considera-se um medicamento manipulado, qualquer preparado oficial ou fórmula magistral que é preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico*” (7). A preparação de manipulados serve para dar resposta às necessidades específicas de um doente, nos casos em que a indústria farmacêutica não apresenta ainda uma solução.

A evolução científica e tecnológica leva a que, ultimamente, se verifique uma grande oferta de formulações e formas farmacêuticas no mercado, o que faz com que o serviço de preparação de manipulados seja cada vez menos recorrente nas farmácias portuguesas. Contudo, e apesar de no geral ser cada vez menos comum, a preparação de manipulados é ainda uma realidade na Farmácia de Celas, sendo que esta chega mesmo a preparar um elevado número destes por ano, em particular referentes a formulações para uso pediátrico, devido à localização da farmácia e à sua proximidade com os hospitais circundantes. Deste modo, foi-me assim possível colaborar nesta tarefa, destacando a preparação de uma suspensão oral de propranolol a 5% para uso pediátrico. Em paralelo colaborei no preenchimento da ficha de preparação do manipulado, onde constam as matérias-primas e as quantidades necessárias, as características organolépticas, as condições de armazenamento, o prazo de utilização e o cálculo do preço de venda. Já que é responsabilidade do farmacêutico acompanhar todo o processo, desde a aquisição das matérias-primas, à sua preparação e posterior dispensa, a ficha de preparação tem de ser rubricada e datada pelo farmacêutico que preparou o medicamento e pelo que supervisionou essa mesma operação.

O facto da FC possuir este serviço, e ter-me permitido colaborar no mesmo, constitui para mim uma mais valia na minha formação - não só pela oportunidade de experienciar esta componente prática, que permite a consolidação da teoria galénica abordada ao longo dos 5 anos de MICEF, como também na contribuição que inevitavelmente tem em mim enquanto profissional, tornando-me experiente na área de preparação do medicamento manipulado.

2.1.6. Diversidade de Serviços Farmacêuticos

A versatilidade da Farmácia de Celas permite-lhe apresentar uma diversidade de serviços farmacêuticos que visam o acompanhamento e a melhoria da qualidade de vida dos seus utentes. Destacam-se as consultas semanais de nutrição, consultas de podologia, sessões de fotodepilação, a medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos (medição da tensão arterial, glicémia e colesterol), a administração de vacinas, sessões de *Shiatzu* e a preparação individualizada de medicação (PIM), esta última tão benéfica para os utentes mais idosos e com dificuldade em a terapêutica.

No decorrer do meu estágio participei principalmente na PIM e nas medições dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos, contudo, estive também presente no aconselhamento e dispensa dos produtos provenientes das consultas de nutrição e podologia.

O facto de existir uma variedade de serviços disponíveis agrada os utentes e leva à sua consequente fidelização. Em paralelo, e enquanto estagiária, o conjunto de serviços apresentado pela Farmácia de Celas possibilitou-me explorar outras áreas da saúde inerentes à profissão farmacêutica, bem como experienciar outros tipos de aconselhamento/atendimento, o que, a longo prazo, consolidaram e enriqueceram a minha aprendizagem.

2.1.7. Área da Cosmética

Atualmente, a área da cosmética desempenha um papel preponderante no nosso dia-a-dia, quer seja ao nível da saúde, publicitário ou estético. O facto de ser uma área de mudança constante, com novidades, fórmulas e lançamentos sucessivos, faz com que seja crucial a adaptação da farmácia e do farmacêutico a esta realidade.

A Dra. Cláudia e a sua equipa primam por um aconselhamento de excelência e uma atualização constante nesta área, algo que pude constatar durante a minha permanência na FC. A vasta gama de marcas, visível nos expositores e gôndolas, atrai uma elevada variedade de utentes que, satisfeitos com o atendimento, acabam por se comprometer com a farmácia, em grande parte, graças à formação da equipa.

Previamente ao meu estágio, e em relação a esta área em particular, não considerava extensos os meus conhecimentos, o que culminava numa falta de confiança no campo da cosmética. Contudo, através de formações concedidas por marcas conceituadas (Marti Derm[®], Caudalie[®], La Roche Posay[®], entre outras), do auxílio de fluxogramas de aconselhamento e da partilha de conhecimentos da equipa, senti um grande progresso na minha aprendizagem, o que me permitiu ter mais confiança para a etapa de aconselhamento de dermofarmácia e cosmética ao público. Para além de me ter sido proporcionado um contacto muito mais prático com esta área, onde pude constatar a imensa variedade de produtos existentes no mercado, foi-me ainda possível concluir que, sem a devida formação e conhecimento, é impossível fazer um aconselhamento adequado às necessidades do utente, tarefa para a qual me sinto mais preparada após a minha passagem pela Farmácia de Celas.

2.2. PONTOS FRACOS (WEAKNESSES)

2.2.1. Duração do Estágio Curricular

O Estágio Curricular em Farmácia Comunitária representa o fecho de um ciclo de estudos, e, na maioria dos casos, o nosso primeiro contacto com o mundo profissional.

A minha passagem pela Farmácia de Celas foi, sem dúvida alguma, um grande contributo à minha formação, permitindo-me não só aprender mais sobre as mais diversas áreas de atuação do farmacêutico, como também aplicar os conhecimentos que adquiri ao longo do meu percurso académico. Claro que esta sensação não é imediata e resulta de uma aprendizagem contínua e gradual. Inicialmente, a inexperiência pede um período transitório de adaptação ao ambiente de trabalho e às tarefas que me eram atribuídas. Mesmo com o encorajamento de toda a equipa, a confiança e conforto no atendimento público e no aconselhamento apenas surgem numa fase mais tardia do estágio, quando a prática assim o permite. Apesar deste ser o curso natural de aprendizagem e a insegurança ser algo normalizado nesses casos, este foi um obstáculo custoso de ultrapassar e, quando finalmente foi superado, o estágio estava já no seu término.

Apesar do plano académico do MICF ser bastante completo, julgo que faltam componentes práticas de estágio, que permitam colmatar este tipo de dificuldades. Embora não tenha sentido que a minha aprendizagem tenha sido comprometida, gostaria de ter tido a oportunidade de experienciar o mundo da farmácia de um modo mais completo, antes de uma entrada decisiva para o mercado de trabalho.

2.2.2. Insegurança e Limitações no Atendimento

Na sequência do ponto anterior, é natural que o atendimento ao público venha associado a uma certa insegurança, devido à inexperiência aquando o início do estágio. Embora o meu plano de estágio tenha sido progressivo e sucessivamente atualizado, a altura de passar para o balcão foi, sem dúvida, um desafio. O atendimento ao público acarreta muito mais responsabilidades do que apenas a de cumprir a receita médica, principalmente ao nível do aconselhamento, momento esse que me deixava verdadeiramente com medo, medo de errar e poder prejudicar a saúde do utente e, conseqüentemente, toda a equipa da FC. No início desta etapa ao balcão, a insegurança afetava várias vezes os meus atendimentos, acabando eu por, em alguns casos, preferir recorrer à restante equipa. O facto de ainda não estar totalmente confortável com os nomes comerciais dos medicamentos afetou também a minha posição ao balcão, complicando e inevitavelmente atrasando o atendimento ao utente, em particular quando este não se encontrava fidelizado

com a farmácia, não me sendo possível verificar qual a sua terapêutica habitual. A etapa de *back-office* foi crucial nessa fase e simplificou bastante a minha introdução aos nomes comerciais, mas claro que, apenas com a prática se consegue correlacionar automaticamente esse ao princípio ativo do medicamento.

Outro ponto fraco que experienciei a nível de atendimento ao público, aconteceu ao abrigo da COVID-19, que em tanto veio alterar as nossas vidas e o mundo como o conhecemos. No início do despontar dos primeiros casos em Portugal, houve uma afluência desmedida às farmácias, em busca de ibuprofeno, paracetamol, máscaras e álcool-gel. Este tipo de pedidos foram, até à implementação do Estado de Emergência (EE), recorrentes no dia-a-dia, o que infelizmente me fez perder uma certa diversidade no atendimento. Mesmo após o levantamento do EE, e apesar da diminuição acentuada de utentes que se verificou, foi comum o reabastecimento deste tipo de produtos, o que me limitava na prática de outros tipos de aconselhamento, como dermofarmácia e cosmética, nutrição, entre outros. Também a limitação de balcões para atendimento, de modo a cumprir as diretivas da Direção Geral da Saúde (DGS), se mostrou um ponto de influência no meu estágio, já que não permitia uma multiplicidade de atendimentos tão vasta como anteriormente à existência do SARS-CoV-2.

2.2.3. Área da Veterinária

No decorrer do estágio curricular é comum e necessário o contacto com diversas áreas da saúde e de aconselhamento, no sentido de potenciar ao máximo a nossa aprendizagem, e torná-la o mais abrangente possível.

Uma área em particular na qual me sentia menos confortável e não tão bem preparada para o aconselhamento era a da veterinária. Ao longo do plano curricular de MICF, este não aborda exaustivamente este campo, o que pode estar na origem da minha insegurança face a este tema. Quando iniciei o estágio deparei-me com vários utentes cujas questões eram maioritariamente relativas à desparasitação dos animais. Vi-me um pouco vencida nestes momentos uma vez que, apesar de ter algum conhecimento no assunto, não me sentia confortável o suficiente para aconselhar, com segurança, esse tipo de utentes. Em paralelo, e embora a Farmácia de Celas tenha uma gôndola reservada apenas à veterinária, bem como o contacto de um veterinário disponível para o esclarecimento de questões e aconselhamento personalizado, não senti que houvesse um grande número de utentes que visitassem esta farmácia em particular para produtos de veterinária, o que consequentemente levou a uma menor prática nesta área.

2.3. OPORTUNIDADES (OPPORTUNITIES)

2.3.1. Formação Complementar Contínua

Imediatamente no início do meu estágio na Farmácia de Celas, a Dra. Cláudia partilhou connosco uma frase que irei sempre lembrar, seja qual for o meu futuro: “Um bom profissional nunca termina de estudar”. A constante atualização do mercado, decorrente da evolução científica, tecnológica e industrial, necessita de ser acompanhada continuamente, de modo a que o farmacêutico se mantenha a par de todas as novidades e descobertas, e consiga estar apto para providenciar os melhores cuidados de saúde de que é capaz. Destaco aqui a importância do papel dos delegados de saúde, de diferentes laboratórios, marcas e áreas, que têm um papel preponderante na atualização e formação contínua dos profissionais de saúde.

Durante a minha passagem pela Farmácia de Celas, tive a oportunidade de participar em diversas formações, nomeadamente na área da dermofarmácia e cosmética e no campo da nutrição. Este tipo de formações eram geralmente dadas na farmácia, baseando-se na exposição de toda a gama da marca, sendo que o foco consistia na aplicação e nas possíveis indicações terapêuticas de cada produto. Foi-me dada também a possibilidade de assistir a lançamentos de novos produtos de marcas conceituadas como Lierac[®], Jowaé[®] e Skinceuticals[®], permitindo-me abrir os meus horizontes e conhecimentos face à gama e possíveis aplicações dos produtos dessas marcas. Infelizmente, a chegada da COVID-19 impossibilitou, em especial nos meses em que decorreu o EE, a continuação deste tipo de formações e, sendo assim, não me foi possível participar em mais nenhuma durante o meu restante período de estágio.

A oportunidade de participar em sessões formativas e novos lançamentos foi, para mim, essencial à minha aprendizagem e ao meu percurso enquanto estagiária, na medida em que me permitiu alargar os meus conhecimentos nessas áreas, o que se traduziu numa maior confiança ao balcão.

2.3.2. Sifarma[®] 2000 e Novo Módulo de Atendimento

Uma das grandes oportunidades deste estágio curricular foi, sem dúvida alguma, a possibilidade de contactar com dois sistemas informáticos “diferentes”: o Sifarma2000[®], sistema mais comum nas farmácias portuguesas, e o Novo Módulo de Atendimento (SifarmaMA), que consiste num novo sistema informático, ainda bastante recente e indisponível na maioria das farmácias, baseado no Sifarma2000[®] mas com as devidas

alterações de modo a criar um atendimento mais simples e claro, minimizando possíveis erros e riscos inerentes ao mesmo.

Apesar de existirem similaridades entre os dois sistemas, inicialmente tive algumas dificuldades em manuseá-los simultaneamente. Como já tinha tido a oportunidade de contactar com o Sifarma2000[®] no meu estágio extracurricular na Farmácia Castanheira, já tinha certos hábitos automatizados em relação ao atendimento, o que dificultou um pouco a aprendizagem no SifarmaMA. Contudo, o tempo de prática em *back-office* e a visualização de atendimentos possibilitou-me interligar as funções destas ferramentas, tornando-me capaz de dominar os dois sistemas. Visto que o SifarmaMA não é ainda um produto final, estando em fase de atualização e aperfeiçoamento, por vezes podiam decorrer bloqueios, e, nesse caso, era crucial saber manusear o Sifarma2000[®] de modo a que o atendimento seja prosseguido e o utente não seja prejudicado.

O facto de ter tido a oportunidade de contactar com o Sifarma2000[®] e o SifarmaMA foi, sem margem para dúvida, um aspeto diferenciador no meu estágio, uma vez que completou a minha formação com o domínio de dois sistemas informáticos diferentes, o que, futuramente, me poderá dar uma vantagem competitiva a nível profissional.

2.4. AMEAÇAS (THREATS)

2.4.1. Competitividade com Outros Estabelecimentos

Não é novidade que as farmácias portuguesas estão sujeitas a um elevado nível de competição numa multiplicidade de produtos, com a exceção, claro está, dos Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), que são de venda exclusiva em farmácia.

Ao longo do meu estágio, várias foram as vezes em que os utentes referiam que a farmácia tinha preços mais elevados e que portanto iriam adquirir os seus produtos noutras superfícies, como por exemplo, na Wells ou mesmo através de plataformas *online*. A facilidade de obtenção desse tipo de produtos constitui uma ameaça, não só a farmácia e à minha experiência de estágio, como à própria saúde do utente, uma vez que a dispensa de medicamentos ou produtos de saúde na farmácia está associada a um aconselhamento profissional e qualificado, de modo a garantir que a compra é a mais adequada e segura às necessidades do utente. Esse tipo de atendimento personalizado não é conseguido em plataformas *online* e, em muitos casos, nem nos estabelecimentos de venda exclusiva de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM), podendo por em risco a saúde do doente devido a uma dispensa ou aconselhamento de produto errado. Para além do prejuízo direto ao utente, a diversidade de utentes e de atendimentos no decorrer do meu estágio foi

também ameaçada pela facilidade de obtenção de produtos fora da farmácia, já que recorrendo os utentes a esses estabelecimentos, perdi a oportunidade de experienciar casos mais particulares e distintos de receitas eletrónicas/manuais, onde maioritariamente são vendidos MSRM.

2.4.2. Falta de Proximidade com o Utente

A relação farmacêutico-utente pauta-se pela cumplicidade e proximidade estabelecida entre os dois no processo do atendimento. O farmacêutico é, na maioria das vezes, o profissional de saúde a quem os utentes recorrem primeiro, confiando muitas das vezes pormenores e situações pessoais e de saúde que não relatam aos médicos.

Com a chegada do SARS-CoV-2 e a instituição de pandemia global, senti que a relação farmacêutico-utente foi comprometida, não se verificando uma proximidade tão marcada. A obrigatoriedade de uso de máscara, colocação dos acrílicos nos balcões e a interrupção momentânea de alguns serviços farmacêuticos (em particular durante o Estado de Emergência) dificultaram o estabelecimento e maturação de laços com o utente, comprometendo o aprimorar das minhas capacidades sociais e a proximidade ao mesmo.

Adicionalmente, a instalação do EE levou a uma diminuição drástica da afluência dos utentes à farmácia, algo que se verificou mesmo após o levantamento do mesmo, sendo essa a realidade mais marcante com a qual me deparei quando retomei o meu estágio depois da quarentena. Esta situação comprometeu também o seguimento do utente e da sua condição de saúde, levando a uma quebra da proximidade que tinha estabelecida com o mesmo.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo do MICF, lembro-me vivamente de nos ser dito que, apesar da diversidade de áreas onde o farmacêutico pode atuar, cerca de 70% de nós iria acabar em farmácia comunitária. Na altura, não entendia como podiam assumir com tanta firmeza que, com tantas áreas disponíveis e tantas hipóteses de carreira, uma percentagem tão considerável da nossa turma iria para a área de trabalho mais comum (e, se calhar, mais valiosa) para um farmacêutico. Após a minha passagem na Farmácia de Celas, essa premissa tornou-se clara, certa e verdadeira na minha mente. A indecisão, impotência, falta de prática e de consciência do trabalho de um farmacêutico em farmácia comunitária, sentimentos que tinha presentes no dia 6 de janeiro de 2020, rapidamente se dissiparam, à medida a que crescia a farmacêutica que existia em mim.

Sinto-me afortunada por ter tido o privilégio de realizar este estágio curricular na Farmácia de Celas. Desenvolvi competências de organização, gestão, *marketing* e graças à equipa de excelência da FC, fui instruída do melhor modo possível para o atendimento e aconselhamento ao público, focando sempre nas necessidades e bem-estar da sociedade. Mesmo com a situação pandémica que estamos a ultrapassar, nunca a equipa da FC descurou a minha formação e a minha segurança, levando-me a adaptar ao um novo método de trabalho na farmácia e, conseqüentemente, a um novo método de aprendizagem.

Nesta reta final do meu percurso académico, sei que conclui esta etapa curricular muito mais capacitada profissional e pessoalmente mas, para além disso, com uma maior consciência do trabalho, versatilidade e resiliência do farmacêutico na farmácia comunitária, e da sua importância na saúde, bem-estar e educação da sociedade.

Agradeço a toda a equipa da Farmácia de Celas – Dra. Cláudia Silvestre, Dra. Catarina, Dra. Rita, Cristina e Isabel – por todos os valores e ensinamentos transmitidos ao longo do estágio, pela companhia e amizade, por me fazerem crescer, por me apoiarem no meu restante percurso académico e por me terem incluído nessa “pequena família”.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **What is a SWOT Analysis?** [Acedido a 27 de julho de 2020]. Disponível em: <https://searchcio.techtarget.com/definition/SWOT-analysis-strengthsweaknesses-opportunities-and-threats-analysis>
2. **SWOT Analysis - Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats.** [Acedido a 27 de julho de 2020]. Disponível em: https://www.mindtools.com/pages/article/newTMC_05.htm
3. **How to Do a SWOT Analysis.** [Acedido a 27 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.wordstream.com/blog/ws/2017/12/20/swot-analysis>
4. **FARMÁCIA DE CELAS - Início.** [Acedido a 4 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://www.farmaciadecelas.pt/>
5. **What is KAIZEN™.** [Acedido a 6 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://www.kaizen.com/what-is-kaizen.html>
6. **Os 9 princípios da metodologia Kaizen.** [Acedido a 6 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://blog.apportugal.com/pt/os-9-principios-da-metodologia-kaizen>
7. **INFARMED, IP. - Inspeção de medicamentos manipulados - Infarmed.** [Acedido a 20 de agosto de 2020]. Disponível em: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao_e_informacao/campanhas/-/journal_content/56/15786/1487053?tagName=outras-campanhas

PARTE II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.

LISTA DE ABREVIATURAS

311- NAPP – Solução-Tampão De Peptona De Cloreto De Sódio

BPF – Boas Práticas de Fabrico (do inglês, *Good Manufacturing Practices (GMP)*)

COVID-19 – Doença por Coronavírus (do inglês, *Coronavirus Disease*)

CQ – Controlo de Qualidade

CSA – Agar de Caseína e Soja (do inglês, *Casein Soya Bean Digest Broth*)

FDA – *Food and Drug Administration*

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)

IF – Indústria Farmacêutica

LFQ – Laboratório Físico e Químico

LM – Laboratório de Microbiologia

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

OOS – *Out Of Specification*

Ph.Eur. – Farmacopeia Europeia

RCS – *Reuter-Centrifugal-Sampler*

SARS-CoV-2 – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (do inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*)

SDA – Agar de Dextrose de Sabouraud (do inglês, *Sabouraud-Dextrose Broth*)

SOPs – *Standard Operation Procedures*

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

TAMC – *Total Aerobic Microbial Count*

TYMC – *Total Yests/Moulds Count*

UCs – Unidades Curriculares

UE – União Europeia

UFC – Unidades Formadoras de Colónias

I. INTRODUÇÃO

A abrangência do plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) permite a preparação de futuros profissionais de saúde que podem enveredar nos mais diversos ramos relacionados com o mundo farmacêutico. Neste seguimento, e em adição ao período em Farmácia Comunitária, optei por realizar um estágio curricular em Indústria Farmacêutica, uma área com uma presença, magnitude e preponderância elevadas nos dias de hoje.

O presente relatório concretiza uma Análise SWOT (Pontos Fortes (*Strengths*), Pontos Fracos (*Weaknesses*), Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*)), do estágio por mim realizado na Bluepharma – Indústria Farmacêutica, SA, sendo o mesmo relativo à minha integração, aprendizagem teórica e prática dentro do Laboratório de Microbiologia (LM). O objetivo desta análise é abordar os pontos fulcrais do meu estágio, através de uma parametrização nos quatro aspetos referidos anteriormente, o que permite uma ter uma ideia mais clara e concisa sobre a minha experiência (1),(2).

Este estágio, de carácter opcional, foi realizado no âmbito do plano curricular de MICF e teve a duração de 2,5 meses, num total de 385 horas, com início a 18 de maio de 2020 e término a 31 de julho do mesmo ano. Decorreu sob orientação da Dra. Cláudia Gama, e co-orientação da Ana Paula Reis, no Laboratório de Microbiologia (LM), pertencente ao Departamento do Controlo de Qualidade (CQ).

I.1. Instituição: Bluepharma – Indústria Farmacêutica, S.A.

Iniciando a sua atividade em fevereiro de 2001, a Bluepharma nasce em Coimbra, sediada em São Martinho do Bispo, como Indústria Farmacêutica (IF), através da aquisição da unidade industrial pertencente à Bayer, uma multinacional da área do medicamento, de origem alemã (3),(4).

Para além da comercialização de produtos, a Bluepharma S.A. vê os seus esforços distribuídos pelo fabrico, desenvolvimento e investigação de medicamentos. O grupo inclui 18 empresas e o trabalho da unidade fabril baseia-se, maioritariamente, na produção de formas farmacêuticas orais sólidas não-estéreis – comprimidos e cápsulas (3).

A Bluepharma S.A. comercializa produtos próprios e para terceiros, exportando para mais de 40 países. Não obstante, recebeu permissão, a partir das Autoridades do Medicamento, para fabricar não só formas farmacêuticas orais sólidas, como também produtos de investigação medicinal, supositórios, semissólidos e líquidos, nas suas instalações. A produção própria de medicamentos aposta na melhoria de qualidade de vida

dos portugueses, algo que é marcado pelas parcerias com empresas farmacêuticas multinacionais e vários centros de investigação (5).

A qualidade da empresa é garantida e certificada (ISO 9001, ISO 14001, OHSAS 18000), assentando nas bases das diretrizes da União Europeia (UE) e da *Food and Drug Administration* (FDA), confirmando o seguimento das normas requeridas pelas Boas Práticas de Fabrico (BPF, do inglês, *Good Manufacturing Practices – GMP*) (6).

A Bluepharma S.A. está interligada com várias partes do mundo, tendo até mesmo sucursais em África, América Latina e nos Estados Unidos. Esta ligação e comunicação com outros países é o que permite à empresa ter uma taxa de exportação de cerca de 85% (3).

A visão da empresa baseia-se nos 3 I's – Investimento, Inovação e Internacionalização – colocando sempre um foco na Qualidade. O departamento de Controlo de Qualidade acaba por ter então uma grande dimensão no que é o projeto da Bluepharma S.A. (7).

1.2. Controlo de Qualidade – Laboratório de Microbiologia

O departamento de Controlo de Qualidade é composto por dois laboratórios: o Físico e Químico (LFQ) e o de Microbiologia (LM), estabelecendo-se uma relação estreita entre estes dois. Em ambos os laboratórios são realizadas análises à forma farmacêutica final, princípio ativo e excipientes, com recurso a métodos farmacopeicos e também a protocolos internos, com o objetivo de monitorizar os padrões de qualidade dos produtos fabricados e comercializados pela Bluepharma.

O LM certifica-se que o produto não contém contaminações microbiológicas ou que, no caso de ter, estas não ultrapassam o limite máximo aceitável a partir do qual o produto se poderia tornar prejudicial à vida humana, ou seja, não são *Out Of Specification* (OOS). No entanto, o LM não engloba apenas a análise de produtos, estando também presente em várias verificações necessárias às BPF, como a verificação de limpeza (de superfícies, de máquinas de produção, de câmaras de fluxo) e a monitorização do ar das salas limpas e da água purificada.

O facto do Laboratório de Microbiologia ser um espaço de análise onde pode ocorrer exposição a microrganismos e a amostras possivelmente contaminadas, faz com que sejam necessárias medidas que apelem à segurança do colaborador dentro do espaço. Como tal, é obrigatório o uso de bata, específica para o LM, a qual deverá ser retirada aquando a saída do laboratório. Máscara e sapatos de laboratório são também obrigatórios e deverão ser usados sem exceção. Uma vez dentro do LM, e aquando da manipulação dos produtos, é necessário o uso de luvas e, em alguns casos, de proteção visual e máscara FFP2, por

exemplo, para a pesagem das amostras. A desinfecção dos espaços de trabalho e materiais é também de elevada importância, havendo borrifadores de álcool em cada bancada e/ou câmara de fluxo laminar horizontal/vertical. Este desinfetante deverá também ser usado pelos colaboradores aquando o manuseamento de amostras, meios de cultura e produtos. Após as análises, é importante que se proceda à descontaminação e esterilização do material, utilizando para esse efeito o autoclave.

É importante que se mantenham as regras de higiene e limpeza no LM de modo a que as análises sejam o mais fidedignas possível e retratem apenas contaminações do próprio produto, e não contaminações cruzadas que poderão derivar do colaborador ou do espaço.

2. ANÁLISE SWOT

ANÁLISE SWOT

Pontos Fortes (<i>Strenghts</i>)	Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Formação Contínua 2. Sistema de Comunicação Interna 3. Plano de Estágio 4. Metodologia <i>Kaizen</i> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Registos 2. Métodos Convencionais na Análise Microbiológica 3. Controlo Microbiológico de Formas Farmacêuticas
Oportunidades (<i>Opportunities</i>)	Ameaças (<i>Threats</i>)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Acompanhamento de Outros Departamentos 2. Auditorias 3. Contacto com o Mercado Estrangeiro - Exportações 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Abordagem da Indústria Farmacêutica em MIFC 2. Medidas de Contingência na Bluepharma ao abrigo da COVID-19

2.1. PONTOS FORTES (*STRENGTHS*)

2.1.1. Formação Contínua

Durante o período de estágio, a Bluepharma prezou por uma formação contínua, com vista em introduzir os seus colaboradores na empresa e educá-los para o trabalho na mesma, recorrendo para isso a várias formações e sessões de esclarecimento.

Ao longo dos dois meses e meio de estágio, recebi formação no âmbito de várias áreas: “Ambiente, Saúde e Segurança no Trabalho”; “GMP – Boas Práticas de Fabrico”; “Sistemas Informáticos”; “Sistema Documental Ennov – Perfil User Geral”; “Farmacovigilância: Sistema de Gestão Integrada”, entre outros. Posteriormente à formação, é necessária a realização de um pequeno exame de forma a garantir que o colaborador cimentou os objetivos da mesma.

Este tipo de tarefas foi decorrendo ao longo de todo o estágio, não estando cingidas a um período específico do mesmo. As formações permitem aos colaboradores uma atualização constante dos seus conhecimentos para que estes possam desempenhar da melhor forma o seu trabalho. O facto de os estagiários curriculares serem incluídos neste processo constitui um ponto positivo uma vez que me permitiu experienciar o método de adaptação a uma empresa e também adquirir conhecimentos que a longo prazo se tornam benéficos e permitem acompanhar os meus tutores no seu trabalho.

2.1.2. Sistema de Comunicação Interna

A Bluepharma garante uma rede de comunicação entre todos os colaboradores e, inevitavelmente, entre todos os departamentos da empresa. Esta rede incorpora duas pontos: o Cisco e o SharePoint – Portal Interno da Bluepharma.

O Cisco é um sistema informático de chamadas e mensagens instantâneas, sendo o seu objetivo potenciar uma comunicação rápida entre todos os colaboradores, qualquer que seja o seu departamento.

O SharePoint é um portal interno da empresa que permite aos colaboradores obter diversas informações internas sobre a Bluepharma. Este portal contém os eventos próximos, as novidades acerca de novos projetos da Bluepharma, a agenda da empresa, artigos publicados, entre outros. Adicionalmente, têm ainda um repositório de ficheiros que funciona como uma pasta de armazenamento que pode ser consultada pelos colaboradores livremente: por exemplo, consulta das ementas da cantina. Para além disso tem ainda atalhos de rápido acesso às plataformas do ServiceDesk – plataforma de serviços de ajuda aos colaboradores que lhes permite fazer pedidos, reportar avarias ou problemas em equipamentos ou sistemas, – Success Factors – plataforma de aprendizagem onde ficam disponíveis formulários e exames – e do Ennov – portal de gestão documental que permite o acesso a documentos específicos de setor.

O Cisco e o SharePoint funcionam em paralelo, mas ambos com o intuito de facilitar a comunicação entre departamentos e colaboradores, no sentido de otimizar o trabalho desenvolvido. Nenhum dos sistemas tem um funcionamento complicado, o que me permitiu uma fácil adaptação e uma comunicação geral simples com os múltiplos setores da empresa. Para além disto, o SharePoint permitiu a aquisição simples de conhecimentos relativamente aos procedimentos internos da empresa, promovendo assim a minha autonomia no decorrer de todo o estágio curricular.

2.1.3. Plano de Estágio

O meu estágio no LM seguiu um plano delineado previamente, com um bom seguimento lógico de modo a que se verificasse uma evolução a nível de conhecimentos práticos e teóricos nas atividades analíticas que são desenvolvidas nesta unidade. Este plano foi uma competência da Dra. Cláudia Gama e da Ana Paula, as responsáveis por criar uma esquematização que me permitisse, passo a passo, entender todo o trabalho inerente ao LM.

Deste modo, o meu estágio iniciou-se por uma abordagem mais teórica, procedendo às leituras dos capítulos das Farmacopeias que servem de suporte aos procedimentos analíticos e ensaios microbiológicos do LM – Farmacopeia Europeia (Ph.Eur.) e Farmacopeia dos Estados Unidos (USP). Estes capítulos servem de base à elaboração de *Standard Operation Procedures* (SOPs), que são documentos internos que descrevem como deverão ser executados esses mesmos procedimentos. Os SOPs podem ser relativos a vários processos que tomam lugar no LM, como a preparação e controlo de meios de cultura e a manipulação de amostras. No entanto, também podem dizer respeito à calibração e uso de equipamentos frequentes neste laboratório, como: Balança Mettler Toledo AG 204, Balança Mettler Toledo AG MS3002S, Balança Mettler Toledo – PB 3002 (Figura 1 – Anexos), Potenciómetro 713 pH meter (elétrodo de vidro combinado Mettler Toledo InLab[®] pH science) (Figura 2 – Anexos), Autoclave Matachana 140 LE – IM, *Reuter-Centrifugal-Sampler* (RCS) Plus (equipamento para colheita microbiológica de ar), EHRET Biosafe 2 (Câmara de Fluxo Laminar Vertical), Telstar SAH 100 (Câmara de Fluxo Laminar Horizontal).

Esta abordagem mais teórica permitiu que eu me integrasse inteiramente nos procedimentos que ocorrem diariamente no LM, desde o funcionamento dos equipamentos à análise microbiológica de amostras, contribuindo para uma futura análise prática mais autónoma.

De seguida, abracei uma fase mais observacional do trabalho que é feito no LM, sendo-me permitido visitar o laboratório e acompanhar a análise microbiológica dos produtos pelo seu todo, englobando o processo desde a pesagem da amostra até à análise de resultados. Tive também a oportunidade de acompanhar processos de validação analítica, controlo dos meios de cultura, análise da qualidade do ar e análise de água purificada.

Por fim, enveredei um pouco na parte prática, onde me foi permitido executar os processos descritos anteriormente, sempre provida da observação e orientação de um analista – João Carlos Martins ou Ana Paula.

a) Preparação e Controlo de Meios de Cultura

Devido à situação pandémica que se instalou, derivada da COVID-19, e às inevitáveis medidas de segurança que tiveram de ser implementadas na Bluepharma, o meu estágio contemplou dois turnos de trabalho, de modo a não haver cruzamento com uma maior densidade de colaboradores. Assim, como fiquei no turno desfasado do grupo encarregue pela preparação dos meios de cultura, não me foi possível ver ou praticar este processo. Contudo, integrei-me no assunto através da leitura da SOP correspondente, participando depois no controlo dos meios. Esta tarefa, em conjunto com a análise microbiológica de amostras, permitiu-me correlacionar vários conteúdos teóricos com uma componente prática que me foi permitida no decorrer do estágio, constituindo assim um ponto positivo em relação ao mesmo.

Os meios de cultura podem ser preparados sob a forma de caldos, geloses e soluções, sendo posteriormente controlados ao nível das suas propriedades nutritivas e seletivas, conformidade e esterilidade.

A esterilidade é controlada através do recurso ao autoclave, com a presença de bioindicadores que, com a mudança ou não de cor, reportam a falha ou eficácia do processo. Por outro lado o controlo das propriedades nutritivas e seletivas é realizado através de inóculos de colónias isoladas de microrganismos padrão, suscetíveis de serem encontrados em amostras, reportando-se depois se se verificou crescimento bacteriano e em que meio específico (Figura 3 – Anexos) (8).

b) Análise Microbiológica da Amostra

Esta análise em particular é a mais comum no LM, decorrendo diariamente e segundo as amostras que são fornecidas pelo departamento da Amostragem. Para além disso, é também das mais importantes, já que testa a conformidade e estabilidade de uma amostra representativa de um lote. Se estas características foram aprovadas, a amostra tem assegurada a qualidade e a segurança microbiológicas e, como tal, o lote poderá ser libertado, pelo menos no que diz respeito ao LM. Esta foi a etapa que mais pude acompanhar ao longo do meu estágio e também a que me mostrou essencialmente o trabalho que é realizado no LM.

A análise microbiológica de amostra baseia-se na pesquisa da *Total Aerobic Microbial Count* (TAMC), *Total Yeasts/Moulds Count* (TYMC), através da realização de sementeiras de amostra em caixas de petri (Figura 4 – Anexos) com meio de crescimento: Agar de Caseína e Soja (CSA) – para a pesquisa de TAMC – e Agar de Dextrose de Sabouraud – (SDA) para a determinação de TYMC. Em alguns casos

particulares de amostras, é necessária a pesquisa de microrganismos específicos (Figura 5 – Anexos), usando para isso meios de cultura próprio para a pesquisa do microrganismo em questão (8),(9).

Após a incubação, que é dependente da ocorrência da pesquisa de microrganismos específicos, os resultados são obtidos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/placa.

c) Análise da Água Purificada

A água purificada é um componente com elevada importância em qualquer IF. O seu uso como matéria prima, solvente e como agente de limpeza, torna-a imprescindível ao funcionamento da empresa e, por sua vez, do LFQ e LM. O facto de ter tido a oportunidade de participar na análise microbiológica da água purificada constitui uma benesse no meu percurso na Bluepharma, permitindo-me desenvolver várias competências práticas a este nível, muitas delas desconhecidas até à data.

A água purificada é obtida através de um sistema de osmose inversa. Por sua vez, a sua análise contempla um método de filtração por membrana, onde é filtrado um volume adequado da amostra e semeado numa caixa de petri que contém o meio de cultura Agar R2A. As amostras são então incubadas a cerca de 30-35°C durante não menos que 5 dias, depois dos quais é feita a média da contagem de colónias que possam estar presentes nas placas, em (UFC/mL) (10).

d) Análise Microbiológica da Qualidade do Ar

O processo da análise microbiológica da qualidade do ar toma importância numa diversidade de departamentos dentro da empresa. A oportunidade de estar presente no processo na recolha de ar e na sua posterior análise qualitativa, permitiu-me verificar a relevância da sua análise, que se baseia no cumprimento exímio de SOPs, de modo a garantir o rigor em todos os espaços destinados a operações industriais e de análise, havendo uma preocupação especial com o departamento da produção.

Este tipo de análise em particular pode ser realizado de dois modos: através do Método de Sedimentação (Análise Semi-Quantitativa) ou através do Método de Impacto (Análise Quantitativa). O Método de Sedimentação consiste na exposição ao ar, na sala ou superfície de análise, de pelo menos duas caixas de petri (apesar de se poderem fazer duplicados), uma contendo CSA – destinada à determinação de TAMC – e de SDA, para a contagem de TYMC. Os microrganismos presentes no ar sedimentam, e as placas são incubadas (TAMC por 3-5 dias, a uma temperatura de

30-35°C; e TYMC por 5-7 dias, temperatura de 20-25°C). De seguida os resultados são expressos em UFC/placa.

Por sua vez, o Método de Impacto determina a quantidade de microrganismos num certo volume de ar. Para a recolha deste volume é usado o *Reuter-Centrifugal-Sampler* (RCS), equipamento este que semeia os microrganismos do ar, – nas tiras de agar que são colocadas no seu sistema – uma de CSA e outra de SDA. Essas tiras são incubadas segundo as mesmas condições do Método de Sedimentação, sendo que contagem é expressa em UFC/m³.

Creio que a estrutura que este plano curricular contemplou, permitiu que a minha aprendizagem no LM fosse gradual e descomplicada, o que me fez sentir pronta e confiante para sucessivamente responder ao desafio seguinte. Em adição, a vasta abordagem do meu plano curricular, tanto a teórica como a prática, contribuiu para uma experiência aprofundada do que é o LM, o que, a longo prazo, culminou numa formação mais completa dentro desta área.

2.1.4. Metodologia Kaizen

A Bluepharma apresenta uma dinâmica de empresa baseada na metodologia *Kaizen*, com foco na melhoria contínua, otimização de processos, minimização do erro e integração da equipa. Estes princípios veem-se aplicados a todos os segmentos da indústria, e não apenas à área da produção, verificando-se também no trabalho laboratorial e de escritório.

No que diz respeito ao LM, a aplicação desta ideologia era verificada principalmente através das reuniões diárias de departamento. Estas reuniões tinham uma duração de 15 minutos e resultavam principalmente no esclarecimento de dúvidas e de tarefas prioritárias de cada membro do laboratório, de modo a otimizar o processo de trabalho de cada um e atualizar a equipa sobre o mesmo. Estas reuniões tomaram uma importância ainda maior desde a chegada da COVID-19, uma vez que com o estabelecimento de turnos de trabalho, permitiu uma comunicação facilitada entre os mesmos. Em paralelo às reuniões *Kaizen*, semanalmente a chefe do departamento de microbiologia, Ana Paula, criava um plano de trabalho onde eram estipuladas as tarefas diárias de cada colaborador, permitindo uma divisão de competências e, conseqüentemente, uma satisfação das necessidades da empresa. Este tipo de organização e parametrização é fulcral para que os resultados das amostras saiam o mais rápido possível e também para que se saiba quando se podem iniciar novas análises, ou seja, para a otimização do trabalho no laboratório.

A abordagem realizada nestas reuniões ambientou-me aos conceitos e procedimentos específicos da IF, permitindo-me uma integração descomplicada no ambiente de trabalho do LM e ainda uma certa autonomia na concretização, segundo os princípios da ideologia *Kaizen*, de tarefas que me eram propostas (11),(12).

2.2. PONTOS FRACOS (WEAKNESSES)

2.2.1. Registos

Em qualquer empresa e no intuito de garantir a qualidade e o cumprimento das SOPs e regras às BPF, é fundamental que ocorra o registo de todas as atividades desempenhadas no contexto de trabalho e que as mesmas sejam devidamente elucidadas, datadas e rubricadas.

O preenchimento destes registos tem lugar em *logbooks* – cadernos de documentação, relativos ao equipamento usado para desempenhar a tarefa desejada – que são posteriormente também verificados, aquando o seu total término. Apesar de este processo garantir um nível de trabalho profícuo e minimizar a existência de erros, leva a um gasto de tempo considerável.

Na minha passagem pela Bluepharma reparei que, apesar do ambiente de trabalho ágil e audaz, o preenchimento de *logbooks* comprometia de certa forma a realização de análises e, conseqüentemente, pode atrasar o lançamento de resultados. Assim, considerei este ponto um lado menos positivo do meu estágio já que, inevitavelmente, impedia-me também de ganhar mais prática e assistir a mais procedimentos de análise.

2.2.2. Métodos de Análise Microbiológica

As análises de amostras que decorrem no LM baseiam-se em métodos convencionais de pesquisa quantitativa – pesquisa de TAMC e TYMC, através de filtração de membrana ou sementeira em placa – e qualitativa – pesquisa de microrganismos específicos. Estes processos de análise são fundamentados pelas Farmacopeias Europeia (Ph.Eur.) e dos Estados Unidos (USP), e constituem métodos microbiológicos tradicionais que se baseiam na pesagem das amostras, na sua diluição em solução-tampão de peptona de cloreto de sódio (NAPP-311) e, de seguida, na realização de sementeiras em meio de crescimento (CSA e SDA) para posterior contagem de TAMC e TYMC. Após este passo poderá ainda ocorrer a repicagem dos meios de crescimento para meios seletivos, para a identificação de microrganismos (13),(14).

Como os métodos microbiológicos realizados no LM são convencionais, não espelham a mais recente atualização da tecnologia, o que significa que não foram postos em prática,

recentemente, novos métodos, mais atuais e vanguardistas. Assim sendo, e neste seguimento, não me foi possível contactar com esse tipo de processos analíticos mais recentes, o que constituiu um ponto fraco no decorrer no meu estágio.

2.2.3. Controlo Microbiológico de Formas Farmacêuticas

A Bluepharma baseia a sua produção em formas farmacêuticas orais sólidas não-estéreis, isto é, na sua maioria, na produção de comprimidos e cápsulas. Esta definição da empresa faz com que não se faça a produção e, conseqüentemente, a análise, de formas farmacêuticas estéreis onde, devido às suas características particulares, o processo analítico é, inevitavelmente, diferente do das formas não-estéreis. Em conseqüência, não me foi possível concretizar aprendizagens ao nível destas formas farmacêuticas particulares, o que seria uma vantagem para a minha formação enquanto estagiária e, a longo prazo, para a minha experiência profissional.

2.3. OPORTUNIDADES (OPPORTUNITIES)

2.3.1. Acompanhamento de Outros Setores

A interligação entre diferentes departamentos da Bluepharma deu-me a oportunidade de acompanhar as atividades desenvolvidas no setor do Laboratório Físico e Químico, contribuindo assim para uma aprendizagem muito mais completa sobre a IF.

A minha passagem no LFQ, ainda que curta, foi bastante enriquecedora em termos de conhecimentos práticos, tendo recebido formação ao nível dos processos de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC – do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*). Sob orientação da Dra. Daniela Reis, foi-me possível observar e participar em todo o procedimento de preparação de amostras, brancos, equipamento e corrida, bem como na posterior análise de cromatogramas.

Esta aprendizagem teve o seu foco maioritariamente na componente prática, uma vez que a teórica já tinha sido abordada ao longo do meu percurso académico, em especial nas unidades curriculares de Métodos Instrumentais de Análise, I e II. Contudo, foi-me possibilitada a execução dos meus conhecimentos teóricos, o que me fornece uma vantagem em termos de formação.

2.3.2. Auditorias

A Bluepharma, enquanto empresa acreditada e certificada, é, naturalmente, sujeita a auditorias, tanto internas como externas, de um modo bastante regular. Este tipo de

processos é realizado por autoridades regulamentares, como a FDA e o Infarmed, bem como por clientes, e surgem com o objetivo de verificar a conformidade dos procedimentos realizados nos diferentes setores, bem como o bom funcionamento dos mesmos. O facto de ser recorrentemente auditada permite detetar desvios na conformidade ou até mesmo falhas ao nível do trabalho, dando a oportunidade à empresa de garantir uma minimização do erro e uma melhoria contínua em todos os seus setores e departamentos.

Infelizmente, devido à instituição da COVID-19, não me foi possível testemunhar nenhuma auditoria no decorrer do meu estágio no LM, uma vez que, apesar de previamente agendadas, todas foram desmarcadas, de modo a evitar contágios e possível propagação da doença. Contudo, a Ana Paula e o João Martins dispuseram-se a demonstrar-me os passos inerentes a este processo de controlo no LM, explicando-me o procedimento normalmente seguido pelos colaboradores bem como os tópicos de análise mais recorrentes para os auditores. Considerei benéfica a minha experiência a este nível no meu percurso na Bluepharma, na medida em que me deu a oportunidade de ter uma visão mais precisa do que é realmente um processo de auditoria, possibilitando a minha preparação para uma possível e futura ocorrência da mesma. Em adição, a recorrência de auditorias cria um profissionalismo e rigor constante na empresa o que, em última instância, me dá a oportunidade de aprender e fomentar conhecimentos sempre com base nesses valores.

2.3.3. Contacto com o Mercado Estrangeiro

Enquanto empresa maioritariamente exportadora (cerca de 85% dos seus produtos), a Bluepharma garante um contacto próximo com o mercado estrangeiro. Esta ligação potencia a angariação de novos clientes como também o seu reconhecimento empresarial a nível mundial.

A exportação para o estrangeiro vem também associada a uma análise do produto por parte do LFQ e do LM. No decorrer do meu estágio, pude experienciar várias análises de produtos que iriam sofrer exportação, sendo que algumas delas diferiam entre si. Os parâmetros analisados pelo LM, quantificação e identificação dos microrganismos, tem valores máximos de acordo com as políticas da Bluepharma, nunca podendo chegar ao valor de OOS. No entanto, no caso de um cliente estrangeiro, este pode requerer uma análise microbiológica segundo os valores por ele mesmo estipulados e, nesse caso, o valor de OOS pode ser diferente. Tendo em conta a diversidade de mercado que a Bluepharma apresenta, foi-me dada a oportunidade de assistir e concluir diferentes análises microbiológicas, o que contribui para a versatilidade da minha formação.

2.4. AMEAÇAS (THREATS)

2.4.1. Abordagem da Indústria Farmacêutica em MICF

O plano curricular de MICF aborda uma diversidade de conteúdos nas suas unidades curriculares (UCs), sendo estes muitas vezes relacionados ao trabalho do farmacêutico na área da indústria. Contudo, a abordagem teórica que é feita ao longo do percurso académico acaba por não transmitir a realidade prática que ocorre nas IF, não revelando uma correta noção do trabalho do farmacêutico nas mesmas.

No que toca à minha experiência no LM, entrei na Bluepharma com certas expectativas, derivadas de UCs como Microbiologia Geral e Bacteriologia e Análises Bacteriológicas, que acabaram por não corresponder à realidade prática que se verifica nesta empresa. Por este motivo, considero este ponto uma ameaça ao meu estágio, uma vez que iniciei o mesmo com a noção de que a minha experiência no LM seria, pelo menos, semelhante à componente prática que me foi introduzida ao longo do meu percurso académico nas UCs referidas anteriormente. O paralelismo entre estas duas realidades acaba por, a longo prazo, comprometer a formação e o interesse na IF, devido à ilusão e conceção do mundo de trabalho que nos é dada ao longo do MICF.

2.4.2. Medidas de Contingência na Bluepharma ao Abrigo da COVID-19

A chegada da COVID-19 a Portugal levou a uma mudança de hábitos radical, traduzindo-se numa renovação da realidade profissional à qual estávamos acomodados. A implementação de medidas de contingência na Bluepharma levou à instituição do teletrabalho na maioria dos departamentos da empresa, bem como de turnos de trabalho desfasados, em particular, nas seções laboratoriais. Este “afastamento” entre colaboradores afetou o meu estágio na medida em que, devido ao desfasamento de turnos, fiquei impossibilitada de experienciar certas práticas e análises ao nível do LM. Por exemplo, e como referido anteriormente, não me foi possível participar na preparação de meios de cultura já que a colaboradora encarregue por esta tarefa se encontrava num outro turno.

No seguimento da influência do SARS-CoV-2 no meu estágio na Bluepharma, um outro fator que senti ter um efeito mais negativo, foi o facto de não me ter sido possível realizar a visita a empresa, através da qual poderia conhecer todos os departamentos e o funcionamento geral dos mesmos. Apesar de uma curta visita à produção e à secção de amostragem, não me foi possível conhecer toda a empresa em si, dispondo de menos informação em relação à diversidade de departamentos da IF e à atuação dos mesmos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio curricular na Bluepharma S.A., permitiu-me o primeiro contacto real com a indústria farmacêutica e com o trabalho que se desenvolve na mesma, dando-me as ferramentas necessárias para melhor entender a posição do farmacêutico no mundo industrial e, também, no ciclo do medicamento. Rigor, profissionalismo, qualidade e união são valores pelos quais a Bluepharma se pauta diariamente, o que a tornou a empresa ideal para a minha primeira etapa neste ramo em particular da vida profissional.

O facto de ter integrado no Laboratório de Microbiologia foi para mim uma experiência verdadeiramente gratificante, onde me foi dada oportunidade de potenciar as minhas capacidades laboratoriais, conhecer novas técnicas analíticas e, mais importante, adquirir mais conhecimentos, contribuindo assim para a minha formação e educação, no que diz respeito a uma das minhas áreas de eleição. Para além disto, este estágio permitiu alargar os meus horizontes e ideias pré-concebidas, a uma nova realidade sobre o trabalho do farmacêutico na área da indústria e, inevitavelmente, na área da análise microbiológica.

Em retrospectiva, a minha passagem pelo LM contribuiu para o meu enriquecimento profissional, já que permitiu a consolidação de alguns conhecimentos teóricos, resultantes dos cinco anos de MICEF, na componente prática intrínseca a este laboratório. Adicionalmente, potenciou a minha aprendizagem em procedimentos analíticos e microbiológicos que desconhecia, o que, a longo prazo, pode constituir uma vantagem profissional.

Sinto-me profundamente grata por ter tido a oportunidade de realizar este estágio, de fomentar a minha aprendizagem nesta área e de ter tido a sorte de ter ao meu lado durante todo o meu percurso uma excelente equipa de profissionais, Ana Paula e João Carlos Martins, que sempre se mostraram disponíveis para me educar e ajudar.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **SWOT Analysis - Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats.** [Acedido a 5 de julho de 2020]. Disponível em: https://www.mindtools.com/pages/article/newTMC_05.htm
2. **What is a SWOT Analysis?** [Acedido a 5 de julho de 2020]. Disponível em: <https://searchcio.techtarget.com/definition/SWOT-analysis-strengths-weaknesses-opportunities-and-threats-analysis>
3. BLUEPHARMA - **Quem somos** [Acedido a 9 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-us.php>
4. BLUEPHARMA - **História** [Acedido a 9 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-history.php>
5. BLUEPHARMA - **Grupo Bluepharma** [Acedido a 9 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-bluepharmagroup.php>
6. BLUEPHARMA - **Cultura de Qualidade** [Acedido a 9 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-quality.php>
7. BLUEPHARMA - **Missão, Visão e Valores** [Acedido a 9 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-mvv.php>
8. USP - Capítulo 61 - **Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests.** United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34. Rockville: The United States Convention (2016). ISBN: 978-376926560
9. COUNCIL OF EUROPE - 2.6.13. **Microbiological Examination of Nonsterile Products: Test for Specified Micro-organisms.** European Pharmacopoeia 9.0. Strasbourg (2017). ISBN: 978-9287181336.
10. COUNCIL OF EUROPE - **Water Purified Monograph.** European Pharmacopoeia 9.0. Strasbourg (2017). ISBN: 978-9287181336.
11. **What is KAIZEN™** [Acedido a 18 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.kaizen.com/what-is-kaizen.html>
12. **Os 9 princípios da metodologia Kaizen** [Acedido a 18 de julho de 2020]. Disponível em: <https://blog.apportugal.com/pt/os-9-principios-da-metodologia-kaizen>
13. USP – Capítulo 1111: **Microbiological Examination of Nonsterile Products: Acceptance Criteria for Pharmaceutical Preparations and Substances for**

Pharmaceutical Use. United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34.
Rockville: The United States Convention (2016). ISBN: 978-3769265606

14. USP – Capítulo 62: **Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.** United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34. Rockville: The United States Convention (2016) ISBN: 9783769265606.

5. ANEXOS



Figura 1 - Pesagem de amostra na balança Mettler Toledo-PB3002
(Fonte: Autoria do Próprio)

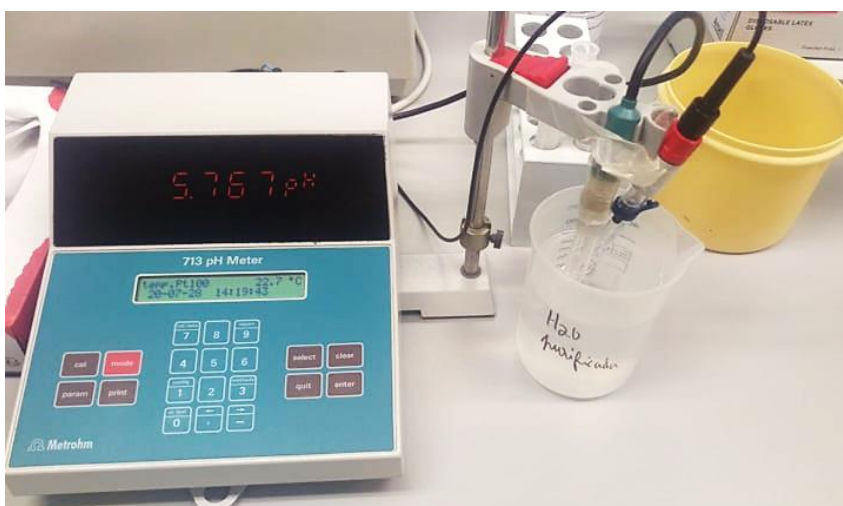


Figura 2 - Potenciômetro 713 pH meter (elétrodo de vidro combinado Mettler Toledo)
(Fonte: Autoria do Próprio)



Figura 3 - Controle de Meios de Cultura. Inoculação do meio de cultura seletivo (neste caso, Agar de Cetrimida) com *Pseudomonas aeruginosa*. O crescimento significa que o meio reúne as características nutritivas. (Fonte: Autoria do Próprio)

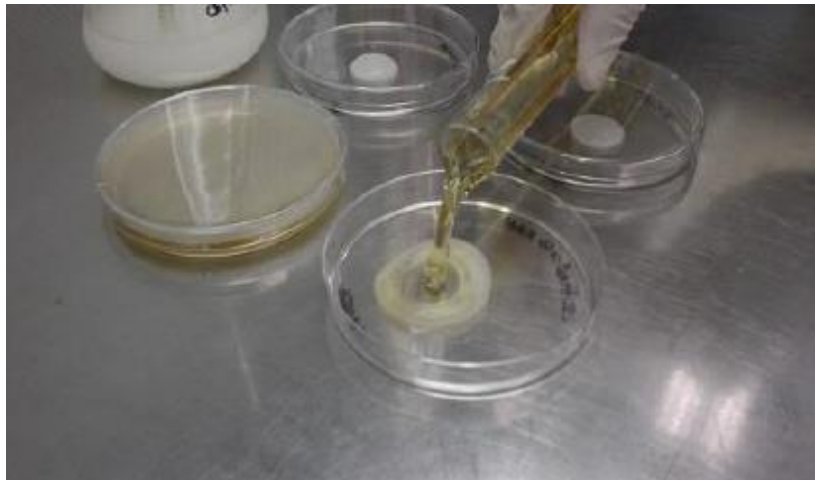


Figura 4 - Método de Sementeira
(Fonte: Ana Paula Reis, LM)

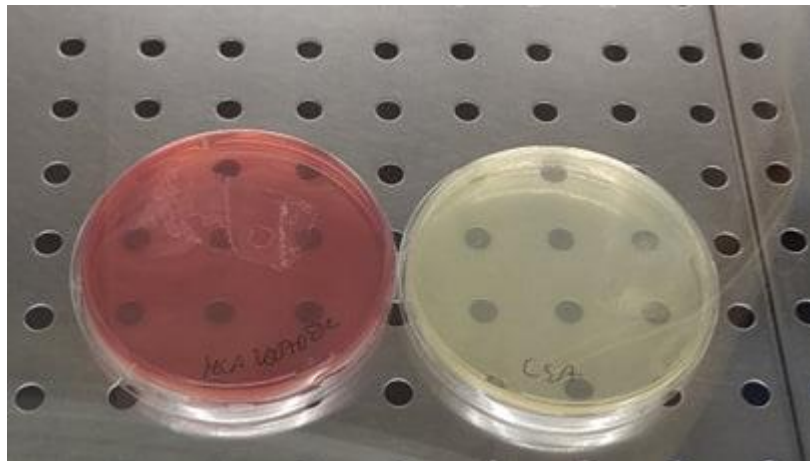


Figura 5 - Pesquisa de Microrganismos Específicos: Pesquisa de *Escherichia coli* por repicagem da amostra semeada em CSA, para MCA (MacConkey Agar), um meio de cultura seletivo para esta bactéria.
(Fonte: Autoria do Próprio)

PARTE III

Monografia

***Pseudomonas aeruginosa* e Resistência aos β -Lactâmicos, Aminoglicosídeos e Fluoroquinolonas**

RESUMO

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria oportunista dotada de uma capacidade genética extraordinária que lhe permite apresentar mecanismos de resistência às mais variadas classes de antibióticos, sendo por isso considerada uma ameaça global à saúde pública. A extensão e patogenicidade dos seus fatores de virulência justificam a sua capacidade infecciosa, em particular em doentes imunocomprometidos, e a sua preponderância enquanto um dos agentes responsáveis por maioria das infeções nosocomiais, quer em Portugal, quer a nível Europeu.

O tratamento de infeções causadas por *P. aeruginosa* baseia-se geralmente no uso dos antipseudomonais – β -lactâmicos, aminoglicosídeos e fluoroquinolonas – que, com o passar do tempo, começaram a demonstrar uma certa ineficácia, decorrente dos mecanismos de resistência apresentados por esta bactéria. A baixa permeabilidade da membrana, a produção de β -lactamases, a ação de sistemas de efluxo ativo e a modificação de alvos enzimáticos são apenas alguns dos mecanismos que *P. aeruginosa* é capaz de apresentar a estas classes de antibióticos, impedindo a ação natural das mesmas.

A emergência de resistências em *P. aeruginosa* e a disseminação das mesmas cria um problema de sustentabilidade ao nível dos antibióticos que seriam passíveis de surtir efeito nas infeções causadas por esta bactéria. Este quadro verifica-se por toda a Europa sendo que, a nível nacional, Portugal apresenta valores significativos de resistência por *P. aeruginosa* quando comparado com valores médios europeus. Em paralelo, revela-se ainda a capacidade de *P. aeruginosa* apresentar mecanismos de resistência a vários antibióticos em simultâneo, o que pode levar ao desenvolvimento de padrões de multirresistência. Esta tendência torna imperativa a investigação de novos antipseudomonais, de modo a que seja possível a obtenção de novas terapêuticas capazes combater as infeções resistentes causadas por *P. aeruginosa*.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*, Infeção, Resistente, Antibióticos, β -lactâmicos, Aminoglicosídeos, Fluoroquinolonas, Mecanismo de Resistência.

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic bacteria endowed with an extraordinary genetic role, which provides the capability of presenting several resistance mechanisms to multiple classes of antibiotics, turning *P. aeruginosa* into a global public health threat. The extension and pathogenicity of its virulence factors justifies its infectious ability, especially in immunocompromised patients, and its dominance as one of the agents responsible for most of the nosocomial infections, both in Portugal and Europe.

The treatment of *P. aeruginosa* infections is generally based on antipseudomonals - β -lactams, aminoglycosides and fluoroquinolones - which, over time, had begun to show lack of efficacy in result to resistance mechanisms presented by this bacteria. Low outer membrane permeability, β -lactamase production, active efflux systems and target modification are only some of the multiple mechanisms that *P. aeruginosa* is able to present to these antibiotics, blocking its natural action towards the bacteria.

The emergence and dissemination of resistance in *P. aeruginosa* reveals a sustainability problem when it comes to the antibiotics that could have a successful effect in the infections caused by this bacteria. This premise is present throughout the European Continent and, at a national level, Portugal presents significant levels of *P. aeruginosa* resistance when in comparison to the average European values. Furthermore, *P. aeruginosa* has the ability to present resistance mechanisms to multiple antibiotics simultaneously, which could lead to the development of multiresistance patterns. This trend makes imperative an investigation towards new antipseudomonals, so it can be possible to obtain new therapies capable of fighting the resistant infections caused by *P. aeruginosa*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Infection, Resistant, Antibiotics, β -Lactams, Aminoglycosides, Fluoroquinolones, Resistance Mechanism.

LISTA DE ABREVIATURAS

- AACs** – Acetiltransferases
- AADs/ANTs** – Adeniltransferases/
Nucleotidiotransferases
- ADN** – Ácido Desoxirribonucleico
- AI** – Auto-Indutoras
- APHs** – Fosforiltransferases
- ARN** – Ácido Ribonucleico
- ARNr** – ARN Ribossómico
- AST** – *Antibiotic Susceptibility Test* – Teste de Suscetibilidade aos Antibióticos
- CHUC** – Centro Hospitalar e
Universitário de Coimbra
- CMI** – Concentração Mínima Inibitória
- DDD** – Doses Diárias Definidas
- DDH** – Doses Diárias Definidas por 1000
Habitantes
- DPOC** - Doença Pulmonar Obstrutiva
Crónica
- ECDC** – Centro Europeu para a
Prevenção e Controlo de Doenças, do
inglês – *European Center Disease Control*
- EDTA** – Ácido Etilenodiamino Tetra-
Acético, do inglês *Ethylenediamine
tetraacetic acid*
- EEE** – Espaço Económico Europeu
- EMAs** – Enzimas Modificadoras de
Aminoglicosídeos, do inglês
Aminoglycosides Modifying Enzymes
- ESBLs** – β -Lactamases de Largo Espectro,
do inglês *Extended Spetrum β -lactamases*
- FC** – Fibrose Cística
- ICS** – Infecção da Corrente Sanguínea
- IR** – Infecção Respiratória
- ITU** – Infecção do Trato Urinário.
- LAH** – Lactonas Aciladas de Homoserina,
do inglês *Acylated Homoserine Lactones*
(AHL)
- LPS** – Lipopolissacarídeos
- MBEC** – Concentração Mínima De
Erradicação De Biofilme, do inglês
Minimum Biofilm Eradication Concentration
- MBLs** – Metalo- β -Lactamases
- MDR** – *Multidrug Resistant*
- OMP** – *Outer Membrane Proteins*,
Proteínas da Membrana Externa
- OMS** – Organização Mundial de Saúde
- ON** – Óxido Nítrico
- PAC** – Pneumonia Adquirida na
Comunidade
- PAV** – Pneumonia Adquirida por
Ventilador
- PBPs** – Proteínas de Ligação às
Penicilinas, do inglês *Penicillin Binding
Proteins*
- PDR** – *Pandrug Resistant*
- qnr** – *Quinolone Resistance (gene)*
- Qnr** – *Quinolone Resistance (proteína)*
- QRDR** - Região Determinante Para A
Resistência Às Quinolonas, do inglês
Quinolone Resistance Determining Region
- QS** – *Quorum Sensing*
- SST3** – Sistema de Secreção do Tipo 3
- SST6** – Sistema de Secreção do Tipo 6
- UE** – União Europeia
- XDR** – *Extensively Drug Resistant*

I. INTRODUÇÃO

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria aeróbia facultativa, não fermentadora e Gram-negativo. É um organismo mono-flagelado e quimio-heterotrófico, apresentando uma morfologia bacilar. Pertence à família Pseudomonadaceae, que está incluída na classe Gammaproteobacteria. Apresenta uma ubiquidade considerável já que é um organismo encontrado com abundância na natureza, seja no solo, superfícies de águas (rios, oceanos, águas residuais domésticas e de uso clínico), ou plantas. A sua capacidade de prosperar em diversos ambientes com diferentes disponibilidades de nutrientes e oxigênio está relacionada com a sua atividade metabólica e potencial adaptativo a ecossistemas com baixos níveis desses mesmos elementos (1),(2). *P. aeruginosa* é ainda definida como um patógeno oportunista, devido à sua capacidade em criar infecções num ser humano já debilitado, em particular, em doentes imunocomprometidos ou com comorbilidades associadas, estando frequentemente interligada a doenças como fibrose cística (FC) e doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC). Contudo, o seu poder infeccioso, devido aos múltiplos fatores de virulência que apresenta, abrange ainda leveduras, plantas, insetos, nemátodas e outros mamíferos para além do humano (2),(3).

A patogenicidade que *P. aeruginosa* demonstra torna-a num dos principais agentes etiológicos responsáveis por infecções nosocomiais, associando-se, em particular, às patologias respiratórias. Aliado a este fator, surgem os mecanismos de resistência que esta bactéria é capaz de apresentar a uma vasta gama de antibióticos de diferentes classes (3),(4),(5),(6).

A resistência aos antibióticos é considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) uma das maiores ameaças à raça humana, estimando-se que possamos estar perto do que será equiparável a uma era “pré-antibiótica” (4),(7),(8). *P. aeruginosa* apresenta uma capacidade de resistência extraordinária, que a torna numa das bactérias resistentes mais preocupantes em termos de saúde pública e o quinto patógeno mais comum em todo o mundo, integrando-se por este motivo no grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) (3),(4),(5),(6).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1. Fatores de Virulência

P. aeruginosa tem a capacidade de produzir um conjunto de fatores de virulência extenso, próprios da sua natureza, com o intuito de proteger a bactéria e evitar a ação predadora de outros organismos passíveis de serem encontrados no solo e na água. Em complemento, estes fatores contribuem para a patogenicidade de *P. aeruginosa* no desenvolvimento de infecções, quando em comparação com outras bactérias. Vários estudos, ainda que não concluídos, reportam que a expressão destes fatores pode ainda estar interligada com a resistência que a bactéria apresenta aos antibióticos (9),(10).

De entre os fatores de virulência que *P. aeruginosa* pode expressar (Figura 1), realçam-se: as estruturas superficiais, os produtos extracelulares, os sistemas de secreção, a produção de alginato, a formação de biofilmes e o sistema de sinalização por *Quorum Sensing* (1),(2),(4).

2.1.1. Estruturas Superficiais

Dentro destas estruturas estão incluídos os lipopolissacarídeos (LPS), flagelo e *pili* de tipo IV, que contribuem para a patogenicidade e despontam a ativação do sistema imune do hospedeiro. Em particular, o flagelo e a *pili* de tipo IV são importantes para os fenómenos de motilidade de *swimming* e *twitching*, respetivamente - que consistem no movimento ordenado através de superfícies semissólidas, permitindo a locomoção e adesão da bactéria à célula do hospedeiro. No que toca aos LPS, estes libertam-se, no geral, quando a bactéria está a multiplicar-se ou no caso de lise bacteriana. Estes podem desencadear uma cascata de reações pró-inflamatórias no hospedeiro, interferindo com a cascata de coagulação e causando leucopenia. (1),(9),(11).

2.1.2. Produtos Extracelulares

Há um espetro extenso de produtos que *P. aeruginosa* é capaz de secretar, diferindo estes entre si na sua complexidade e local de ação.

Incluem-se neste grupo as proteases, em particular a protease alcalina e a elastase, que são capazes de degradar a elastina (que representa 28% do tecido pulmonar) e ainda de clivar imunoglobulinas e as proteínas surfactantes A e D, comprometendo a imunidade do hospedeiro (1),(4),(9).

A exotoxina A é uma das diversas exotoxinas secretadas por esta bactéria, constituindo um potente agente de inibição da síntese proteica nas células eucarióticas, o que se traduz na morte celular das mesmas (4).

Destacam-se ainda os metabolitos secundários, como as fenazinas – grupo em qual se inclui a piocianina, que tem um papel determinante no epitélio do hospedeiro. A piocianina (responsável pela pigmentação azul-esverdeada encontrada nas culturas de *P. aeruginosa*) é um composto redox muito potente, sendo capaz de expor as células do hospedeiro a um elevado stress oxidativo. Este composto é capaz de inibir a atividade mitocondrial e a proliferação celular em neutrófilos e macrófagos, para além de reduzir a mobilidade celular, o que pode afetar mecanismos de defesa respiratória (1),(4),(9). Em paralelo, um outro pigmento comum nas culturas da bactéria é a pioverdina, um sideofóro com atividade quelante envolvido na aquisição de ferro (9),(12).

P. aeruginosa é ainda capaz de produzir compostos hemolíticos como é o caso dos ramnolípidos. Estes compostos têm a capacidade de causar necrose celular e prevenir a ocorrência de fagocitose através da eliminação de elementos fagocíticos (3),(9).

2.1.3. Sistemas de Secreção

Um dos sistemas de secreção mais complexos que *P. aeruginosa* utiliza é o Sistema de Secreção do Tipo 3 (SST3), que pode ser ativado através da ligação da bactéria a uma célula epitelial. Este sistema é contacto-dependente e, como tal, aquando da ligação de *P. aeruginosa* à célula do hospedeiro, a bactéria é capaz de injetar proteínas efetoras na mesma, o que se traduz numa resposta imune alterada ou, em alguns casos, em morte celular (2),(4). O SST3 engloba quatro proteínas efetoras que estão presentes em *P. aeruginosa* – ExoS, ExoT, ExoY e ExoU – sendo que esta última apresenta uma atividade citotóxica mais potente quando comparada às restantes, potenciando uma lise rápida das células do hospedeiro (1),(4).

Um outro sistema que também se revela importante, é o Sistema de Secreção do Tipo 6 (SST6), que tem como característica particular, o facto de conseguir eliminar outras bactérias do tipo Gram-negativo, o que faz com que *P. aeruginosa* consiga vencer a outras espécies em casos de infeções microbianas complexas (1).

2.1.4. Produção de alginato

Este processo é a alteração fenotípica mais comum em infeções causadas por *P. aeruginosa*, baseando-se na conversão para um fenótipo mucoide. Esta alteração ocorre tardiamente no processo de infeção e é, de um modo frequente, associada a um declínio acelerado do estado clínico do doente. A passagem para um fenótipo mucoide é causada por uma produção exacerbada do exopolissacarídeo alginato, resultante da resposta inflamatória do hospedeiro que produz leucócitos polimorfonucleares ativadas, capazes de induzir mutações ao nível do gene *mucA*. As alterações mutantes ao nível deste gene levam a que os

genes de biossíntese de alginato sejam ativados, resultando então na sua superprodução (1),(4).

A presença de alginato em excesso confere proteção aos radicais de oxigênio e impede ainda fenômenos como a fagocitose e a opsonização. Em adição este mecanismo atua ainda na formação de microcolônias e consequente maturação em biofilmes (1),(4),(10).

2.1.5. Formação de Biofilmes

Em estádios iniciais de infecção, *P. aeruginosa* surge sob forma planctônica, isto é, livre. No entanto, há várias evidências científicas que comprovam que à medida que a infecção progride, há uma tendência por parte das bactérias em aderir a superfícies epiteliais e proliferar de modo a formar uma camada nesse mesmo local, o que permite que pequenos grupos de *P. aeruginosa* se aglomerem e formem microcolônias. Estas acabam por se diferenciar em biofilmes, que podem exibir uma arquitetura *mushroom-like* ou *tower-like* (1),(10),(13).

As células presentes nos biofilmes estão encerradas numa matriz extracelular polissacarídea, por elas mesmas formada, sendo que há ainda a presença de canais de água que permitem o fluxo da mesma e de nutrientes. Esta matriz é formada pelo alginato, decorrente da sua superprodução por mutação do gene *muca* (1).

Algumas características dos biofilmes incluem tensão reduzida de oxigênio e disponibilidade de nutrientes, em específico no centro do biofilme, onde se denota uma atividade metabólica e uma replicação reduzidas. (1),(10).

A suscetibilidade de biofilmes é quantificada como a concentração mínima de erradicação de biofilme (MBEC), que é a concentração de antibiótico mais baixa capaz de prevenir o renascimento do mesmo. A MBEC consegue avaliar a capacidade de uma certa concentração de antibiótico erradicar uma cultura, algo que é bastante difícil de realizar devido às células persistentes (*persistor cells*), que podem potenciar o renascimento de todo o biofilme de novo (3),(4),(6),(14). A dificuldade inerente à sua erradicação faz com que os biofilmes sejam considerados um fator de virulência particularmente crítico (3).

2.1.6. Sistema de Sinalização por Quorum Sensing

O controlo de biofilmes bem como de outras adaptações genó e fenotípicas é influenciado, em *P. aeruginosa*, por um sistema de sinalização, conhecido por *Quorum Sensing*, que permite uma comunicação intercelular (1),(13). Este sistema é mediado por moléculas sinalizadoras auto-indutoras (AI) – como as lactonas aciladas de homoserina (LAH, do inglês AHL – *acylated homoserine lactones*), com capacidade de difusão e de regulação coletiva da transcrição dos genes alvos, tendo efeitos subsequentes no metabolismo, síntese proteica e virulência (4),(10),(14). Contudo, estas moléculas apenas são ativadas quando é atingida uma

certa densidade de população bacteriana, sendo por este motivo que a sua ação é mais marcada aquando a formação de biofilmes, de modo a que a produção destes compostos seja tal que consiga ativar genes (10),(13).

As moléculas auto-indutoras do tipo LAH são produzidas ao nível dos componentes nucleares de QS, os sistemas *las* e *rhl*, que estão intimamente correlacionados entre si (1). Através da difusão/transporte ativo da célula bacteriana para a célula vizinha, as moléculas AI são capazes de interagir com ativadores transcricionais, induzindo assim a transcrição de certos conjuntos de genes, muitos deles virulentos, como *toxA*, *apt*, *rpoS*, *rhlAB*. De salguardar que a produção de certos fatores de virulência, como é o caso dos ramnolípidos, apenas ocorre em paralelo à formação de biofilmes, uma vez que os seus genes são controlados por QS e assim sendo, não conseguem ser produzidos por células planctónicas. Deste modo, a sinalização molecular culmina na transcrição coordenada de genes controlados por *Quorum Sensing*, permitindo a comunicação entre células através de sinais intercelulares, o que potencia a virulência da bactéria (4),(11),(15).

A presença dos fatores de virulência supracitados não é comum a todas as estirpes de *P. aeruginosa*. No entanto, qualquer que seja a dimensão da sua presença, estes fatores contribuem para a sobrevivência da bactéria e a sua persistência em infeções, através da patogenicidade que os mesmos oferecem (2),(9). A infeção estabelecida e as manifestações clínicas que a acompanham dependem dos fatores de virulência expressos (16).

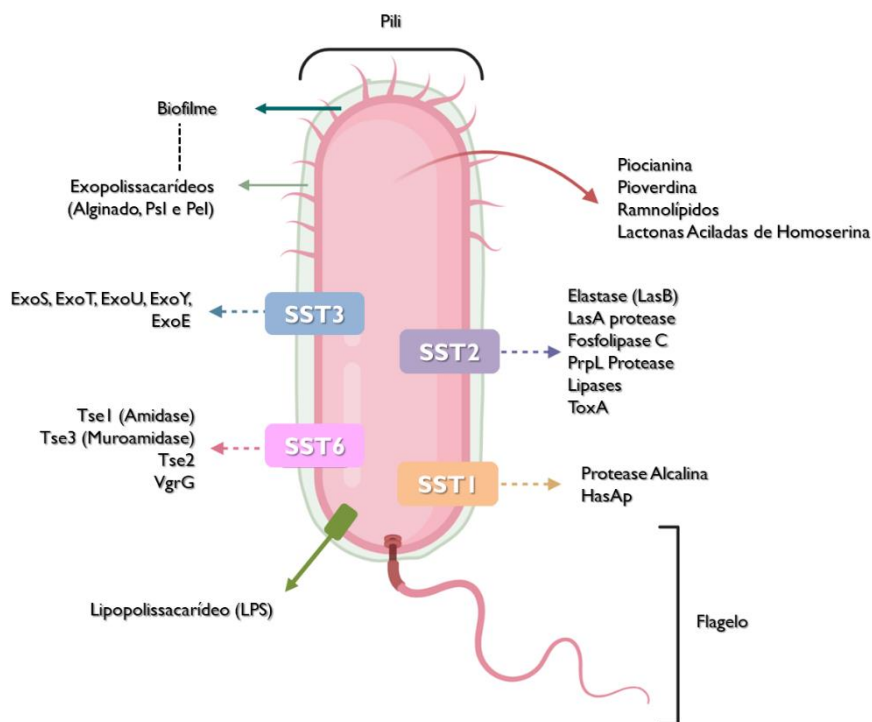


Figura 1 - Ilustração esquemática de *Djfi Xca cblUjUYfi []bcgJ* e dos seus principais fatores de virulência. Adaptado de (42).

Legenda: **SST1:** Sistema de Secreção 1; **SST2:** Sistema de Secreção 2; **SST3:** Sistema de Secreção 3; **SST6:** Sistema de Secreção 6.

2.2. Epidemiologia das Infecções causadas por *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa é, na atualidade, a maior causa de infecções nosocomiais, isto é, infecções relacionadas com o internamento num estabelecimento de saúde, sem que as mesmas se verifiquem aquando a admissão inicial. Este tipo de infecções são caracterizadas por uma manifestação que pode ocorrer 48 horas após a entrada no hospital e até 10 dias após a alta, ou em pacientes residentes em lares de terceira idade e instituições semelhantes, isto é, instituições prestadoras de cuidados (4),(17).

As principais causas de infeção nosocomial por *P. aeruginosa* são as infeções pulmonares (como a Pneumonia Adquirida por Ventilador (PAV)) e as urinárias, devido à cateterização, ventilação e intubação inerente às mesmas (Tabela 1) (4),(18),(19). No entanto, *P. aeruginosa* também é verificada numa série de infeções pós-cirúrgicas, vasculares e infeções de pele derivadas de queimaduras (Tabela 1) (3),(18). Há um risco elevado que se associa a qualquer uma destas infeções, mas em particular nas situações de uso de dispositivos médicos, devido à capacidade da bactéria gerar biofilmes nos mesmos, dificultando a erradicação da infeção. É comum que este tipo de infeções gerado por *P. aeruginosa* esteja frequentemente associado a uma elevada morbidade e mortalidade, principalmente quando decorre em doentes incluídos nos cuidados intensivos (1),(18).

P. aeruginosa é ainda capaz de desenvolver infeção crónica, em particular, em doentes com outras comorbilidades, como fibrose cística (FC) e feridas crónicas. Nestes casos, a infeção é mais complexa, uma vez que o estado crónico está associado a adaptações fenotípicas e genotípicas, incluindo a transição para um fenótipo mucoide, redução de mobilidade respiratória, formação de biofilmes e elevadas taxas de resistência a antibióticos. A eliminação do patógeno, quer pelas respostas imunes do hospedeiro, quer pelos tratamentos recorrentes é, geralmente, impossível neste estágio (1),(3).

Apesar da sua predominância enquanto causa de infeção nosocomial, *P. aeruginosa* é também capaz de estabelecer infeção a nível comunitário, estando associada a otites, foliculites e à Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC) (Tabela 1).

À escala mundial, *P. aeruginosa* é considerada o segundo agente patogénico mais comum na causa de pneumonias nosocomiais, o terceiro em infeções urinárias, o quarto em infeções decorrentes de pós-operatório e o sétimo em septicémias.

Tabela I - Principais patologias causadas por *P. aeruginosa*, agrupadas tendo em conta o local de infeção ¹.

Local de Infeção	Patologia Específica	Ocorrência
Trato Respiratório	Pneumonia Adquirida por Ventilador (PAV);	Frequente , em particular, em hospitais e doentes com Fibrose Cística
	Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC); Pneumonia Aguda; Infeção Crónica do Sistema Respiratório Inferior.	
Trato Urinário	Infeção Urinária Crónica e Aguda	Relativamente frequente , associado a complicações resultantes do uso de dispositivos médicos.
Sangue	Bacteriémia e Septicémia.	Frequente
Pele e Tecidos Moles	Dermatite; Infeção de feridas; Pioderma; Ectima gangrenosa; Foliculite.	Relativamente frequente , sendo que pode ser derivado de trauma ou de doentes neutropénicos.
Ouvido	Otite externa (ouvido de nadador); Otite externa maligna.	Frequente
Coração	Endocardite	Raro , mais associado a toxicod dependentes.
Sistema Nervoso Central	Meningite; Abscesso Cerebral.	Raro , mas tende a derivar de neurocirurgia ou de trauma.

¹ Adaptado de (16).

No caso de Portugal, estudos realizados, ao longo dos anos, em vários hospitais do país reportam dados que comprovam a magnitude de *P. aeruginosa* em infeções hospitalares. (20). Em particular, de acordo com um estudo decorrido no ano de 2015, sobre o Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (CHUC), de entre um grupo de doentes (n=195), 33,5% dos mesmos mostraram ter de infeção respiratória (IR); 22% referem-se a infeções do trato urinário (ITU) e 12,8% a infeções da corrente sanguínea (ICS), sendo que o agente etiológico de todas as infeções é *P. aeruginosa*. Estas infeções foram as mais recorrentes na

unidade de saúde e os dados percentuais revelam, de facto, uma predominância desta bactéria enquanto causa das infeções referidas, nos CHUC (17).

Transpondo estes dados para o panorama nacional, e de acordo com a informação concedida em 2017 pelo Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC), há uma similaridade entre os dados obtidos nos CHUC e os dados a nível nacional – *P. aeruginosa* é responsável por 29,2% das infeções respiratórias – em particular associadas a Pneumonia Adquirida por Ventilador (PAV) e Pneumonia Adquirida na Comunidade (PAC) – , 16,2% das ITU e 19,2% das ICS – (Tabela 2), o que revela uma equidade em termos de infeções causadas por *P. aeruginosa* em hospitais, nos tratos referidos, por todo o país. Importante ainda referir que, de acordo com o ECDC, as infeções predominantes em Portugal (2016-2017) passam também por infeções respiratórias, urinárias, de incisões cirúrgicas e de corrente sanguínea, tal como decorre nos CHUC, o que permite uma comparação mais fidedigna dos resultados (Gráfico 1) (17),(19). Nas infeções referidas, *P. aeruginosa* é uma das bactérias com maior percentagem de causa das mesmas, em hospitais, em Portugal (Tabela 2) (19).

Infeções mais recorrentes nos hospitais de Portugal em 2016-2017

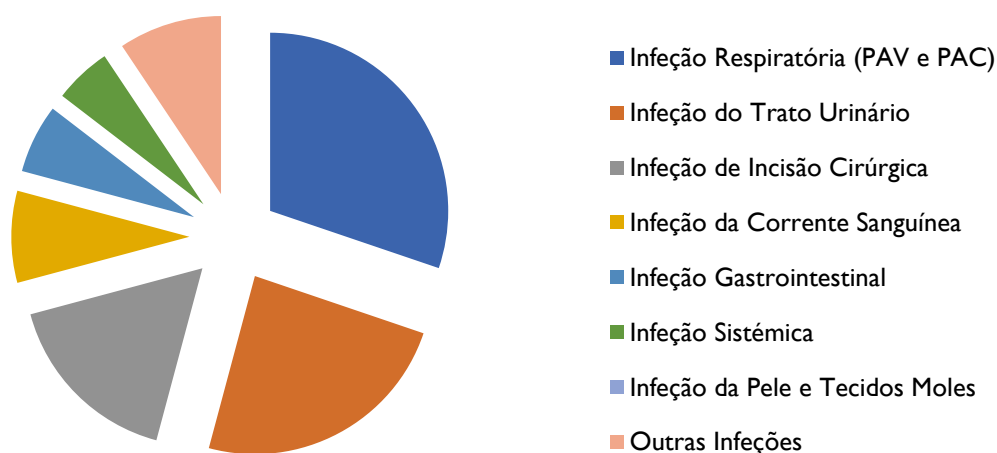


Gráfico I - Infeções mais recorrentes nos hospitais de Portugal, nos anos de 2016-2017.
Fonte ECDC. Adaptado de (43).

Comparativamente a outros países da UE e num panorama mais geral, Portugal apresenta valores percentuais mais elevados, à exceção da Eslováquia, no que diz respeito a IR, ITU e ICS causadas por *P. aeruginosa* (Tabela 2). No entanto, apesar de apresentar valores superiores, Portugal não demonstra um aumento percentual tão significativo assim quando comparado aos restantes países, rondando apenas os 5-10 pontos percentuais – Espanha

apresenta resultados relativamente semelhantes aos de Portugal, sendo que apenas a Alemanha e Itália revelam resultados inferiores consideráveis (19).

Tabela 2 - Comparação entre países da UE em relação às infeções causadas por *P. aeruginosa* em 2018 ².

	Portugal	Espanha	Itália	Alemanha	Eslováquia	Hungria
Infeção Respiratória (PAV, PAC)	29,2%	24%	19,4%	16,1%	33,3%	32,4%
Infeções do Trato Urinário	16,2%	12,7%	7,1%	14,6%	21,1%	14,3%
Infeções da Corrente Sanguínea	19,2%	9,2%	11,4%	4,9%	19%	35,7%

² Adaptado de (20).

3. SUSCETIBILIDADE DE *Pseudomonas aeruginosa* AOS ANTIBIÓTICOS

3.1. Diagnóstico e Terapêutica

Qualquer que seja o tipo de infeção causada por *P. aeruginosa*, é crucial que ocorra um diagnóstico precoce, de modo a que se possa implementar a antibioterapia adequada. O processo de diagnóstico passa, na maioria dos casos, pela realização de culturas de muco ou, caso este não seja possível de obter, da orofaringe, garganta ou tosse. Também a medição de anticorpos IgG contra os compostos da superfície de *P. aeruginosa* pode ser realizada (10). Nesta sequência, é importante que se proceda também a uma documentação bacteriológica, que deve incluir o perfil de suscetibilidade da estirpe bacteriana (AST do inglês, *Antibiotic Susceptibility Test*), para que seja possível perspetivar qual a terapêutica mais adequada à infeção em questão (16),(18).

A terapêutica inicial irá depender dos fatores de risco apresentados pelo doente e da infeção presente no mesmo, mas, no geral, é aplicada uma antibioterapia empírica, a qual é caracterizada pelo uso de um β -lactâmico com associação de um aminoglicosídeo ou de uma fluoroquinolona. É crucial que o tratamento seja cumprido em todo o seu decurso e que, após o mesmo, a condição clínica do doente seja reavaliada, de modo a verificar se houve ou não eficácia antibiótica e se há necessidade de prolongar ou alterar a terapêutica (5), (19).

3.2. Mecanismos de Ação

Enquanto antibióticos de uso mais comum e empírico em infecções causadas por *P. aeruginosa*, é importante elucidar os mecanismos de ação dos β -lactâmicos, das fluoroquinolonas e dos aminoglicosídeos, para que posteriormente se compreendam os mecanismos de resistência que esta bactéria é capaz de apresentar aos mesmos (5),(18).

3.2.1. β -lactâmicos

A classe dos β -lactâmicos constitui um grupo de antibióticos bactericida, que tem como ação principal a morte das bactérias através da inibição da última etapa da biossíntese da parede celular bacteriana. Estes antibióticos atuam na fase parietal da formação do peptidoglicano – sendo por isso considerados de antibióticos antiparietais –, tendo como alvo as proteínas de ligação às penicilinas (PBPs, do inglês, *Penicillin Binding Proteins*) (Tabela 3) (21),(22),(23),(24).

3.2.2. Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são um grupo de antibióticos bactericidas, caracterizados pela sua atuação na síntese proteica, inibindo-a irreversivelmente, através da sua ligação ao ribossoma bacteriano. A interferência na síntese normal das proteínas e a consequente morte celular, deve-se à interação dos aminoglicosídeos com a subunidade 16 do Ácido Ribonucleico ribossômico (ARNr 16S) da subunidade 30S do ribossoma bacteriano (Tabela 3) (25),(26),(27),(28).

3.2.3. Fluoroquinolonas

As fluoroquinolonas atuam especificamente em duas enzimas essenciais à síntese do Ácido Desoxirribonucleico (ADN) bacteriano, inibindo-as - a ADN girase (também designada de topoisomerase II) e a topoisomerase IV (42). A inibição/alteração das topoisomerases compromete a síntese do ADN bacteriano, afetando a sobrevivência celular (Tabela 3) (40),(41),(43).

Em microrganismos como *P. aeruginosa* (Gram-negativo), o alvo principal das fluoroquinolonas é a ADN girase, ao passo que em organismos Gram-positivo é a topoisomerase IV (41).

Tabela 3 - Função e Molécula-Alvo dos principais antibióticos usados nas infecções causadas por *P. aeruginosa* ³.

Antibiótico	Função	Molécula-Alvo
<i>β</i>-Lactâmicos	Inibição da síntese da parede celular	PBPs
Aminoglicosídeos	Inibição da síntese proteica	ARNr 16S da subunidade ribossômica 30S
Fluoroquinolonas	Inibição da síntese de ADN	ADN girase e Topoisomerase IV

³ Adaptado de (21),(26),(41).

4. RESISTÊNCIA DE *Pseudomonas aeruginosa* AOS β -LACTÂMICOS, AMINOGLICOSÍDEOS E FLUOROQUINOLONAS

4.1. Resistência Intrínseca, Adquirida e Adaptativa

Para além de *P. aeruginosa* apresentar uma versatilidade metabólica que lhe confere o cargo de uma das bactérias mais preocupantes a nível de saúde pública, o manuseamento incorreto e imprudente de antibióticos pode conduzir ao desenvolvimento de resistências a longo prazo. Erros de prescrição, falha de adesão à terapêutica e o uso abusivo e inadequado de antibióticos fazem com que a bactéria sofra uma exposição evitável ao medicamento que, por conseguinte, altera a suscetibilidade que apresenta ao mesmo e conduz ao crescimento de resistências (23). *P. aeruginosa* consegue demonstrar resistência através de vários mecanismos, sejam eles intrínsecos à própria bactéria, de adaptação à presença destes fármacos, ou adquiridos por transferências genéticas (5),(8),(13),(18).

Os mecanismos de resistência próprios de *P. aeruginosa* são denominados de mecanismos de resistência intrínseca, uma vez que não dependem de transferência genética nem do meio onde a bactéria está incluída. A resistência intrínseca, no caso de *P. aeruginosa*, envolve 3 mecanismos principais: a baixa permeabilidade da sua membrana, o sistema de bombas de efluxo ativo e a sua capacidade de inativar enzimas através da produção de algumas β -lactamases (8). A baixa permeabilidade da membrana externa é o principal mecanismo de defesa de *P. aeruginosa* contra os antibióticos já que, por si só, a membrana age como uma barreira seletiva que, apesar de não impedir a entrada total do composto, diminui substancialmente a mesma. Esta baixa permeabilidade atua de forma sinérgica com os restantes mecanismos intrínsecos, como o sistema de bombas de efluxo ativo – que permite a saída de antibiótico – e a produção algumas β -lactamases pela bactéria, em particular AmpC β -lactamase, que, ao atuarem no composto, são capazes de o degradar (8). Deste

modo, a sinergia que é estabelecida tira proveito do fluxo reduzido de antibióticos derivado da permeabilidade baixa da membrana, para os expulsarem ou degradarem à medida que vão entrando (8),(11).

A resistência adquirida acontece através da exposição aos antibióticos, resultando em mutações génicas cromossômicas ou na aquisição de genes de resistência através de elementos genéticos móveis como plasmídeos, transposões, interposições ou integrões. Este tipo de resistência não é tão comum em *P. aeruginosa* como a intrínseca, mas torna-se igualmente prejudicial (1),(8),(11). Aquisição de genes que codificam novas β -lactamases ou mutações ao nível das moléculas-alvo dos antibióticos são apenas alguns exemplos deste tipo de mecanismo. O facto da aquisição de genes de resistência ocorrer através de material genético móvel constitui uma preocupação em termos de disseminação de resistências.

Em contraste com as resistências intrínseca e adquirida, a resistência adaptativa é dependente de circunstâncias de crescimento, despontando eventos regulatórios nas células aquando a ocorrência dos mesmos, sendo que a suscetibilidade é normalmente revertida assim que essas condições indutoras são removidas. Este tipo de resistência é induzido por uma fase de crescimento específico, por condições de estímulo ambiental ou por estados de stress físico/químico. Alguns dos estímulos que induzem resistência adaptativa são: antibióticos e biocidas, pH, choque térmico, stress no ADN, deficiências a nível de nutrientes, entre outros (8). Estes fatores, bem como a exposição a concentrações sub-inibitórias de antibióticos permitem que *P. aeruginosa* consiga suportar, subsequentemente, concentrações letais destes compostos, diminuindo a sua suscetibilidade aos mesmos (11).

4.2. Mecanismos de Resistência

P. aeruginosa possui, virtualmente, todos os mecanismos de resistência aos antibióticos que são reconhecidos na atualidade. Este conjunto compreende mecanismos intrínsecos e de aquisição genética, sendo mais difundidos e mais comuns ao nível dos principais antibióticos usados contra *P. aeruginosa*: os β -lactâmicos, as fluoroquinolonas e os aminoglicosídeos (4),(5),(6).

4.2.1. β -lactâmicos

A resistência que *P. aeruginosa* é capaz de apresentar aos β -lactâmicos envolve estratégias baseadas na diminuição da permeabilidade da parede celular e na inativação dos compostos por produção de β -lactamases. A par destas poderão incluir-se mecanismos de modificações da molécula-alvo desta classe de antibióticos (29).

4.2.1.1. Produção de β -lactamases

A produção enzimática é o mecanismo principal no processo de obtenção de resistência a β -lactâmicos por *P. aeruginosa*. As β -lactamases são responsáveis pela hidrólise da ligação amídica do anel β -lactâmico, o que resulta na degradação do composto antes que este consiga atingir o seu alvo, as PBPs. A afinidade estrutural que as β -lactamases partilham com as PBPs permite que as enzimas sejam capazes de se ligar, acilar e hidrolisar o anel β -lactâmico, inativando-o. Este mecanismo de resistência é, em maioria dos casos, intrínseco a *P. aeruginosa*, no entanto, há β -lactamases que são adquiridas por transferência genética ou por mutação (4),(24),(27).

Segundo a classificação de Ambler, há 4 classes de β -lactamases estabelecidas: Classe A, B, C e D, sendo que as classes A, C, D têm o seu núcleo à base de serina enquanto que a classe B necessita de um íon metálico (como o Zinco (Zn^{2+})) no seu centro ativo para conseguir hidrolisar o seu substrato (4),(24),(29),(30).

Dentro das várias β -lactamases possíveis em *P. aeruginosa*, há algumas que apresentam uma predominância nesta bactéria, constituindo um foco importante para a resistência que a mesma apresenta aos β -lactâmicos: as β -lactamases de Largo Espectro (*Extended Spectrum β -lactamases* (ESBLs)) - pertencentes à classe A – as Metalo- β -lactamases (MBLs) – que constituem a Classe B – e a AmpC β -Lactamase – referente à classe C (31),(32).

a) Classe A: β -lactamases de Largo Espectro (*Extended Spectrum β -lactamases* (ESBLs))

As ESBLs, em particular, revelam uma capacidade de resistência superior às restantes β -lactamases, sendo por isso mesmo denominadas de β -lactamases de largo espectro. Estas enzimas hidrolíticas demonstram atividade contra todos os β -lactâmicos, exceto aos carbapenemos, sendo que podem ser inibidas, na sua maioria, pela ação do ácido clavulânico e tazobactam (inibidores de β -lactamases) (18),(29).

b) Classe B: Metalo- β -Lactamases (MBLs)

As MBLs são consideradas β -lactamases de alta importância clínica para *P. aeruginosa*, uma vez que este tipo de enzimas são transferíveis geneticamente através de cassetes de genes presentes em integrões. Para além disto, outros genes de resistência para outro tipo de classes de antibióticos poderão estar presentes no mesmo integrão, contribuindo deste modo para a disseminação de resistências e para o desenvolvimento de um fenótipo multirresistente de *P. aeruginosa* (31),(32).

As Metalo- β -Lactamases constituem a classe B e diferem estruturalmente das restantes enzimas pela necessidade de um íon de Zinco (Zn^{2+}) no seu núcleo ativo (29). Este tipo de enzimas são denominadas de carbapenemases já que são capazes de degradar carbapenemos (imipenemo e meropenemo), apresentando deste modo resistência a todos os β -Lactâmicos. A sua ação contra os carbapenemos é-lhe praticamente exclusiva, e levanta grandes limitações no que toca a possíveis opções terapêuticas.

Contudo, as MBLs apresentam uma capacidade hidrolítica diminuída para o aztreonamo (monobactâmico) e apenas podem ser inibidas pela ação de agentes quelantes bi-iônicos, como é o caso do EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético, do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid*) (18),(29),(33).

c) Classe C: AmpC β -Lactamase

P. aeruginosa possui uma β -lactamase cromossomal – a AmpC β -Lactamase -, que faz parte dos mecanismos de resistência intrínsecos a esta bactéria. Normalmente AmpC tem uma expressão reduzida, no entanto, esta poderá ser induzida através da exposição a β -Lactâmicos, devido às alterações que estes são capazes de fazer ao nível da parede celular. A indução leva a uma super-expressão de AmpC, causando uma diminuição da suscetibilidade da bactéria ao antibiótico (4),(18),(32). A AmpC cromossómica apresenta principalmente resistência às penicilinas e às cefalosporinas de primeira geração.

Uma vez que AmpC é incluída nos mecanismos de resistência intrínseca a *P. aeruginosa*, todas as estirpes desta bactéria apresentam a potencialidade de indução da desta β -lactamase (AmpC cromossómica e induzível). Contudo, é ainda possível que *P. aeruginosa* possa adquirir resistência a um β -lactâmico, ao qual anteriormente, durante a terapêutica, se mostrava suscetível, através de mutações nos genes reguladores de AmpC, que conduzem então à sua desrepressão. Esta característica constitui uma problemática grave no quadro dos antibióticos aos quais as múltiplas estirpes de *P. aeruginosa* podem apresentar resistência (24),(32).

A indução da AmpC pode resultar em resistência tanto para o β -lactâmico que a induziu, como para outros desta mesma classe de antibióticos, constituindo uma principal ameaça às cefalosporinas, motivo pelo qual é recorrente que a AmpC β -lactamase possa ser denominada de cefalosporinase. No geral, a enzima é capaz de

atuar em todos os β -Lactâmicos, à exceção dos carbapenemos, não sendo, no entanto, suscetível à atividade do ácido clavulânico ou do tazobactam (4),(21),(27).

4.2.1.2. Sistemas de Efluxo Ativo

O efluxo ativo é um mecanismo não enzimático e, na sua maioria, intrínseco a *P. aeruginosa*, sendo capaz de conferir resistência, em maior ou menor extensão, a todos os antibióticos. Este mecanismo define que os antibióticos podem ser expulsos através bombas de efluxo ativo presentes em *P. aeruginosa* (29). Há 4 sistemas de efluxo mais relevantes na bactéria: MexA-MexB-OprM, MexC-MexD-OprJ, MexE-MexF-OprN e MexX-MexY-OprM. Cada um destes sistemas de efluxo é composto por três proteínas individuais: uma bomba proteica de efluxo, localizada na membrana citoplasmática (caso das proteínas MexB, MexD, MexF e MexY); uma proteína da membrana exterior que atua como porina (caso das OprM, OprJ e OprN); e, por último, uma proteína localizada no espaço periplasmático que permita unir as restantes proteínas localizadas na membrana externa e na membrana citoplasmática (função das proteínas MexA, MexC, MexE e MexX) (4),(18).

Cada um destes sistemas é responsável pelo reconhecimento de certos antibióticos. No caso dos β -lactâmicos, na sua generalidade, todos os sistemas de efluxo à exceção do MexE-MexF-OprN, são capazes de expelir antibióticos desta classe, apesar de nem todos os sistemas expelirem o mesmo (Tabela 4) (18),(29).

4.2.1.3. Alteração da Permeabilidade da Membrana

A alteração da permeabilidade da membrana constitui um mecanismo de resistência intrínseco de *P. aeruginosa*, que tem por base as porinas – proteínas da membrana externa (do inglês, *outer membrane proteins* (OMP)) que funcionam como canais específicos para a entrada de substâncias (31).

No caso dos β -lactâmicos, como são substâncias pouco lipófilas, necessitam obrigatoriamente das porinas para conseguirem atravessar a membrana externa, uma vez que esta contém lipopolissacarídeos (LPS), que apresentam uma componente lipídica. Deste modo, o elo de ligação entre a entrada dos β -lactâmicos na célula e a sua interação com as PBPs, são então as porinas, que, ao sofrerem alterações, comprometem a interação do antibiótico com a sua molécula-alvo (21).

Os mecanismos capazes de induzir uma redução de permeabilidade na membrana, passam por: alterações das porinas envolvidas na entrada de antibióticos e a inativação de complexos enzimáticos relacionados com os sistemas de efluxo (18). Por exemplo, em relação aos β -lactâmicos, a porina OprD é conhecida como um promotor de internalização do imipenemo. Desde modo, se OprD sofrer uma modificação na sua estrutura ou uma

redução da sua expressão, há uma redução da suscetibilidade ao imipenemo por parte da célula. No entanto, este efeito tem repercussões a nível de outros antibióticos que usem a OprD como canal específico de passagem, podendo ver a sua entrada na célula e a suscetibilidade que a bactéria lhe apresenta, substancialmente reduzida (18),(29).

4.2.1.4. Modificação do Alvo

A resistência aos β -lactâmicos e a outros antibióticos tem vindo a crescer devido a modificações no alvo destes compostos, diminuindo a afinidade do mesmo ao seu alvo. Apesar de rara em *P. aeruginosa*, a resistência a β -lactâmicos associada à alteração da conformidade da sua molécula-alvo (PBPs), tem vindo a ser descrita já em alguns casos, devido a super-expressão ou modificação das PBPs, o que conduz a uma diminuição acentuada da ação dos β -lactâmicos (18),(21).

4.2.2. **Aminoglicosídeos**

P. aeruginosa apresenta vários mecanismos de resistência aos aminoglicosídeos, de entre eles: modificação enzimática (o mais comum), diminuição da permeabilidade da membrana externa, sistemas de efluxo ativo e modificação do alvo.

4.2.2.1. Modificação Enzimática – Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos

As enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (EMAs) são capazes de inativar os aminoglicosídeos através da incorporação de um grupo acetilo, fosfato ou adenilo aos substituintes amino- ou hidroxil- na molécula antibiótica, o que resulta numa menor afinidade de ligação do composto à sua molécula-alvo, o ARNr. As EMAs são classificadas em 3 famílias: acetiltransferases (AACs), fosforiltransferases (APHs), e adeniltransferases/nucleotidiotransferases (AADs/ANTs, respetivamente) (18),(26),(29).

As EMAs mais identificadas em *P. aeruginosa* pertencem às famílias AAC e ANT e determinam resistência, no geral, à gentamicina, tobramicina e netilmicina (29). Estas enzimas surgem normalmente devido à transferência de informação genética para o cromossoma bacteriano, por exemplo, através de transposões ou plasmídeos (26).

4.2.2.2. Alterações de Permeabilidade na Membrana

Os aminoglicosídeos não atravessam a membrana externa através de porinas. Ao invés, eles promovem a sua entrada através de ligações aos LPS, que são compostos da membrana externa. Esta ligação perturba a estabilização dos componentes lipídicos presentes nessa membrana, traduzindo-se numa disrupção da permeabilidade da mesma, o que, por conseguinte, permite a entrada dos aminoglicosídeos. No entanto, apesar deste mecanismo de entrada se distinguir dos restantes, *P. aeruginosa* é capaz de potenciar mecanismos de

resistência que afetem os aminoglicosídeos no que toca à permeabilidade da membrana externa. Derivada de uma super-expressão, há uma alteração ao nível da porina OprH que a permite proteger os LPS de se ligarem aos aminoglicosídeos, impedindo, ou reduzindo substancialmente, a sua entrada (18),(26),(27).

4.2.2.3. Sistema de Efluxo Ativo

Tal como nos β -lactâmicos, os sistemas de efluxo ativo também podem constituir um processo de resistência aos aminoglicosídeos. No que diz respeito a esta classe de antibióticos, o único sistema de efluxo com capacidade de potenciar a ação de saída nos aminoglicosídeos, é o sistema MexX-OprM-MexY (Tabela 4) (27),(29). O facto dos aminoglicosídeos serem específicos de apenas um dos sistemas de efluxo é, por um prisma, benéfico, uma vez que há menor probabilidade de resistência cruzada com a exposição a um outro antibiótico que seja específico de um dos outros sistemas, que não o MexX-OprM-MexY (18).

4.2.2.4. Modificação do Alvo

O alvo dos aminoglicosídeos surge ao nível do ribossoma bacteriano, mais propriamente, a subunidade 16S do ARNr. *P. aeruginosa* é capaz de modificar este alvo através da metilação dessa mesma subunidade, impedindo a ligação do antibiótico. O processo decorre através da ação de um grupo de enzimas – as 16S ARNr metilases, em particular a RmtA e a RmtB –, que *P. aeruginosa* não tem a capacidade de produzir naturalmente (26),(29). Assim, esta alteração ribossomal é mediada pela ação de genes localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos ou transposões (18),(26).

4.2.3. **Fluoroquinolonas**

No que toca às fluoroquinolonas, há três mecanismos principais de resistência: mudanças estruturais no que diz respeito às enzimas-alvo, a expulsão do antibiótico através de sistemas de efluxo ativo e a resistência mediada por plasmídeos (*qnr*).

4.2.3.1. Modificações nas Enzimas-Alvo

As fluoroquinolonas, em *P. aeruginosa*, têm como alvo primário a ADN girase e como alvo secundário a topoisomerase IV, logo é natural que as modificações por parte da bactéria sejam mais acentuadas ao nível do alvo principal. Similarmente ao que ocorre com outros antibióticos, a resistência às fluoroquinolonas por modificação do alvo ocorre por mutações génicas (18),(29).

A ADN girase é composta por duas subunidades, GyrA e GyrB, sendo estas codificadas pelos genes *gyrA/gyrB*, que constituem a região determinante para a resistência às quinolonas

(QRDR, do inglês *Quinolone Resistance Determining Region*). As mutações nos genes *gyrA/gyrB* originam subunidades modificadas, o que resulta na síntese de uma ADN girase com conformação alterada, causando resistência através da diminuição de afinidade do antibiótico para a enzima modificada (34),(35).

Apesar da topoisomerase IV ser um alvo secundário, pode ocorrer que a mesma também sofra modificações devido a mutações nos genes, *parC* e *parE*, que codificam as suas subunidades, ParC e ParE, respetivamente. Estas mutações, em particular a que ocorre em *parC*, caracterizam-se por uma diminuição da afinidade das fluoroquinolonas a esta enzima. No entanto, de acordo com estudos, foi demonstrado que as alterações da topoisomerase IV conferem resistência tipicamente apenas na presença concomitante de mutações na ADN girase (9),(34),(35).

4.2.3.2. Sistemas de Efluxo Ativo

Contrariamente ao que acontece com os β -lactâmicos e com os aminoglicosídeos, as fluoroquinolonas são substratos universais para cada uma das bombas de efluxo presentes em *P. aeruginosa* (Tabela 4), o que faz com que este mecanismo de resistência em particular, tenha um grande impacto nestes compostos (4),(29). Isto significa que qualquer uma das bombas tem especificidade para remover as fluoroquinolonas da célula, o que aumenta substancialmente a probabilidade do composto ser expulso se essas bombas estiverem expressas ou super-expressas. O facto de as fluoroquinolonas serem um composto universal dos 4 sistemas de efluxo leva a que possam ser um fator desencadeante de resistência cruzada a outras classes de antibióticos que sejam específicas de uma das bombas de efluxo (18).

4.2.3.3. Resistência por *qnr*

P. aeruginosa é capaz de oferecer resistência às fluoroquinolonas com base na ação de plasmídeos que codificam genes de resistência a estes compostos. Este mecanismo de resistência em particular pode ter ação de várias formas, sendo que a principal é através da proteção das enzimas alvo. Através dos genes *qnr*, que codificam proteínas pertencentes à família de pentapeptídeos repetidos – QnrA, QnrB, QnrS, QnC e QnrD – é possível proteger a ADN girase e a topoisomerase IV da ligação das fluoroquinolonas. As proteínas Qnr são capazes de se ligar às subunidades tanto da ADN girase como da topoisomerase, formando o complexo Qnr-Topoisomerase. A formação deste complexo impede uma posterior ligação do antibiótico ao mesmo, estabelecendo-se assim uma proteção ao nível das enzimas-alvo (36),(37).

Este tipo de resistência em particular tem causado uma preocupação crescente na comunidade científica, uma vez que o plasmídeo não só poderá transferir estes genes de resistência (*qnr*) a outras espécies para além de *P. aeruginosa*, como pode também carregar genes adicionais que conferem resistência a outras classes de antibióticos (36).

Tabela 4 - Especificidade dos Sistemas de Bombas de Efluxo para certos antibióticos ⁴.

Sistema de Efluxo Ativo	Substrato Antibiótico
<i>MexA-OprM-MexB</i>	β-lactâmicos, exceto o Imipenemo Quinolonas/Fluoroquinolonas Tetraciclina Cloranfenicol
<i>MexC-OprJ-MexD</i>	Penicilina, Cefepime, Cefpirome e Meropenemo Quinolonas/Fluoroquinolonas Tetraciclina Cloranfenicol
<i>MexE-OprN-MexF</i>	Carbapenemos Quinolonas/Fluoroquinolonas
<i>MexX-OprM-MexY</i>	Penicilina, Cefepime, Cefpirome e Meropenemo Aminoglicosídeos Quinolonas/Fluoroquinolonas Tetraciclina Cloranfenicol

⁴ Adaptado de (18)

Diversos estudos reportam a existência de estirpes de *P. aeruginosa* aptas para apresentar resistência combinada a mais do que três antibióticos simultaneamente, o que revela a condição multirresistente na espécie. As estirpes de *P. aeruginosa* capazes de cumprir esse quadro são denominadas de *Multidrug Resistant* (MDR). Alguns estudos revelam ainda a possibilidade do aparecimento de estirpes *Extensively Drug Resistant* (XDR) e *Pandrug Resistant* (PDR), que correspondem a uma apresentação de resistência a todas as classes de antibiótico testadas exceto uma/duas, ou resistência a todas as classes de antibióticos testadas, respetivamente. A incidência deste tipo de estirpes – MDR, XDR e PDR – restringe as terapêuticas existentes e que poderiam ser usadas, de um modo eficaz, no tratamento das infeções, conduzindo a falta de opções de tratamento (5),(18),(29).

5. EPIDEMIOLOGIA DAS RESISTÊNCIAS DE *Pseudomonas aeruginosa*

5.1. Resistências em Portugal – Panorama Nacional

Vários são os programas de vigilância relativos à resistência antimicrobiana. Na Europa, o ECDC conduz estes estudos através do anual “*European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*” (EARS-Net).

De acordo com o último EARS-Net, com ocorrência em 2018, os níveis de resistência de *P. aeruginosa* em Portugal apresentaram o valor de 15,3%, para o conjunto de antibióticos: carbapenemos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, ceftazidima e piperacilina-tazobactam, que estão incluídos, coincidentemente, nas classes de antibióticos mais usadas em casos de infeções por *P. aeruginosa*, em Portugal (Tabela 5). No entanto, é importante acompanhar os níveis de resistência nacional para cada uma das classes, de modo a verificar qual a mais afetada pela capacidade resistente da bactéria (19),(38).

Ao longo dos anos e de um modo geral, Portugal tem apresentado um nível de resistência de *P. aeruginosa* sucessivamente mais baixo, quer ao nível do conjunto de antibióticos referido anteriormente, quer na análise individual de cada um deles, com tendência a um decréscimo no futuro (Tabela 5). Os antibióticos que surgem com maior percentagem de resistência por *P. aeruginosa* em Portugal são as fluoroquinolonas e a piperacilina-tazobactam. Apesar de se verificar um decréscimo de resistência aos vários antibióticos ao longo do período de 2015-2018, as fluoroquinolonas apresentam-se como exceção, já que demonstram uma subida percentual significativa no ano de 2017 (38).

Tabela 5 - Percentagens de resistência de *P. aeruginosa* aos antibióticos em Portugal, nos anos de 2015-2018 ⁵.

Antibiótico	2015	2016	2017	2018
Piperacilina-Tazobactam	24,5%	22,7%	24,2%	21,9%
Carbapenemos	19,8%	19,2%	18,3%	15,7%
Aminoglicosídeos	13,5%	11,6%	12,1%	11,9%
Fluoroquinolonas	22,7%	20,1%	23,7%	23,7%
Ceftazidima	19,2%	18,0%	18,6%	18,6%
Total - Combinação dos Antibióticos	16,9%	14,8%	16,1%	15,3%

⁵ Adaptado de (17),(38).

Apesar dos dados que constam no ECDC, um estudo realizado ao nível dos CHUC, no ano de 2015, revela dados de resistência um pouco superiores do que os reportados na Tabela 5 nesse mesmo ano, à exceção da percentagem referente aos aminoglicosídeos, onde

o hospital obtêm uma percentagem de resistência significativamente mais baixa (7,2%). Os resultados onde as diferenças percentuais de resistência são mais notáveis, ocorrem ao nível dos carbapenemos e das fluoroquinolonas, apresentando os CHUC uma valor percentual de 33,9% e 36,9%, respetivamente. A nível do conjunto de antibióticos, os CHUC mostraram que 34,3% dos seus isolados se mostram resistentes, valor este que se situa bem acima dos dados nacionais reportados no ECDC, com um resultado de 16,9% (Tabela 6) (17),(38).

Tabela 6 - Dados percentuais relativos à resistência de *P. aeruginosa* em Portugal e nos CHUC ^{6,7}.

	PIP-TAZ	CARB	AMGD	FLQL	CTZ	PIP-TAZ, CARB, AMGD, FLQL e CTZ
CHUC	30,5 %	33,9 %	7,2 %	36,9 %	18,6 %	34,3 %
Portugal	24,5 %	19,8 %	13,5 %	22,7 %	19,2 %	16,9 %

⁶ Piperacilina-Tazobactam (PIP-TAZ), Carbapenemos (CARB), Aminoglicosídeos (AMGD), Fluoroquinolonas (FLQL) e Cefotaxima (CTZ).

⁷ Adaptado de (17),(38).

A discrepância de resultados poderá dever-se ao facto de o estudo contar com dados exatos de um local, que efetivamente poderão ser superiores a outros hospitais nacionais. Uma vez que os dados fornecidos pelo ECDC revelam apenas a média nacional, é possível que em comparação com a mesma, possam haver resultados divergentes quando analisamos um hospital/instituição de saúde em específico.

5.2. Contextualização Europeia

Para que se possa compreender de um melhor modo os valores que Portugal apresenta ao nível das resistências de *P. aeruginosa*, é importante contextualizá-lo num panorama mais abrangente onde o país possa estar incluído geograficamente. Para tal, deve-se ter em conta o quadro da União Europeia face às resistências por *P. aeruginosa* (38).

Na UE, a resistência aos antibióticos por parte de *P. aeruginosa* é bastante comum, se tivermos em conta uma perspetiva geral do espaço europeu. Apesar de haver zonas que indicam níveis de baixa resistência, 50% do Mapa Europeu apresenta, de acordo com as informações do ECDC em 2018, mais de 10% de resistência a pelo menos três destes antibióticos: aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, carbapenemos, ceftazidima e piperacilina+tazobactam (Figura 2) (38).

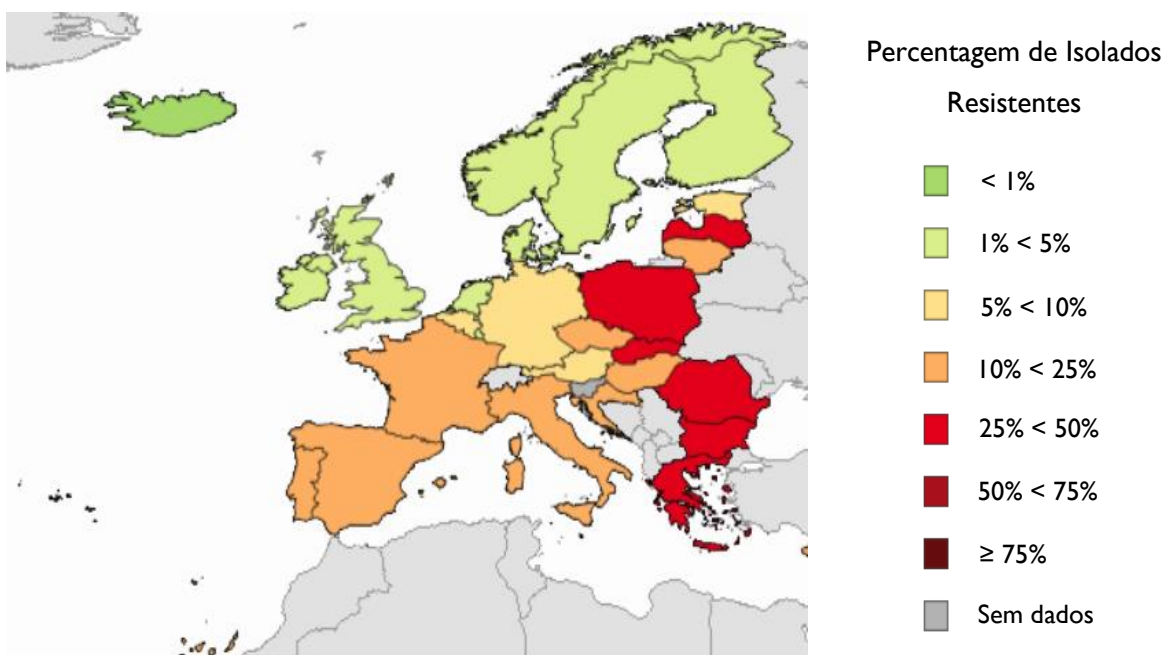


Figura 2 - Mapa Europeu relativo à percentagem de isolados resistentes de *Pseudomonas aeruginosa*, em 2018, a pelo menos três destes antibióticos: aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, carbapenemos, ceftazidima e piperacilina+tazobactam.

Fonte: ECDC (Adaptado de (44)).

De acordo com os dados do ECDC, de 2015 a 2018, a UE apresenta uma sucessiva diminuição dos valores de resistência de *P. aeruginosa*, em qualquer um dos antibióticos que foi analisado (38). No entanto, em 2018, a UE revela um valor de resistência médio de cerca de 12,8% ao conjunto de antibióticos anterior, o que significa que 12,8% da UE apresenta resistência combinada a pelo menos três dos antibióticos: aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, carbapenemos, ceftazidima e piperacilina+tazobactam. Em comparação com estes resultados e relativamente ao mesmo conjunto de antibióticos, Portugal situa-se a cima da média europeia, apresentando valores de resistência na casa dos 15,3%, o que revela uma prevalência de estirpes multirresistentes (MDR) neste país, quando em confronto com a média da UE.

Numa análise mais particular, a resistência aos carbapenemos é o único valor de Portugal que se apresenta a baixo da média europeia, sendo que os níveis de resistência de *P. aeruginosa* aos restantes antibióticos em análise são todos eles superiores a 11% e, em paralelo, são também superiores aos valores médios da UE (Tabela 7) (38).

Casos como o de Espanha, França e Itália apresentam também valores consideráveis de resistência ao conjunto de antibióticos, encontrando-se todos a cima dos 10%: 10,9%; 11% e 14,9%, respetivamente. Assim sendo, do grupo de países referido, Portugal é o que aparenta ter um perfil de multirresistência superior. Porém, ao confrontar os dados destes países, referentes a cada um dos antibióticos em análise, com os dados portugueses, não se verifica uma predominância de resistência em Portugal nos antibióticos em análise. No caso da

piperacilina+tazobactam, Itália revela um valor de resistência de 23,9%, 2,4 pontos percentuais a cima do de Portugal, ao passo que Espanha tem valores abaixo da média europeia (10,9%) e França apresenta-se atrás de Portugal, com 21,5%. No que diz respeito aos carbapenemos, Portugal assinala valores na ordem nos 15,7%, apresentando-se a baixo da média europeia e com percentagens mais baixas que Espanha, França e Itália (Tabela 7) (17),(38).

Assim sendo, apesar de o panorama geral de resistências ao conjunto de antibióticos referido ser superior em Portugal, numa análise particular a cada uma das classes, não se verifica um predomínio português.

Tabela 7 - Percentagem de resistência de *P. aeruginosa* em Portugal, Espanha, França, Itália e na UE (média), em 2018 ^{8,9}.
Fonte: ECDC.

	Portugal	Espanha	França	Itália	Média da UE
CARB	15,7%	18,6%	16,0%	15,8%	17,2%
AMGD	11,9%	11,6%	9,3%	12,8%	11,8%
FLQL	23,7%	20,1%	15,1%	22,9%	19,7%
CTZ	18,6%	8,7%	13%	19,9%	14,1%
PIP+TAZ	21,9%	10,9%	21,5%	23,9%	18,3%
PIP-TAZ, CARB, AMGD, FLQL e CTZ	15,3%	10,9%	11%	14,9%	12,8%

⁸ Carbapenemos (CARB), Aminoglicosídeos (AMGD), Fluoroquinolonas (FLQL), Cefotaxima (CTZ), Piperacilina+Tazobactam (PIP+TAZ) e a pelo menos 3 antibióticos do conjunto PIP-TAZ, CARB, AMGD, FLQL e CTZ

⁹ Adaptado de (39).

Tendo em mente a Figura 2, denota-se uma preponderância, no que diz respeito a valores mais significativos de resistência, nos países do Leste: Hungria (20,2%), Bulgária (25,6%), Grécia (28,7%), Polónia (29,4%), Letónia (30,8%), Eslováquia (35,9%) e Roménia (49,4%), sendo que desta área geográfica em específico, apenas a Lituânia e a Estónia apresentam valores a baixo dos 20%, 11,9% e 6,3%, respetivamente. Qualquer um destes países apresenta valores de resistência, quer individualmente a cada um dos antibióticos testados, quer no conjunto em si, bastante superiores aos dados registados de Portugal, o que se traduz numa prevalência de multirresistência consequentemente maior. (17),(38).

Em suma, através dos dados do ECDC verifica-se um agravamento na situação dos países de Leste já referidos, em comparação com Portugal, Espanha, França, Itália. Confirma-se então uma tendência geográfica nas resistências aos antibióticos causadas por *P. aeruginosa*, algo que o ECDC liga não só às diferenças no consumo de antibióticos, como também às políticas de vigilância e de cuidados de saúde aplicadas nos países em análise (38).

6. PERSPETIVAS FUTURAS

A necessidade em encontrar alternativas aos antibióticos de uso comum, aos quais *P. aeruginosa* já apresenta resistência, de modo a que seja possível um tratamento eficaz das infeções por ela causadas, é bastante distinta. Ao longo dos anos têm sido investigados vários métodos para solucionar esta questão. A terapêutica através de vacina foi um deles apesar de, até data, ainda não haverem resultados fidedignos que possam comprovar o seu uso e eficácia no tratamento de infeções por *P. aeruginosa*. Também a prescrição de anti-pseudomonais mais antigos, como a colistina tem sido tida em consideração para o tratamento de infeções, verificando-se um aumento do seu uso devido à emergência de resistências a antibióticos que eram previamente usados (4). Outro tipo de antibióticos anti-pseudomonais, como é o caso de Ceftolozane-Tazobactam e Ceftazidime-Avibactam, com alta atividade contra *P. aeruginosa*, também têm estado sob ensaio clínico na Europa, apesar de ainda não constituírem um tratamento comprovado (18).

No entanto, é necessário recorrer e, em alguns casos criar, terapêuticas pioneiras, que não se baseiem nos mesmos mecanismos que os dos antibióticos já existentes. Vários autores defendem a pesquisa de fármacos capazes de inibir os fatores de virulência de *P. aeruginosa*, criando assim um mecanismo de ação diferente dos antibióticos comuns, o que constitui uma vantagem face às resistências que a bactéria apresenta. Algumas das novas terapias em investigação com base na inibição dos fatores de virulência, incluem: (9)

6.1. Compostos Inibidores de Biofilmes e de Quorum Sensing

A deteção de moléculas capazes de atuar no sistema de sinalização *Quorum Sensing*, que por sua vez está envolvido na formação de biofilmes, é uma estratégia bastante apelativa. Isto porque inibindo ou impedindo a formação das moléculas que atuam no QS, a produção dos biofilmes é inevitavelmente condicionada, o que se traduz numa redução marcada da virulência de *P. aeruginosa*. Exemplos de moléculas que mostram capacidade de redução na produção dos biofilmes são o Óxido Nítrico (ON) e ainda um derivado das algas marinhas, o oligómero de alginato (OligoG) que mostra não só capacidade de dispersão dos biofilmes como também características mucolíticas, situando-se em Fase II de ensaios clínicos (1).

6.2. Bacteriófagos

Os bacteriófagos são estruturas que derivam de vírus e que têm a capacidade de ligação a bactérias patogénicas, multiplicar-se com as mesmas e, de seguida, lisá-las. Adicionalmente, são capazes de destruir biofilmes através da sua ação enzimática.

Estes organismos estão também em estado de ensaio clínico (Fase III) mas, até agora, têm-se provado vantajosos no tratamento de infecções uma vez que acarretam doses e intervalos de posologia mais baixos quando comparados com antibioterapia. Para além disso, os estudos mostram que poderá haver benefício numa terapêutica antibiótica concomitante com o uso de bacteriófagos (1),(39).

6.3. Imunoterapia

Várias abordagens da imunoterapia têm sido feitas, como é o caso da imunização ativa por vacina, apesar da falha em comprovar a eficácia desta. Mais recentemente, estão a ser conduzidos estudos sobre a possível atividade de um anticorpo monoclonal contra o PcrV, um composto do Sistema de Secreção de Tipo 3. Também o panobacumab está a ser usado em ensaios clínicos de modo a que a sua ação anti-LPS, quebrando assim a integridade da parede celular, seja confirmada (1).

6.4. Furanonas

De acordo com estudos recentes, as furanonas mostram eficácia contra *P. aeruginosa*. Estes compostos são capazes de reduzir a produção de vários fatores de virulência da bactéria, como das proteases e da pioverdina, apesar dos resultados não se mostrarem consistentes em todas as análises. Em adição a esta sua capacidade, as furanonas mostram também efeito de interferência na formação e desenvolvimento de biofilmes, especialmente no que diz respeito às *persister cells* – ao atuarem nas mesmas, são capazes de reduzir o seu número e assim facilitar a erradicação de biofilmes (40).

As possíveis terapias descritas anteriormente revelam esperança na melhoria dos resultados dos doentes e nas taxas de mortalidade relativas a infecções por *P. aeruginosa*, que, com a emergência e disseminação de resistências, se mostram difíceis de tratar. Apesar de nenhuma destas terapêuticas constituir ainda um tratamento eficaz confirmado, os resultados, até agora benéficos, e a condição atual face às resistências de *P. aeruginosa*, revelam que é importante que se prossiga a investigação no sentido da pesquisa de novas moléculas, com mecanismos de ação diferentes aos típicos usados para combater esta bactéria (41).

7. CONCLUSÃO

P. aeruginosa tem tanto de admirável como de prejudicial. A sua virulência e capacidade infecciosa, especialmente em doentes imunocomprometidos revela a sua magnitude e preponderância enquanto bactéria. Contudo, os mecanismos de resistência que é capaz de apresentar, provenientes não só da sua natureza como da aquisição de genes de resistência, a ocorrência de estirpes MDR, XDR e PDR e a consequente falha de opções terapêuticas viáveis, denunciam-na como uma ameaça, em muitos casos, mortal.

As características genéticas e estruturais de *P. aeruginosa* não nos permitem prever um decréscimo ou estabilização da sua patogenicidade, muito pelo contrário. Assim sendo, é fulcral que se estabeleçam não só medidas profiláticas, que permitam reduzir a percentagem de infeções nosocomiais causadas por esta bactéria, como também regimes terapêuticos adequados às mesmas, tendo em conta as resistências apresentadas pela estirpe bacteriana. A realização de testes de suscetibilidade aos antibióticos, de modo a que se possam gerir as possibilidades de tratamento e aplicar o mais adequado à infeção em causa deveria ser considerada uma necessidade nestes casos. A prova de necessidade destes testes recai sobre os dados relativos às percentagens de resistência aos antibióticos por *P. aeruginosa*, que se revelam preocupantes, não só a nível nacional como também a nível europeu. Apesar se de notar um decréscimo contínuo ao longo dos anos, Portugal não apresenta um valor percentual situado na *green area* (<5%), o que indica uma taxa de resistência considerável e levanta dificuldades no que diz respeito a medidas eficazes para o tratamento de infeções causadas por *P. aeruginosa*. Desde modo, é imperativo que se proceda à implementação de medidas de prevenção e controlo, de modo a que se consiga contornar a situação de resistência retratada em Portugal.

A emergência e disseminação de resistências por *P. aeruginosa* é uma questão que requer o esforço da comunidade científica já que é urgente a criação de novas estratégias terapêuticas, quer sejam novos alvos ou novas moléculas, que permitam combater as infeções resistentes por esta bactéria causadas. Contudo, é preciso manter em mente que o agente ótimo para o tratamento de infeções resistentes tem de ter em conta os perfis de suscetibilidade e os padrões de resistência apresentados por *P. aeruginosa*, diminuindo assim a probabilidade de recorrer a alternativas às quais a bactéria pode não ser suscetível.

A expectativa é que, futuramente, seja possível ter à nossa disposição várias alternativas terapêuticas eficazes, desde as mais comuns às mais vanguardistas, com o objetivo de que as infeções criadas por uma *P. aeruginosa* resistente possam ter vários tratamentos possíveis e não culminem num desfecho fatal.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. L LUND-PALAU, HELENA; TURNBULL, ANDREW R.; BUSH, ANDREW; BARDIN, EMMANUELLE; CAMERON, LOREN; SOREN, ODEL; WIERRE-GORE, NATASHA; ALTON, ERIC W F W; BUNDY, G; CONNETT, GARY; FAUST, SAUL N; FILLoux, ALAIN; FREEMONT, PAUL; KHOO, VALERIE; MORALES, SANDRA; MURPHY, RONAN; PABARY, RISHI; SCHELENZ, SILKE; TAKATS, ZOLTAN; WEBB, JEREMY; WILLIAMS, HUW D.; DAVIES, C.; TURNBULL, ANDREW R.; BUSH, ANDREW; BARDIN, EMMANUELLE; CAMERON, LOREN; SOREN, ODEL; WIERRE-GORE, NATASHA; ALTON, ERIC; BUNDY, JACOB G.; FAUST, SAUL N.; FILLoux, ALAIN; FREEMONT, PAUL; JONES, ANDY; KHOO, VALERIE; MORALES, SANDRA; MURPHY, RONAN; PABARY, RISHI; SIMBO, AMEZE; SCHELENZ, SILKE; TAKATS, ZOLTAN; WEBB, JEREMY - **Pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis: pathophysiological mechanisms and therapeutic approaches.** Expert Review of Respiratory Medicine, May (2016) 1–14.
2. PEREIRA, SG.; ROSA, AC.; FERREIRA, AS.; MOREIRA, LM.; PROENÇA, DN.; MORAIS, PV.; CARDOSO, O. - **Virulence factors and infection ability of Pseudomonas aeruginosa isolates from a hydropathic facility and respiratory infections.** Journal of Applied Microbiology 116 (2014) 1359–1368.
3. MULCAHY, LR.; ISABELLA, VM.; LEWIS, K. - **Pseudomonas aeruginosa Biofilms in Disease.** Microbial Ecology 68 (1) (2014) 1–12.
4. DRISCOLL, JA.; BRODY, SL.; KOLLEF, MH. - **The epidemiology, pathogenesis and treatment of Pseudomonas aeruginosa infections.** Drugs. 67(3) (2007) 351–368.
5. PEREIRA, SG.; MARQUES, M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, O. - **Multidrug and Extensive Drug Resistance in Pseudomonas aeruginosa Clinical Isolates from a Portuguese Central Hospital: 10-Year Survey.** Microbial Drug Resistance (2014) 1–7.
6. GLESSNER, A.; SMITH, RS.; IGLEWSKI, BH.; ROBINSON, JB. - **Roles of Pseudomonas aeruginosa las and rhl quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes.** Journal of Bacteriology 179(18) (1997) 5756–5767.
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Antimicrobial resistance - Global**

Report on Surveillance 2014. WHO (2014).

8. TAYLOR, PK.; YEUNG, ATY.; HANCOCK, REW. - **Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms: Towards the development of novel anti-biofilm therapies.** Journal of Biotechnology (2014)1–10.
9. PEREIRA, SG.; ROSA, AC.; CARDOSO, O. - **Virulence factors as predictive tools for drug resistance in pseudomonas aeruginosa.** Virulence. 6(7) (2015) 679–83.
10. PARSEK, MR.; GREENBERG, EP. **Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: A signaling mechanism involved in associations with higher organisms.** 97(16), 8789–8793 In: “National Academy of Sciences, Arnold and Mabel Beckman Center in Irvine, CA. “Virulence and Defense in Host–Pathogen Interactions: Common Features Between Plants and Animals” (2000).
11. BREIDENSTEIN, EBM.; FUENTE-NÚÑEZ, C.; HANCOCK, REW. - **Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance.** Cell Press. 19(8) (2011) 419–426.
12. RUMBAUGH, KP.; GRISWOLD, JA.; HAMOOD, AN. - **The role of quorum sensing in the in vivo virulence of Pseudomonas aeruginosa.** Microbes and Infection 2 (2000) 1721–1731.
13. DAVIES, DG.; PARSEK, MR.; PEARSON, JP.; IGLEWSKI, BH.; COSTERTON, JW.; GREENBERG, EP. – **The Involvement of Cell-to-Cell Signals in the Development of a Bacterial Biofilm.** Sciencemag. 280(April) (1998) 295–299.
14. DRENKARD, E. - **Antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa biofilms.** Microbes and Infection 5 (2003)1213–1219.
15. EVERETT, C.; PESCI, B.; IGLEWSKI, H. - **The chain of command in Pseudomonas quorum sensing.** Trends in Microbiology 5(4) (1997) 1–4.
16. ELDERE, J. VAN; GLUPCZYNSKI, Y. - **Pseudomonas aeruginosa: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium.** Clinical Microbiological Infections 13 (2007) 560–578.
17. MARQUES, D. - **Prevalência e susceptibilidade de isolados clínicos de Pseudomonas aeruginosa numa unidade hospitalar de Portugal.** Dissertação de Mestrado, Universidade do Minho (2015).
18. BASSETTI, M.; VENA, A.; CROXATTO, A.; RIGHI, E; GUERY, B. - **How to manage Pseudomonas aeruginosa infections.** Drugs Context. 7 (2018) 1–18.

19. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL - **Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. Annual epidemiological report for 2017.** Stockholm: ECDC (2019).
20. DŽIDIĆ, S.; ŠUŠKOVIĆ, J.; KOS, B. - **Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Biochemical and genetic aspects.** Food Technology and Biotechnology 46(1) (2008) 1–21.
21. AZEVEDO, S. - **Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos.** Dissertação de Mestrado, Porto (2014).
22. DONOWITZ, GR.; MANDELL, GL. - **Beta-Lactam Antibiotics (First of Two Parts).** New England Journal of Medicine 318(7) (1988) 419–426.
23. SUÁREZ, C.; GUDIOL, F. - **Beta-lactam antibiotics.** Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 27(2) (2009) 116–129.
24. ROIAS, C. - **Beta-lactamase AmpC: actualização do diagnóstico laboratorial e estratégia terapêutica.** Dissertação de Mestrado, Lisboa (2017).
25. KRAUSE, KM.; SERIO, AW.; KANE, TR.; CONNOLLY, LE. - **Aminoglycosides: An overview.** Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine 6(6) (2016) 1–18.
26. POOLE, K. - **Aminoglycoside resistance in Pseudomonas aeruginosa.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy 49(2) (2005) 479–487.
27. LAMBERT, PA. - **Mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa.** Journal of the Royal Society of Medicine 95(41) (2002) 22–26.
28. MANUELA, A.; RIBEIRO, F. - **Farmacologia dos Antibióticos Aminoglicosídeos.** Dissertação de Mestrado, Porto (2017).
29. STRATEVA, T.; YORDANOV, D. - **Pseudomonas aeruginosa - A phenomenon of bacterial resistance.** Journal of Medical Microbiology 58(9) (2009) 1133–1148.
30. AMBLER, RP. - **The structure of beta-lactamases.** Trans R Soc Lond. 289 (1980) 321–331.
31. MELETIS, G.; EXINDARI, M.; VAVATSI, N.; SOFIANOU, D.; DIZA, E. - **Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in Pseudomonas aeruginosa.** Hippokratia. 16(4) (2012) 303–307.
32. TANKHIWALE, S. **Beta-lactamases in P. aeruginosa: A Threat to Clinical Therapeutics.** Current Pediatric Research 20(1) (2016) 253–257.

33. PEREIRA, SG.; REIS, T.; MENDEZ, IP.; CARDOSO, O. - **Prevalence and molecular epidemiology of imipenem-resistant pseudomonas aeruginosa carrying metallo-beta-lactamases from two central hospitals in Portugal.** *Microb Drug Resist.* (2013) 1–5.
34. HOOPER, DC. - **Mechanisms of Action and Resistance of Older and Newer Fluoroquinolones.** *Clinical Infectious Diseases* 31 (Suplemento 2) (2000) S24–28.
35. BLONDEAU, JM. - **Fluoroquinolones: Mechanism of action, classification, and development of resistance.** *Survey of Ophthalmology* 49(2) (2004) 1–6.
36. STRAHILEVITZ, J.; JACOBY, GA.; HOOPER, DC.; ROBICSEK, A. - **Plasmid-mediated quinolone resistance: A multifaceted threat.** *Clinical Microbiology Reviews* 22(4) (2009) 664–689.
37. KAPLAN, E.; OFEK, M.; JURKEVITCH, E.; CYTRYN, E. - **Characterization of fluoroquinolone resistance and qnr diversity in Enterobacteriaceae from municipal biosolids.** *Front Microbiol.* (2013);4:1–7.
38. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL - **Antimicrobial consumption in the EU/EEA.** Stockholm: ECDC (2019).
39. WRIGHT, A.; HAWKINS, CH.; ÄNGGÅRD, EE.; HARPER, DR. **A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa; A preliminary report of efficacy.** *Clinical Otolaryngology* 34(4) (2009) 349–357.
40. PROCTOR, CR.; MCCARRON, PA.; TERNAN, NG. - **Furanone quorum-sensing inhibitors with potential as novel therapeutics against Pseudomonas aeruginosa.** *Journal of Medical Microbiology.* 69 (2020) 195–206.
41. NOVAL, M.; BANOUB, M.; CLAEYS, KC.; HEIL, E. - **The Battle Is on: New Beta-Lactams for the Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Negative Organisms.** *Current Infectious Disease Reports* 22(1) (2020) 1–9.
42. CROUSILLES, A.; MAUNDERS, E.; BARTLETT, S.; FAN, C.; UKOR, EF.; ABDELHAMID, Y.; BAKER, YSOBEL.; FLOTO, ANDRES.; SPRING, DAVID R.; WELCH, MARTIN. - **Which microbial factors really are important in Pseudomonas aeruginosa infections?** *Future Microbiology.* 10(11) (2015) 1–12.
43. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. - **Type of HAI per country.** ECDC (2012) [Acedido a 28 de maio, 2020]. Disponível na

Internet: <https://www.ecdc.europa.eu/en/healthcare-associated-infections-acute-care-hospitals/database/hai-types-distribution/one-country>

44. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. - **Surveillance Atlas of Infectious Diseases**. ECDC (2018) [Acedido a 28 de maio, 2020]. Disponível na Internet: <https://www.ecdc.europa.eu/en/surveillance-atlas-infectious-diseases>