



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Rita da Silva Bento

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Resistência aos Antibióticos – relação ambiente *versus* ser humano” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Luís Filipe Ferro, da Dra. Magda Lucinda Russo e da Professora Doutora Olga Maria 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 2019

1 2 9 0



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Rita da Silva Bento

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Resistência aos Antibióticos – relação ambiente *versus* ser humano” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Luís Filipe Ferro, da Dra. Magda Lucinda Russo e da Professora Doutora Olga Maria Cardoso e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em

Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Eu, Joana Rita da Silva Bento, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014196257, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Resistência aos Antibióticos – relação ambiente *versus* ser humano” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 2 de setembro de 2019.



(Joana Rita da Silva Bento)

Agradecimentos

Queria agradecer a todos os que fizeram parte do meu percurso académico e me apoiaram, e em especial:

À minha mãe, que é a minha força e que nunca deixou que nada me faltasse e sempre me apoiou.

Ao meu padrasto, que me apoia e fica sempre de lágrima no olho com os meus sucessos.

À minha irmã, que me apoia em tudo e é um orgulho para mim e um exemplo de força.

Ao meu namorado, que nunca me deixa desistir e me dá força nos momentos mais difíceis.

À minha tia Bela e ao meu padrinho José Manuel, que sempre estiveram do meu lado durante estes anos e estão sempre presentes nos momentos mais importantes.

À minha prima “irmã” Tânia, com quem partilhei o percurso académico.

À minha avó Lina, que nunca se cansa de me perguntar como correm os estudos e pelo orgulho que demonstra sentir pelos netos.

À minha avó Manuela e ao meu avô Chico, que foram os meus apoios quando tudo começou, no 1º ciclo.

À minha princesa, a Beatriz, que sem dar conta, é um grande apoio.

À minha irmã de praxe Rita, à minha madrinha Ana e à minha afilhada Diana.

Aos meus amigos e a todos os familiares.

À Professora Doutora Olga Cardoso, minha orientadora, pelo tempo disponibilizado e apoio prestado.

Ao Dr. Luís Ferro, por ter estado sempre disponível para me ensinar e esclarecer e à equipa da Farmácia Paula de Campos por me ter recebido tão bem, por me ter transmitido tanto conhecimento e por me ter feito sentir parte da equipa.

À Dra. Magda Russo, ao Dr. Constantino Domingos e a toda a equipa do Grupo Tecnimede com quem contactei.

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	7
Introdução	9
Análise Swot.....	10
1. Forças.....	10
1.1 Equipa Técnica	10
1.2 Horário de Funcionamento e Localização	10
1.3 Planeamento de Estágio	10
1.4 Liberdade.....	10
1.5 Serviços Prestados na Farmácia	11
1.6 Número de Estagiários.....	11
1.7 Contacto com o Público.....	11
2. Fraquezas.....	11
2.1 Insegurança no Aconselhamento	11
2.2 Dermofarmácia e Cosmética.....	12
2.3 Medicamentos Veterinários	12
2.4 Associar o Nome Comercial ao Princípio Ativo	12
2.5 Medicamentos Esgotados	12
2.6 Preparação de Manipulados	13
3. Oportunidades	13
3.1 Formações.....	13
3.2 Contacto com a Realidade Profissional.....	13
4. Ameaças.....	13
4.1 Pedido De Dispensa De Medicamento Sujeito A Receita Médica Sem Receita	13
4.2 Automedicação e Desvalorização Dos Profissionais De Saúde.....	14
4.3 Venda De Medicamentos Não Sujeitos A Receita Médica Fora Das Farmácias	14
Casos Clínicos	14
Conclusão	16
Bibliografia	17

Parte II - Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas	19
Introdução	20
Análise Swot.....	21
1. Forças.....	21
1.1 Atlantis Pharma.....	21
1.2 Atividades Desenvolvidas	21
1.3 Aprendizagem com os Técnicos.....	22
1.4 Autonomia e Responsabilidade	22
1.5 Ambiente de Trabalho	22
1.6 Acolhimento	23
1.7 Tecnologia Farmacêutica	23
2. Fraquezas.....	23
2.1 Duração do Estágio.....	23
2.2 Planeamento do Estágio	23
3. Oportunidades	23
3.1 Contacto com a Indústria Farmacêutica	23
3.2 Área Nova.....	24
3.3 Formação.....	24
3.4 Continuidade do Estágio.....	24
3.5 Polivalência do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas	24
4. Ameaças.....	24
4.1 Desvalorização do Farmacêutico	24
Conclusão	25
Bibliografia	25

Parte III - Monografia Intitulada “Resistência Aos Antibióticos – Relação Ambiente Versus Ser Humano”

Resumo	27
Abstract.....	28
Lista de Abreviaturas	29

Introdução	30
Resistoma – Natural <i>Versus</i> Contaminante.....	31
Resistoma Contaminante.....	31
Mecanismos de Resistência.....	33
i) Alteração Enzimática do Antibiótico	34
ii) Diminuição da Penetração e Efluxo de Antibióticos	36
iii) Alterações no Local Alvo do Antibiótico	37
iv) Processos de Adaptação Celular	39
Reservatórios.....	39
Solo.....	39
Pecuária	40
Água	40
Estação de Tratamento de Águas Residuais.....	42
Hospitais.....	43
Ser Humano.....	44
Origem da Resistência aos Antibióticos.....	44
Disseminação	45
Transmissão das Resistências ao Ser Humano.....	46
Controlo das Resistências	47
Conclusão.....	50
Bibliografia	51

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas

FPC - Farmácia Paula de Campos

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MSRM - Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

Introdução

O curso Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Universidade de Coimbra tem a duração de cinco anos, sendo o último semestre do último ano dedicado à realização dos estágios curriculares. É nesta altura que colocamos em prática os conhecimentos que adquirimos durante os cinco anos que decorreram e, a meu ver, é também nesta altura que percebemos o que é ser farmacêutico e que nos começamos a sentir como tal. Isto porque começamos a sentir a responsabilidade que devemos assumir para com o utente, para com a saúde e bem-estar da população em geral. Conforme o artigo 10.º do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, “a primeira e a principal responsabilidade do farmacêutico é para com a saúde e o bem-estar do doente e do cidadão, devendo pôr o bem dos indivíduos à frente dos seus interesses pessoais ou comerciais e promover o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança” e este “deve ter sempre presente o elevado grau de responsabilidade que nela se encerra, o dever ético de a exercer com a maior diligência, zelo e competência e deve contribuir para a realização dos objetivos da política de saúde.”.

O primeiro estágio que realizei foi em Farmácia Comunitária e a Farmácia que escolhi foi a Farmácia Paula de Campos (FPC). Escolhi esta Farmácia por recomendação de uma amiga que me elucidou no sentido de ser uma Farmácia formada por uma excelente equipa de profissionais, com um excelente ambiente laboral e com uma carteira de clientes muito heterogénea, o que para mim constituíram fatores muito importantes na minha decisão. A farmácia localiza-se na área de Lisboa, local onde sempre idealizei fazer o meu estágio, por considerar que é na capital que há mais oportunidades de trabalho.

Análise SWOT

I. Forças

I.1 Equipa Técnica

A equipa da FPC é constituída por 18 profissionais, sendo cinco farmacêuticos, oito técnicos de farmácia e cinco técnicos de Dermocosmética. São uma equipa empenhada, focada e sempre atentos às necessidades dos utentes. Apesar de a farmácia estar sempre com muita afluência de clientes, sempre senti que havia disponibilidade da equipa para me ajudar.

I.2 Horário de funcionamento e localização

A FPC está localizada no Centro Comercial da Portela, tendo um horário de funcionamento das 9h às 21h de sexta a sábado e das 9h às 19h ao domingo e feriados. Este horário, juntamente com a excelente localização, permite à farmácia ter uma grande afluência de pessoas durante todo o dia e permitiu-me a mim ter contacto com o mais variado tipo de utentes.

I.3 Planeamento de estágio

Inicialmente, estive no *backoffice* da farmácia a dar entrada das encomendas, a proceder a devoluções e a tratar da arrumação dos medicamentos no armazém e no *robot*. Mais tarde, para começar a ter conhecimento das localizações dos medicamentos na zona do atendimento, fiz a gestão das validades e comecei a fazer também a arrumação dos medicamentos nas gavetas e lineares. Em seguida, assisti aos atendimentos dos meus colegas. Posteriormente, comecei a realizar atendimentos, tentando sempre estar ao lado de um colega, para que me fosse possível a qualquer momento esclarecer qualquer dúvida que surgisse. Por fim, foi-me dada total autonomia para realizar os atendimentos, mas podendo sempre contar com o apoio dos colegas, caso fosse necessário. Tratei também da resolução de receituário, fiz a verificação das faturas das compras aos fornecedores da farmácia e aprendi ainda o que devemos ter em conta na hora que fazer as encomendas diárias dos medicamentos em falta. Uma vez que a FPC tem uma zona apenas dedicada à Dermocosmética, estive também uma semana nessa zona para que pudesse aprender mais acerca do aconselhamento nesta área.

I.4 Liberdade

Desde o início senti que me fora depositada confiança e conferida total liberdade no meu trabalho, quer fosse para percorrer os espaços da farmácia, como para questionar sobre

todos e quaisquer temas relacionados com a farmácia ou medicamentos. Senti que me davam autonomia e que confiavam no meu trabalho, o que para mim foi muito importante.

1.5 Serviços prestados na farmácia

A FPC dispõe de vários serviços, como medição da glicémia, tensão arterial e colesterol total, administração de vacinas, consultas de nutrição, tratamento de feridas e mudança de pensos. Uma vez que é uma farmácia bastante dinâmica, cria com bastante regularidade diferentes iniciativas para os seus clientes, fomentando assim a relação profissional-cliente. Pessoalmente, tive a oportunidade de passar um dia a realizar rastreios de Colesterol Total e Tensão Arterial, tendo sentido que foi uma mais valia no contacto com os utentes.

1.6 Número de estagiários

Eu era a única estagiária, o que a meu ver foi uma vantagem, pois sempre me senti apoiada. Sempre achei que sendo estagiária e, sendo este o meu primeiro estágio, que poderia ser menosprezada e vista apenas como uma estagiária, o que, na realidade, não senti que tivesse acontecido. Fizeram-me sentir parte da equipa.

1.7 Contacto com o público

Desde o início senti facilidade no contacto com os utentes, que sei que para muitos profissionais é um grande obstáculo. Neste âmbito já detinha alguma experiência, uma vez que o setor de atividade da minha família permitiu-me que, desde muito nova, estivesse habituada a lidar com o atendimento ao público e a saber ultrapassar e reconhecer as particularidades de cada um. No entanto, confirmo que é um desafio exigente conseguir lidar com posturas conflituosas e/ou situações delicadas mantendo sempre a postura profissional que um farmacêutico deve ter.

2. Fraquezas

2.1 Insegurança no aconselhamento

De início sentia muita insegurança no aconselhamento e o meu maior receio era transmitir essa insegurança ao utente, o que poderia fazer com que também ele se sentisse inseguro e isso viesse a descredibilizar o meu trabalho. No entanto, encarei o processo com toda a normalidade que lhe era devida, uma vez que, apesar do contacto com toda a teoria na parte curricular, é ali que a colocamos em prática pela primeira vez. E como me disse uma vez o meu orientador “não é quando estás insegura que fazes asneiras, é sim quando ganhas

confiança e achas que já sabes tudo”. Para mim, fez todo o sentido. Apesar de me sentir insegura, nunca deixei de fazer nenhum aconselhamento e quando não sabia realmente o que era mais indicado na situação apresentada, pedia ajuda a um colega e, mais tarde, informava-me melhor acerca dos tratamentos possíveis naquela situação.

2.2 Dermofarmácia e Cosmética

Quando contactei com esta área pela primeira vez na farmácia, é que tive realmente noção do pouco conhecimento que tenho para poder fazer um bom aconselhamento. Dentro de cada marca há várias linhas, cada linha direcionada a um tipo de pele e a um problema em particular, o que se reflete em inúmeros produtos diferentes. Na faculdade, aprendemos a reconhecer os diferentes tipos de pele e fotótipos, mas aquando da realização de um aconselhamento, isso não é suficiente. Penso que seja crucial ter formações habituais e adequadas para que se possa fazer um aconselhamento atualizado e que satisfaça as necessidades do utente.

2.3 Medicamentos Veterinários

O mesmo acontece com os medicamentos veterinários. Na FPC poucos foram os atendimentos nesta área, no entanto, penso que a unidade curricular que temos no MICE não é suficiente para sabermos lidar com a realidade diária da farmácia.

2.4 Associar o nome comercial ao princípio ativo

A maior dificuldade que senti inicialmente no estágio foi associar o nome comercial ao princípio ativo e, conseqüentemente, à sua ação terapêutica. Mas, com o tempo e com o contacto diário com os medicamentos, fui reconhecendo cada vez mais nomes comerciais instintivamente.

2.5 Medicamentos Esgotados

Na altura em que realizei o estágio, uma grande variedade de medicamentos estavam esgotados, como era o caso do Lasix[®], da Aspirina GR[®], Concerta, Inderal[®] 10mg e Diovan[®]. Assim, muitos utentes dirigiam-se à farmácia apenas no sentido de saber se o medicamento X já tinha voltado ao mercado, ou quanto tempo demoraria a voltar ou quais seriam as alternativas. Alguns utentes demonstravam bastante insatisfação perante estas situações, o que é perfeitamente natural, porque em alguns dos casos, não havia alternativas ao medicamento que procuravam e para conseguirem ter uma consulta com o seu médico para este lhe trocar a medicação, podiam ter que esperar meses.

2.6 Preparação de Manipulados

Na FPC não tive a oportunidade de fazer muitos manipulados, apenas preparei uma Solução Alcoólica Saturada de Ácido Bórico. Para além de considerar que hoje em dia já não há muito recurso a medicamentos manipulados preparados na farmácia de oficina, a FPC tem no grupo farmácias com laboratórios mais desenvolvidos, pelo que são essas farmácias que acabam por fazer a preparação dos manipulados.

3. Oportunidades

3.1 Formações

Durante o meu estágio tive a oportunidade de assistir a várias formações/apresentações, como por exemplo: formação da Bial[®] com apresentação da Dormidina[®] e Reumon[®], formação da Pharmagreen[®] sobre os vários Omni-Biotic[®] no mercado, Leviker[®] e Shape up[®], formação da TheraLab[®] com apresentação dos diferentes produtos Depuralina[®] e do serviço de nutrição “Prato” e formação da ArkoPharma[®] com a apresentação da linha Cis-Control[®]. Na área mais relacionada com a Dermofarmácia, assisti à apresentação da linha Ureadin da Isdin[®] e tive a oportunidade de falar com várias conselheiras de diferentes marcas vendidas na farmácia (Filorga[®], Vichy[®], Avène[®], La Roche Posay[®], Nuxe[®], Caudalie[®], A-derma[®], Uriage[®], Bioderma[®], entre outras.).

3.2 Contacto com a realidade profissional

O estágio deu-me a oportunidade de contactar e conhecer a realidade profissional do meio farmacêutico antes mesmo de ser uma verdadeira profissional neste meio. Percebi a importância da entreajuda, da intercomunicação e do trabalho em equipa para a satisfação do utente.

4. Ameaças

4.1 Pedido de dispensa de Medicamento sujeito a receita médica (MSRM) sem receita

Muitos utentes dirigiam-se à farmácia com o intuito de comprar MSRM, sem terem receita ou qualquer indicação por parte do médico. Alguns, quando se lhe era negada a venda, ficavam indignados e diziam “vou a outra farmácia que lá eles vendem”. Se, de facto, na “outra farmácia” os utentes conseguem comprar os MSRM, sem receita e sem a farmácia ter qualquer

histórico acerca do doente e sem saberem se aquele medicamento é ou não uma medicação habitual, é, a meu ver, uma situação grave, que pode por em causa a saúde do utente e o bom nome do profissional e farmácia em questão.

4.2 Automedicação e desvalorização dos profissionais de saúde

Hoje em dia, com o aumento das tecnologias e do acesso facilitado à internet, muitas são as pessoas que acreditam saber tudo acerca da doença de que padecem ou da medicação que devem tomar. Entram na farmácia e não aceitam o aconselhamento dado pelos profissionais de saúde, porque acreditam já saber tudo. A meu ver, o problema não é o excesso de informação, porque esta é importante e a literacia em saúde é uma mais valia, mas sim a forma como as pessoas absorvem essa informação acreditando que tudo o que leem é verdade, passando desta forma a descredibilizar os profissionais de saúde.

4.3 Venda de medicamentos não sujeitos a receita médica fora das farmácias

A comercialização de medicamentos não sujeitos a receita médica fora das farmácias vem, no meu entender, menosprezar a farmácia e o próprio medicamento, levando também à descredibilização dos profissionais de saúde e, mais concretamente, dos farmacêuticos e técnicos de farmácia.

Casos Clínicos

Caso I

Dirigiu-se um utente à farmácia queixando-se que estava com bastante tosse já há alguns dias e que já estava a tomar medicação, sentindo, no entanto, que cada vez tossia mais. Questionei-o sobre o seu tipo de tosse: se era tosse seca ou com expetoração e qual a medicação que estava a fazer, pelo que ele me respondeu que tinha tosse seca e que estava a tomar acetilcisteína. Expliquei-lhe que a medicação que estava a fazer era indicada para tosse com expetoração, pois a acetilcisteína é um expetorante, o que estimula o reflexo da tosse de modo a expulsar a expetoração. Após esta explicação, sugeri ao utente tomar um antitússico, pois este iria acalmar-lhe a tosse. O antitússico escolhido por mim foi o Bisoltussin®. Avancei com a indicação de que deveria tomar 5 a 10 ml com intervalos de 4 horas, ou 15 ml com intervalos de 6-8 horas. Apercebi-me de que o cliente sentiu confiança no que lhe estava a transmitir e no fim agradeceu-me pela explicação e por toda a informação que lhe dei.

Caso 2

Uma utente chegou à farmácia a queixar-se que sentia algum ardor quando urinava e vontade constante de ir à casa de banho. Pediu de imediato um antibiótico, alegando que o toma de três em três meses e só assim se começa a sentir melhor. Expliquei à utente que o antibiótico é um MSRM, que pode levar ao aparecimento de resistências quando tomado em casos em que não é o indicado e que, perante isto, só deve ser tomado depois de ser receitado por um médico, que tenha feito um diagnóstico conclusivo, acerca da infeção em questão. A utente aceitou a minha explicação e perguntou se teria então outra opção porque não queria dirigir-se às urgências. Eu sugeri o Cis-Control® Expert Saquetas explicando que é um suplemento alimentar à base de Cranberry, Urze e D-Manose e que esta combinação de plantas selecionadas com a D-manose “tem um efeito seguro e eficaz na redução das infeções urinárias recorrentes” (Genovese Carlo *et al.*, 2017). A utente aceitou o meu aconselhamento e adquiriu o suplemento que lhe aconselhei. Acrescentei ainda que deveria tomar uma saqueta de manhã e outra à noite, diluída num copo de água (200 ml) durante 7 dias e que deve beber muita água durante o dia. Adverti-a para o caso de se não se sentir melhor nos próximos dias, se dirigir ao seu médico.

Caso 3

Uma senhora com cerca de 40 anos dirigiu-se à farmácia à procura de um protetor solar facial para usar diariamente. Afirmou que gostaria de diminuir as manchas que possuía no rosto, estas derivadas do desleixo que tinha assumido até então no contacto da sua pele com o sol. Sugeri o FotoUltra 100 - Active Unify Fusion Fluid SPF 50+, da ISDIN®, dado ser um produto que aclara e uniformiza o tom de pele, diminuindo assim manchas já existentes e auxiliando, ainda, a prevenir alterações de pigmentação devidas ao sol ao mesmo tempo que protege contra as radiações solares UVA/UVB.

Conclusão

Posto fim ao estágio na FPC, sinto que mudei a minha opinião quanto à área da Farmácia Comunitária. Acredito que, possivelmente, a Farmácia Comunitária é a área de valência de um farmacêutico onde este se sente mais útil e agradecido por parte dos utentes. Apercebi-me da importância que um farmacêutico tem na vida de um utente e como a confiança em nós pode criar uma relação forte profissional-utente e até criar uma relação de amizade, pois para muitos utentes de faixa etária mais elevada, senti que éramos não só o profissional de saúde em quem eles confiavam, mas também uma companhia, pois contactava com deles todos os dias, dando a entender que iam ali à FPC por forma a sair de casa e ver alguém que lhes desse um pouco de atenção e com quem trocassem nem que fosse só algumas palavras.

Sentir que o utente confia em nós é muito gratificante.

Por outro lado, denotei que somos uma classe desacreditada e descredibilizada, uma vez que somos vistos como meros vendedores de medicamentos por muitas pessoas – mas, cabe-nos a nós mostrar que somos profissionais de saúde qualificados e que desempenhamos um papel ativo e importantíssimo na saúde da população.

Estes meses foram uma completa aprendizagem. Todos os dias aprendi coisas novas, o que tornou cada dia muito interessante e desafiante. Sinto que para além de ter posto em prática muito do que aprendi durante o meu percurso curricular, também adquiri muitos conhecimentos novos que me fizeram sentir mais preparada e com vontade de iniciar o meu percurso profissional.

Mais uma vez, queria deixar o meu agradecimento a toda a equipa da FPC. Cada um deles marcou o meu percurso e este estágio de uma forma muito positiva. Sinto que não podia ter escolhido melhor local para estagiar.

Bibliografia

- 1- Portugal. Ordem dos farmacêuticos – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. Lisboa: OF.
- 2- GENOVESE, C. DAVINELLI, S., MANGANO, K., TEMPERA, G., NICOLOSI, D., CORSELLO, S., VERGALITO, F., TARTAGLIA, E., SCAPAGNINI, G., DI MARCO, R. Effects of a new combination of plant extracts plus d-mannose for the management of uncomplicated recurrent urinary tract infections. *Journal of Chemotherapy*. 30, (2018) 107–114.
- 3- Farmácias Portuguesas. [Acedido a 7 de maio de 2019], Disponível em: <https://www.farmaciasportuguesas.pt>

Parte II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas

AP - Atlantis Pharma

BPF - Boas Práticas de Fabrico

GP - Grupo Tecnimede

IF - Indústria Farmacêutica

IPC - *in-process-control* (IPC)

MICF - Mestrado Integrado Em Ciências Farmacêuticas

SOPs - Procedimentos Operativos Padrão

Introdução

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra dá a possibilidade aos alunos de realizarem estágio curricular não só em Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar, como também em Indústria Farmacêutica (IF). Pelo que, o segundo estágio que realizei foi em Indústria Farmacêutica, na Atlantis Pharma (AP) do Grupo Tecnimede (GT). A Tecnimede - Sociedade Técnico-Medicinal, Lda. foi criada em 1890 e, foi a primeira empresa do GT, acabando por dar o nome ao grupo. Hoje em dia o GT é composto por várias empresas, sendo a AP uma delas. A AP é a Fábrica do grupo localizada em Portugal e é responsável pela produção de medicamentos sólidos e líquidos e a embalagem dos mesmos.

O GT disponibilizava várias vagas em diversas áreas de atuação do farmacêutico dentro da IF para a realização do estágio, sendo que eu escolhi a área da produção por me parecer uma área interessante, uma vez que nos dá a possibilidade de ver tudo o que se passa com o medicamento até este estar pronto para ser disponibilizado ao utente.

Análise SWOT

I. Forças

I.1 Atlantis Pharma

A AP está dividida em duas fábricas, a Fábrica 1 que é a Fábrica de formas sólidas e a Fábrica 2 que é a Fábrica de formas líquidas. Eu realizei o meu estágio na Fábrica 1, que é constituída por diversas salas, cada uma direcionada a uma fase do processo de fabrico diferente e equipada de acordo com isso. Deste modo, existe uma sala de pesagens, três salas de granulação, duas salas de crivagem, quatro salas de compressão, uma sala de enchimento de cápsulas, uma sala de revestimento e uma sala para fazer os testes *in-process-control* (IPC). As diversas salas e equipamentos tornam possível a produção de diversos medicamentos com variadas formas farmacêuticas como, comprimidos, cápsulas e pós para granulados, na Fábrica 1. No entanto, apesar de estar na Fábrica 1, também me foi dada a possibilidade de conhecer a Fábrica 2 e os processos lá desenvolvidos.

I.2 Atividades desenvolvidas

Nos primeiros dias foram-me dados vários procedimentos operativos padrão (SOPs) para eu ler. Depois de ler os SOPS e, assim, ganhar alguma perceção do que se passava dentro da fábrica, comecei a desenvolver várias atividades, tais como:

- a correção de processos de fabrico;
- a verificação de *logbooks*;
- a abertura de *logbooks*;
- a verificação de pesagens;
- a verificação diária das balanças;
- a distribuição controlada de SOPs;
- a realização de testes IPC;
- e, dar entrada na base de dados da empresa da quantidade de comprimidos, saquetas ou tubos produzidos.

E ainda pude assistir:

- à verificação da limpeza das salas e equipamentos realizado pelo Farmacêutico responsável pelo turno;
- à triagem de comprimidos feita pelos técnicos;

- à realização do processo de fabrico do início ao fim, desde a abertura do processo, passando pela pesagem dos princípios ativos e excipientes, seguindo-se a granulação, a calibração, a compressão e o revestimento, terminando na fase de embalagem dos medicamentos;
- e, a todos os procedimentos e testes de controlo que são realizados durante e no fim do processo de fabrico, de modo a seguir as Boas Práticas de Fabrico (BPF).

1.3 Aprendizagem com os técnicos

Desde o início que me foi dada autorização para entrar nas várias salas de produção para assistir às diversas fases de produção e falar com os técnicos responsáveis por cada fase. Todos os técnicos se mostraram disponíveis para me explicar o funcionamento dos equipamentos e responder a qualquer questão que eu tivesse acerca do mesmo ou acerca do processo realizado no momento em questão. Para além disso, também me deram a sua opinião sobre que medicamentos eram mais difíceis de produzir e que cuidados adicionais tinham que ter na produção desses medicamentos. A meu ver, falar com os técnicos foi bastante importante e elucidativo para mim, uma vez que são eles que lidam todos os dias com aqueles equipamentos e com os diferentes medicamentos que são produzidos pela AP.

1.4 Autonomia e responsabilidade

Terem-me dado autonomia para a realização das tarefas que me eram propostas deu-me bastante responsabilidade e motivação para a realização das mesmas. O simples facto de me ser permitido assinar nos processos de fabrico dos medicamentos e outros documentos, tal como os farmacêuticos responsáveis pelos turnos faziam, dava-me responsabilidade e fazia-me sentir como um verdadeiro profissional empregado na empresa e não como um mero estagiário.

1.5 Ambiente de trabalho

O ambiente de trabalho na AP sempre me pareceu bastante profissional, cordial e com espírito de entreatajuda, o que me deu um ambiente favorável para aprender e desenvolver competências. Também o facto de estar no Gabinete da Dra. Magda Russo, que é a responsável pela Fábrica I e dos Farmacêuticos responsáveis pelos turnos, me fez sentir sempre apoiada.

1.6 Acolhimento

Sinto que fui bem recebida por todos, quer pelos técnicos, como por todos os chefes e farmacêuticos, o que me fez sentir à vontade na AP desde o início. Todos se mostraram sempre disponíveis para me esclarecer qualquer dúvida que tivesse, bem como para contar histórias acerca de situações ocorridas durante os processos de fabrico, o que eu considerava bastante interessante, pois dava-me uma ideia mais geral de tudo o que podia acontecer no dia-a-dia de uma IF.

1.7 Tecnologia Farmacêutica

Neste estágio, por diversos momentos, senti que estava a pôr em prática muitos dos conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares de Tecnologia Farmacêutica, o que me fez sentir mais à vontade.

2. Fraquezas

2.1 Duração do estágio

Apesar de considerar a oportunidade de estagiar na IF muito importante e enriquecedora, penso que se a sua duração fosse igual ao estágio em Farmácia Comunitária, este seria ainda mais proveitoso. Penso também que seria importante o estágio curricular realizar-se nos outros anos letivos do curso e não apenas no 5º ano letivo.

2.2 Planeamento do estágio

Penso que seria importante que o estágio se encontrasse planeado antes de começarmos a estagiar para que fossem evitados momentos de espera para que nos sejam dadas tarefas para desenvolver, bem como para evitar a monotonia e permitir que tenhamos uma maior ideia de todas as atividades que podem ser desenvolvidas pelo farmacêutico na IF.

3. Oportunidades

3.1 Contacto com a Indústria Farmacêutica

Sinto que é uma mais valia a Faculdade nos dar a oportunidade de realizarmos o nosso estágio curricular não só em Farmácia Comunitária e Hospitalar, mas também na IF. No meu caso, que estava na área da produção, foi muito interessante assistir à produção dos medicamentos que anteriormente vendi na farmácia.

3.2 Área nova

Na AP estava a ser desenvolvida uma área nova, com novas salas e novos equipamentos. Durante o tempo do estágio, tive a oportunidade de “ver nascer” esta área e de acompanhar todos os processos necessários para a inauguração e início de produção.

3.3 Formação

Devido à implementação da área nova, tive a oportunidade de assistir, durante uma semana, a uma formação acerca do novo equipamento de granulação da marca Bosch®. A formação foi dada pelos engenheiros da marca Bosch® e abordou diversos pontos, tais como, o funcionamento do equipamento, as normas de limpeza da mesma e como esta deve ser desmontada para se proceder à limpeza, como se deve agir no caso de tocarem os alarmes de emergência da máquina e foi-nos ainda dada a conhecer toda a instalação do equipamento. Nos últimos dois dias de formação, ainda com supervisão dos engenheiros, foram feitas três granulações de medicamentos placebo para testar a máquina.

3.4 Continuidade do estágio

Foi-me dada a possibilidade de continuar a estagiar no GT, fazendo parte do programa da Academia de Talentos, que teria a duração de 9 meses.

3.5 Polivalência do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF)

O MICF dá-nos as bases para ingressar em todas as áreas de atuação do Farmacêutico. Tanto neste estágio, como no estágio em Farmácia Comunitária, senti que estava a pôr em prática tudo o que tinha aprendido na teoria durante os cinco anos do curso.

4. Ameaças

4.1 Desvalorização do Farmacêutico

Na minha opinião, o farmacêutico enquanto profissional de saúde, está, cada vez mais, a ser desvalorizado. Este estágio na AP apenas reforçou esta ideia, tendo esta ganho mais força e sentido. Na área na produção da AP, tanto os chefes de produção como os chefes de turno são farmacêuticos, no entanto, nas outras áreas, como no Controlo de Qualidade, os farmacêuticos asseguravam apenas a direção da área, enquanto as outras atividades eram feitas por outros grupos profissionais.

Conclusão

Foi para mim um enorme prazer estagiar na AP e uma grande oportunidade, que me permitiu ter a percepção da realidade de uma Indústria Farmacêutica, como é o seu funcionamento e quais são as funções desempenhadas por um farmacêutico nesta área. Para além de ter tido a oportunidade de ver de perto todas as funções que um farmacêutico pode desempenhar, também me foi dada a oportunidade de desempenhar algumas delas.

Com este estágio sinto que cresci profissionalmente, uma vez que pus em prática muitos dos conhecimentos teóricos que tinha adquirido durante os 5 anos do MICF, adquiri novos conhecimentos e ganhei experiência profissional na área da produção de medicamentos, o que me deu a oportunidade de perceber a responsabilidade que é produzir medicamentos e como as BPF estão sempre presentes no dia-a-dia de uma Indústria Farmacêutica. Também pessoalmente sinto que cresci, devido ao contacto com diferentes pessoas, ao ambiente profissional em si e à elevada carga de trabalho, o que me levou a desenvolver a capacidade de gestão do tempo e de organização.

Terminada mais uma etapa, sinto-me já preparada para responder a novos desafios, mas sempre pronta e disponível para aprender mais, de modo a me tornar uma profissional exemplar.

Bibliografia

- I- Grupo Tecnimede. [Acedido a 1 de agosto de 2019], Disponível em: www.tecnimede.com

Parte III

Monografia Intitulada

“Resistência aos Antibióticos – relação ambiente versus ser humano”

Resumo

Os antibióticos apareceram no século passado e, aquando do seu aparecimento, revolucionaram a medicina no tratamento das infeções bacterianas, que era a principal causa de morte até então. No entanto, com o aparecimento dos antibióticos, depressa as bactérias desenvolveram mecanismos para se defender dos efeitos dos mesmos, surgindo assim uma ameaça para saúde humana a nível mundial, que é a resistência aos antibióticos. Desde então, muitos estudos têm sido feitos para tentar perceber se a origem da resistência se deve ao comportamento de risco do ser humano, a processos naturais ou a ambos.

O resistoma, que diz respeito à coleção de todos os genes que codificam resistência aos antibióticos pode ser designado de resistoma natural, se resulta dos mecanismos de defesa naturais das bactérias produtoras de antibióticos ou, de resistoma contaminante, se resulta das atividades humanas. Da mesma forma, a resistência pode ser dividida em resistência intrínseca, quando diz respeito à resistência desenvolvida pelas bactérias para sobreviver aos antibióticos produzidos por elas próprias, ou em resistência adquirida, quando se refere a bactérias que eram suscetíveis ao antibióticos mas que devido a alterações estruturais e/ou bioquímicas na célula, passaram a apresentar resistência ao antibiótico.

As bactérias podem apresentar resistência aos antibióticos recorrendo a vários mecanismos, que podemos dividir em: alteração enzimática do antibiótico, diminuição da penetração e efluxo de antibióticos, alterações no local alvo do antibiótico e, processos de adaptação celular.

No estudo da resistência aos antibióticos, devemos ter em conta os maiores reservatórios e fontes de genes de resistência aos antibióticos, de bactérias e de antibióticos, como são, por exemplo, o solo, a pecuária, as Estações de tratamento de água residuais, os hospitais e o ser humano. Para além disso, devemos também ter em conta as formas de transmissão da resistência aos antibióticos para o ser humano. Ter a perceção destes pontos é fulcral para que seja possível começar a desenvolver estratégias tanto a nível profissional e clínico, como a nível científico e farmacológico para controlar a resistência aos antibióticos.

Palavras-chave: bactérias; genes de resistência; mecanismos de resistência; resistência aos antibióticos; resistoma.

Abstract

Antibiotics emerged in the last century and, upon their forthcoming, they revolutionized medicine in the treatment of bacterial infections, the leading cause of death until then. Nevertheless, with the emergence of antibiotics, bacteria soon developed defense mechanisms against their effects, therefore emerging a threat to human health worldwide – antibiotic resistance. From then on, multiple studies have been carried out to figure out if the origin of resistance is due to human risk behaviour, natural processes or both.

The resistome, which refers to the collection of all genes encoding antibiotic resistance, may be referred to as natural resistome if resulting from natural defense mechanisms of antibiotic-producing bacteria or as contaminating resistome if resulting from human activities. Similarly, resistance can be divided into intrinsic resistance, when it comes to the resistance developed by bacteria to survive the antibiotics they produce themselves, or into acquired resistance, when it refers to bacteria susceptible to antibiotics that, due to structural and/or biochemical structural changes in the cell began to show antibiotic resistance.

Bacteria may be resistant to antibiotics using several mechanisms, which can be divided into: antibiotic's enzymatic alteration, antibiotic's decreased penetration and efflux, changes in the target site of the antibiotic and cellular adaptation processes.

In the study of antibiotic resistance we should take into account the largest reservoirs and sources of antibiotic resistance genes, of bacteria and antibiotics, such as soil, livestock, wastewater treatment plants, hospitals and human being himself.

Furthermore, we must also take into account the ways antibiotic resistance is transmitted to humans. Understanding these points is crucial to start developing professional and clinical, as well as scientific and pharmacological strategies to control antibiotic resistance.

Keywords: bacteria; resistance genes; resistance mechanisms; antibiotic resistance; resistome.

Lista de Abreviaturas

ABC - Adenosine triphosphate binding cassette

ACTs - Acetiltransferases

ANTs - Adeniltransferases

APHs - Fosfotransferases

CIM - Concentração Mínima Inibitória

DNA - Ácido desoxirribonucleico

ETAR - Estação de Tratamento de Águas Residuais

MATE - Multidrug and toxic efflux

MFS - Major facilitator superfamily

PBP2a - Proteínas de ligação à penicilina 2a

PBPs - Proteínas de ligação à penicilina

RND - Resistance nodulation cell division

SAM - S-adenosil-L-metionina

THG - Transferência Horizontal de Genes

UV - Ultra-violeta

Introdução

Os antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Revolucionaram a medicina quando do seu aparecimento, não só pela sua utilização no tratamento de doenças infecciosas, como também no seu uso após procedimentos cirúrgicos de transplantes de órgãos e próteses ou quimioterapias, que seriam impensáveis se não existissem os antibióticos para controlar as infecções. Assim, inúmeras vidas foram salvas.^{1,2} No entanto, de imediato começaram a advir consequências da sua utilização³.

Nos últimos anos, o aparecimento de infecções por bactérias resistentes aos antibióticos aumentou drasticamente, pelo que se acredita que a aquisição e a transferência de genes de resistência aos antibióticos associados à seleção exercida pelo uso intensivo destas substâncias explicam este acontecimento³. A World Health Organization considera a resistência aos antibióticos uma das maiores ameaças para a Saúde Humana.

Uma vez que a resistência aos antibióticos é uma realidade crescente e uma preocupante questão de saúde pública, entender a sua evolução no meio ambiente, a sua diversidade e os seus mecanismos torna-se essencial para a gestão da nossa existência e o futuro dos antibióticos². Com esta monografia tentaremos entender os mecanismos desenvolvidos pelas bactérias para se tornarem resistentes aos antibióticos, os locais onde as bactérias resistentes se acumulam, como é que o ser humano pode sofrer com isso e, tentaremos ainda perceber se a origem do aparecimento de cada vez mais bactérias resistentes aos antibióticos está relacionada com o meio ambiente ou com o ser humano.

Resistoma – Natural versus Contaminante

A coleção global de todos os genes que codificam a resistência aos antibióticos na clínica, no microbioma dos humanos e animais, e em bactérias ambientais é o “resistoma” (Perry et al., 2016). Pensa-se que a origem da resistência aos antibióticos está no ambiente, pois é no ambiente que se encontram os microrganismos (bactérias e fungos) produtores de antibióticos. E, se estes microrganismos não apresentassem os genes que codificam a resistência aos antibióticos que produzem, acabariam por se extinguir aquando da produção dos seus próprios metabolitos^{4,5}. Portanto, podemos dizer que o primeiro reservatório de genes que codificam resistência aos antibióticos é o ambiente⁶.

O resistoma ambiental está dividido em resistoma natural e em resistoma que resulta das atividades humanas, designado por contaminante, sendo que o resistoma natural é considerado o início do ciclo da resistência aos antibióticos. No entanto, o aparecimento de genes que codificam resistência aos antibióticos, que estão relacionados com os patógenos clínicos são responsabilidade dos reservatórios naturais, mas não só. O resistoma contaminante tem aqui também um papel importante, uma vez que as bactérias a ele associadas têm elevada plasticidade genómica e são capazes de disseminar os genes que codificam a resistência aos antibióticos em diferentes populações bacterianas e diferentes compartimentos ambientais. Considera-se que o risco de transmissão de bactérias resistentes do ambiente para os seres humanos é mais elevado no resistoma contaminante do que no natural, uma vez que a transferência de genes de reservatórios naturais é um evento raro e aleatório, enquanto que os genes pertencentes ao resistoma contaminante são capazes de se espalhar de modo rápido e amplo⁷.

Resistoma Contaminante

O resistoma contaminante está dividido em bactérias resistentes a antibióticos capazes ou não de colonizar ou infetar o corpo humano, que são os vetores e os portadores, respetivamente. De acordo com a Figura 1, os vetores (*vectors*) são bactérias que colonizam ou infetam, enquanto que os portadores (*carriers*) são bactérias responsáveis pela disseminação de genes codificadores da resistência no ambiente, mas não conseguem colonizar ou infetar o corpo humano⁷.

Os vetores, para que possam colonizar o corpo humano, têm de aderir especificamente através de adesinas fimbriais ou não fimbriais, nos recetores celulares das células humanas, de forma ocasional ou regular⁵. E, o impacto que estes vetores têm na saúde do hospedeiro depende do seu estado, ou seja, se este se encontra ou não debilitado, se as barreiras primárias

se encontram intactas e ainda da capacidade de virulência do próprio vetor⁷. Os vetores apresentam uma ameaça mais agravada quando são capazes de disseminar genes de resistência aos antibióticos a outras bactérias do hospedeiro por transferência horizontal de genes (THG), e, assim, promover a recombinação genética através de elementos móveis como integrões ou transposões⁷. O vetor pode ser considerado uma "superbactéria" (*MDR pathogens*) quando é capaz de, colonizar o corpo humano, adquirir resistência a diferentes classes de antibióticos e, de expressar fatores de virulência⁷.

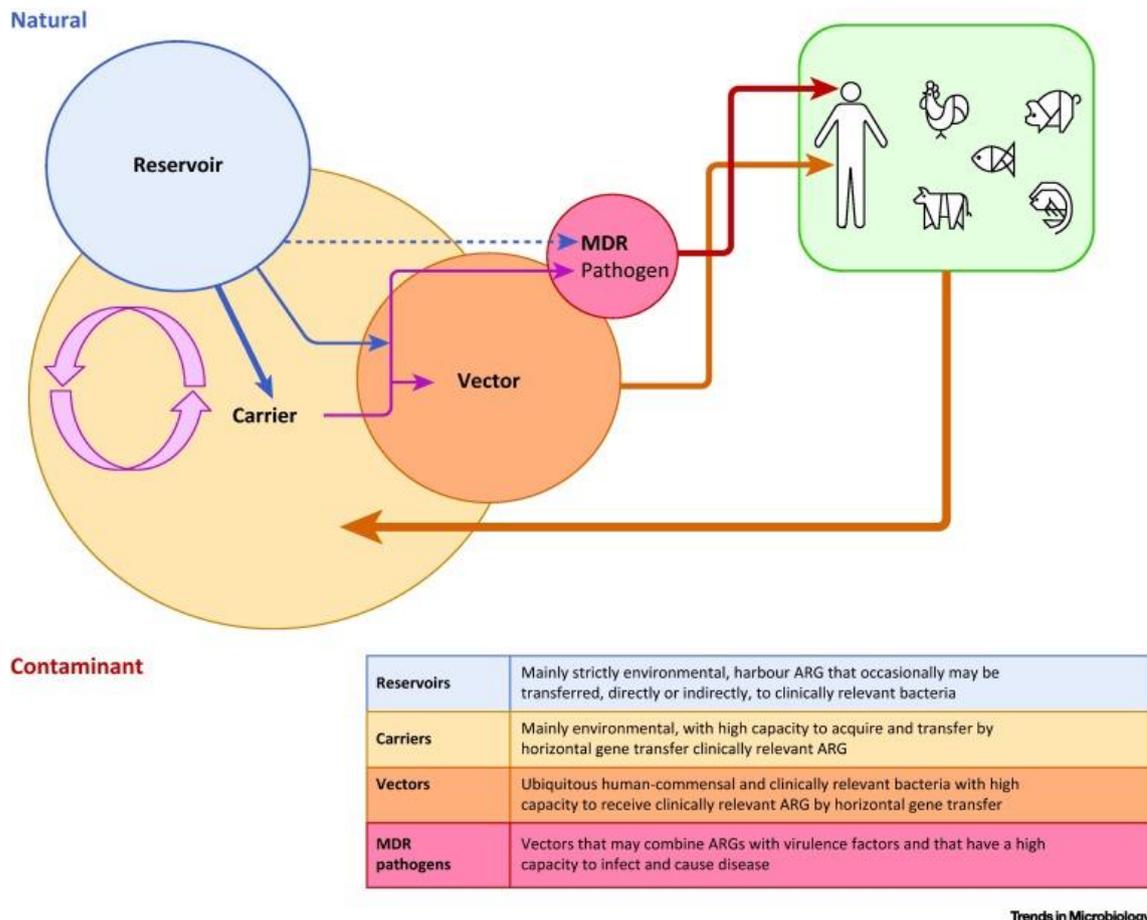


Figura I - Resistoma Natural versus Contaminante.¹

Apesar das diferenças na possibilidade ou não de infectar o ser humano, os portadores e vetores podem pertencer ao mesmo grupo taxonômico. De acordo com os estudos mais recentes, os portadores e vetores mais ativos pertencem as classes *Gammaproteobacteria* e *Betaproteobacteria* e aos filós *Actinobacteria* e *Firmicutes*. As bactérias da família *Enterobacteriaceae* e as pertencentes a gêneros como *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*,

¹ Retirada do artigo 'Assessing the Risk of Antibiotic Resistance Transmission from the Environment to Humans: Non-Direct Proportionality between Abundance and Risk', de Manaia, C. M. (2017), com a autorização dada pela Elsevier.

Enterococcus ou *Staphylococcus*, são designadas como portadores, apesar de algumas serem também consideradas vetores⁷.

Mecanismos de Resistência

Como já foi referido, a maioria dos antibióticos são produzidos por bactérias e para que estas consigam sobreviver, elas próprias têm de desenvolver resistências aos antibióticos que produzem. A este tipo de resistência chama-se resistência intrínseca. No entanto, acredita-se que o flagelo que se vive hoje em dia devido à resistência aos antibióticos não é devido à resistência intrínseca, mas sim à resistência adquirida⁸.

As bactérias apresentam uma grande capacidade de adaptação às ameaças que lhe são apresentadas, como é o caso dos antibióticos. De modo a resistir, estas utilizam duas estratégias:

- mutações no gene ou genes associados ao mecanismo de ação do antibiótico que podem levar à modificação do alvo do antibiótico, à diminuição da concentração do antibiótico dentro da bactéria, quer por impedir a entrada do antibiótico, quer por expulsão do antibiótico por mecanismos de efluxo e mudanças nas vias metabólicas de regulação⁸.
- aquisição de DNA desconhecido através da THG. A THG pode ocorrer através de transformação, transdução e conjugação. A transformação, incorporação de novo DNA, é a via mais fácil de THG, mas nem todas as bactérias são capazes de adquirir resistência através desta via. A conjugação, que é a via que acontece com maior frequência no trato gastrointestinal humano, envolve o contacto célula a célula para a transferência de genes de resistência, utilizando como veículos os Elementos genéticos móveis, que podem ser plasmídeos, transposões e integrões⁸.

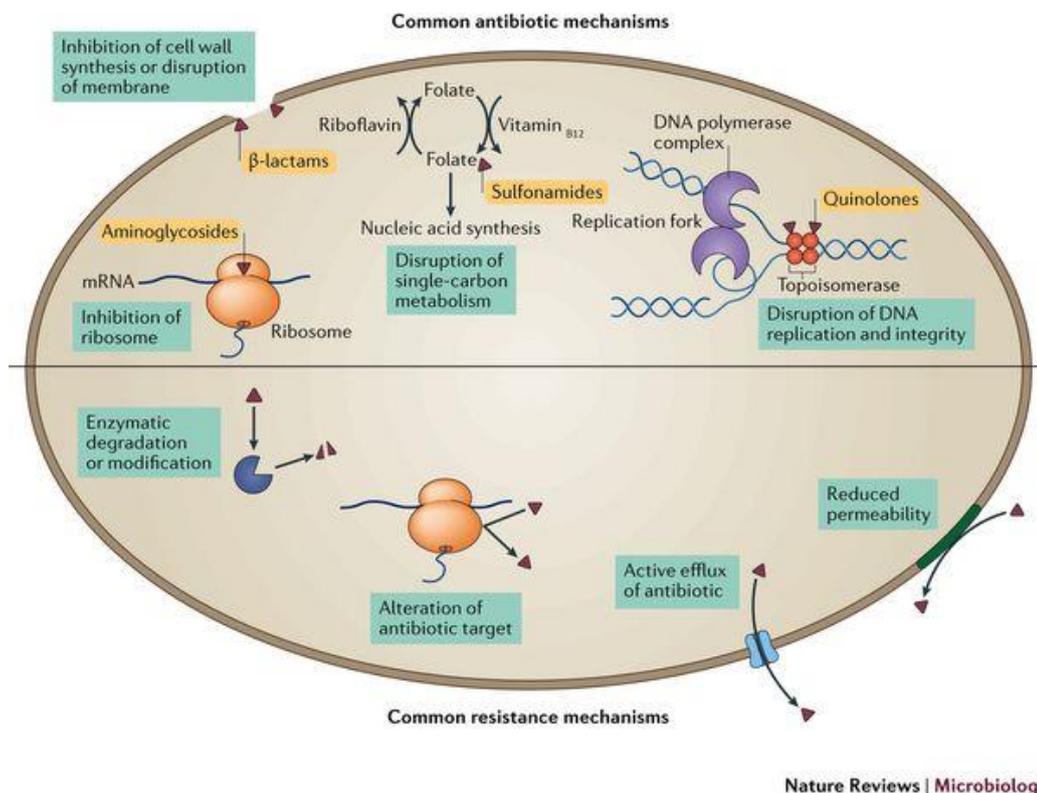


Figura 2 – Ilustração dos mecanismos de ação dos antibióticos e dos mecanismos de resistência.²

De acordo com a Figura 2, podemos dividir os mecanismos de resistência aos antibióticos da seguinte forma:

- i) alteração enzimática do antibiótico,
- ii) diminuição da penetração e efluxo de antibióticos,
- iii) alterações no local alvo do antibiótico e,
- iv) processos de adaptação celular⁸.

i) Alteração enzimática do antibiótico

A alteração química do antibiótico é uma das estratégias mais eficientes, que consiste em tornar o antibiótico incapaz de interagir com o seu alvo, inativando-o através de enzimas. Tanto as bactérias de Gram positivo com as de Gram negativo podem utilizar esta estratégia⁸.

Os beta-lactâmicos são exemplos de antibióticos afetados por este mecanismo de resistência. Os beta-lactâmicos são um grupo de antibióticos que se define pela presença do anel beta-lactâmico e a este grupo pertencem antibióticos como os carbapenemos, as

² Retirada do artigo “Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistance.” de Crofts, T. S., Gasparini, A. J., & Dantas, G. (2017), com a autorização dada pela Nature Reviews Microbiology.

penicilinas, as cefalosporinas e os monobactamos. O seu mecanismo de ação baseia-se na inibição das PBP's (proteínas de ligação à penicilina), que são proteínas responsáveis pela formação das ligações entre as cadeias peptídicas do peptidoglicano, inibindo deste modo a biossíntese do peptidoglicano e provocando a lise celular. Portanto, uma forma que as bactérias têm para se defenderem da ação dos beta-lactâmicos, é através de enzimas, designadas por beta-lactamases, que são capazes de hidrolisar o anel beta-lactâmico, tornando o antibiótico inativo. Na família *Enterobacteriaceae*, bactérias de Gram negativo, são um exemplo de bactérias que produzem beta-lactamases¹⁰.

Os genes que codificam as beta-lactamases são denominados genes *bla*, e estes podem fazer parte do genoma das bactérias e assim representar resistência intrínseca ou podem ser adquiridos através da THG. As beta-lactamases podem ser categorizadas com base na sua estrutura, segundo a classificação de Ambler, em quatro classes de A a D¹⁰:

- Classe A: penicilinases que hidrolisam penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos.
- Classe B: metalo-beta-lactamases que têm a capacidade de inativar todos os beta-lactâmicos, com exceção dos monobactâmicos.
- Classe C: cefalosporinases que inativam as cefalosporinas.
- Classe D: oxacilinases que hidrolisam a oxacilina, a cloxacilina e alguns carbapenemos¹⁰.

Os aminoglicosídeos são outro exemplo de antibióticos que podem sofrer inativação enzimática. Esta inativação pode ocorrer por acetilação, adenilação ou fosforilação, causando diminuição da ligação do antibiótico ao alvo, que são os ribossomas. As enzimas capazes de inativar os aminoglicosídeos, são:

- as acetiltransferases (ACTs), que se encontram nas bactérias de Gram negativo como as *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e *Acinetobacter* e afetam quase todos os aminoglicosídeos incluindo a gentamicina e a amicacina,
- as adeniltransferases (ANTs), que afetam a gentamicina e a tobramicina e encontram-se tanto nas bactérias de Gram negativo, como nas de Gram positivo e,
- as fosfotransferases (APHs), que se distribuem amplamente pelas bactérias de Gram negativo e de Gram positivo e afetam a estreptomicina e a canamicina⁸.

ii) Diminuição da penetração e efluxo de antibióticos

A maioria dos antibióticos utilizados na clínica têm como alvos, estruturas específicas das bactérias como o peptidoglicano, a membrana citoplasmática, os ribossomas, o DNA ou as enzimas. Assim, uma forma que as bactérias têm de resistir ao antibiótico é impedir a entrada no interior da célula através da parede celular e da membrana citoplasmática e, por consequência, no meio intracelular. Este mecanismo de diminuição da penetração e efluxo de antibióticos é mais utilizado pelas bactérias de Gram negativo, de modo a que os antibióticos não consigam atingir o seu alvo, que na maioria das vezes, são as membranas externa e citoplasmática⁸.

Nas bactérias de Gram negativo, a primeira linha de defesa é a membrana externa, que é constituída por lípidos, o que torna a célula impermeável a moléculas hidrofílicas. Os beta-lactâmicos, as tetraciclinas e algumas fluoroquinolonas, que são moléculas hidrofílicas, são exemplos de moléculas que não conseguem atravessar a membrana externa. Assim, as moléculas hidrofílicas usam as porinas, proteínas transmembranares específicas, para o transporte de moléculas para dentro da célula. Quando há alterações ao nível das porinas, as moléculas são incapazes de atravessar a membrana externa⁸.

As bombas de efluxo são um mecanismo capaz de expulsar compostos tóxicos das células, como é o caso dos antibióticos. Muitas classes de antibióticos, tais como fluoroquinolonas e beta-lactâmicos, são afetadas por este mecanismo de resistência, que tanto pode ser utilizado por bactérias de Gram positivo como por bactérias de Gram negativo. As bactérias ao serem capazes de expulsar o antibiótico, não são afetadas por ele, portanto, podemos dizer que este é mais um mecanismo de resistência aos antibióticos. Os genes que codificam as bombas de efluxo podem ser encontrados nos Elementos genéticos móveis ou nos cromossomas⁸.

As bombas de efluxo estão divididas em cinco classes: major facilitator family (MFS), multidrug and toxic efflux (MATE), resistance-nodulation-division family (RND), small multidrug resistance (SMR) que funcionam por troca de prótons e a adenosine triphosphate binding cassette (ABC) que atua por hidrólise de ATP¹¹.

No caso da resistência à tetraciclina, as bombas de efluxo em causa pertencem à classe MFS, e estas podem ser codificadas pelo gene *tet*.^{11,12} Outro exemplo é a resistência da *Escherichia coli* e da *Klebsiella pneumoniae* à ciprofloxacina e à norfloxacina, que utilizam uma bomba de efluxo da família RND, codificada pelo gene *oqxAB*. As bombas de efluxo da família RND podem também conferir resistência a outros antibióticos, como às tetraciclinas, ao

cloranfenicol e a alguns beta-lactâmicos¹¹. E, para além das RND serem capazes de expulsar uma grande variedade de antibióticos, também são capazes de expulsar outros compostos tóxicos, como sais biliares, corantes catiónicos e desinfetantes⁸.

iii) Alterações no local alvo do antibiótico

Um outro mecanismo de resistência aos antibióticos é a alteração do local-alvo do antibiótico, que tem como consequência a diminuição da afinidade do antibiótico para a bactéria. Esta diminuição pode ser conseguida não só por alteração do local-alvo, mas também por proteção do mesmo. No caso das alterações no local-alvo dos antibióticos, esta pode ser conseguida por mutações pontuais nos genes que codificam o local-alvo, por alterações enzimáticas no local-alvo ou por substituição do local-alvo original. Apesar do modo como a alteração acontece ser diferente, o objetivo é sempre o mesmo, conseguir diminuir a afinidade do antibiótico para a bactéria⁸.

Para a diminuição da afinidade do antibiótico para a bactéria por proteção do alvo, temos como exemplo, a resistência às quinolonas. As quinolonas têm como alvo a DNA girase (topoisomerase II) e a topoisomerase IV, enzimas bacterianas responsáveis por eliminar o superenrolamento das duplas cadeias de DNA durante a replicação. As quinolonas ligam-se ao complexo enzima-DNA, causando alterações conformacionais que se irão refletir na ação das topoisomerasas II e IV, causando erros na replicação do DNA que comprometem a sobrevivência celular. De modo a proteger a bactéria, uma proteína denominada proteína QNR, pertencente à família de proteínas de repetição de pentapeptídeos, age como um homólogo de DNA e compete pelo local de ligação do antibiótico à DNA girase e à topoisomerase IV, formando o complexo QNRA-topoisomerase. Uma vez que se forma o complexo QNRA-topoisomerase, há diminuição da formação do complexo quinolona-enzima-DNA, responsável por causa erros na replicação do DNA, protegendo assim a bactéria⁸.

Para além da proteção do alvo pela proteína QNR, a resistência às quinolonas, em concreto às fluoroquinolonas, pode também utilizar o método de modificação do alvo. Desta forma, alterações nas subunidades GyrA e GyrB da DNA girase por mutações ocorridas nos genes *gyrA* e *gyrB* que as codificam, vão diminuir a afinidade da fluoroquinolona às subunidades da enzima e assim tornar a bactéria menos suscetível a este antibiótico^{8,13}. O mesmo acontece com a enzima topoisomerase IV, que sofre alterações nas subunidades ParC e ParE devido a mutações nos genes *parC* e *parE*.

A resistência à rifampicina é um dos exemplos de resistência por mutações nos genes que codificam o local-alvo. A rifampicina é um derivado da rifamicina, capaz de ser ligar a uma

subunidade β da RNA polimerase, codificada pelo gene *rpoB*, bloqueando a transcrição bacteriana, e por consequência, provoca a lise celular¹³. Assim, a resistência à rifampicina, ocorre por mutações nos genes *rpoB*, impedindo a ligação do antibiótico à subunidade β da RNA polimerase. É preciso ressaltar que a mutação no gene *rpoB* apenas vai impedir a ligação do antibiótico à RNA polimerase, não alterando a atividade da polimerase, podendo assim a transcrição continuar de forma correta^{8,13}.

Outra forma de modificação do local-alvo do antibiótico é através de alterações enzimáticas do local de destino, como por exemplo, a metilação do ribossoma, catalisado por uma enzima codificada pelos genes *erm*. Devido a esta alteração, a ligação de antibióticos como os macrólidos aos ribossomas fica impossibilitada, resultando assim em resistência aos mesmos. Tal como os macrólidos, também as lincosamidas e as estreptogramina B são afetadas por esta metilação do ribossoma. Ao contrário do que acontece na mutação no gene *rpoB* em que, apesar da mutação, a atividade do ribossoma é mantida dentro do normal, a resistência mediada por genes *erm* torna o ribossoma metilado menos eficiente, pelo que é necessária uma regulação pós-transcrição bastante complexa, para que a bactéria mantenha a síntese proteica correta. Outro exemplo que evidencia a resistência alcançada devido as alterações enzimáticas é a resistência ao linezolid mediado pelo gene *cfi*. Este gene codifica a enzima CFR que pertence a família S-adenosil-L-metionina (SAM) metilase e confere resistência a antibióticos como fenicóis, lincosamidas e estreptogramina A⁸.

Por fim, um outro tipo de modificação do local-alvo do antibiótico, é a substituição completa do local-alvo. Através desta estratégia, as bactérias desenvolvem alvos completamente novos que não são reconhecidos pelo antibiótico, porém a bactéria mantém as suas funções originais. Os beta-lactâmicos, que são antibióticos que interrompem a síntese da peptidoglicano por inibição de PBPs (proteínas de ligação à penicilina), enzimas responsáveis pela transpeptidação e transglicosilação, são afetados por esta estratégia. De modo a resistir aos beta-lactâmicos, o gene *mecA* codifica PBP2a (proteínas de ligação à penicilina 2a), para o qual os beta-lactâmicos, como por exemplo, penicilinas e cefalosporinas têm baixa afinidade. Assim, como resultado da aquisição do gene *mecA* as bactérias tornam-se resistentes aos beta-lactâmicos⁸. *Staphylococcus aureus*, é um exemplo de bactéria que desenvolveu resistência à meticilina devido à presença de PBP2a, tal como acontece com os *Enterococcus* que apresentam resistência à vancomicina devido a modificações na estrutura do peptidoglicano mediadas pelos genes *van*^{8,10}.

iv) **Processos de adaptação celular**

As bactérias são sujeitas a pressões em qualquer meio em que estejam integradas. Por exemplo, no corpo humano, as bactérias estão sujeitas ao sistema imunológico e aos seus mecanismos para manter o corpo humano a salvo dos organismos prejudiciais, como é o caso das bactérias patogênicas. Assim, em resposta a essas ameaças que sofrem, as bactérias desenvolveram mecanismos complexos para se protegerem.

Como exemplos das adaptações globais celulares que levaram à resistência, temos o caso da resistência à daptomicina. Estudos feitos demonstraram que a resistência à daptomicina é conseguida através de um sistema de regulação com três componentes, designado LiaFSR, e que tem como função responder ao stress que é feito à membrana citoplasmática dos organismos de Gram positivo. Uma só mutação no gene *liaF*, que codifica a proteína LiaF, que faz parte do sistema liaFSR, aumenta a CMI de 1 para 4 µg/ml e, 4 µg/ml é o valor estabelecido para ponto de interrupção. Este é definido como a concentração que define se uma espécie de bactérias é suscetível ou resistente ao antibiótico. Se a CMI for igual ou maior que o ponto de interrupção, então dizemos que aquela espécie bacteriana é resistente ao antibiótico, e se for menor, dizemos que é suscetível¹⁴. Como, neste caso, com a deleção a CMI passou para 4 µg/ml, valor igual ao ponto de interrupção, podemos afirmar que a daptomicina deixou de ter efeito bactericida em bactérias de Gram positivo⁸.

Portanto, ao adquirirmos percepção dos mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias aos antibióticos, concluímos que para um mesmo antibiótico pode haver mais que um mecanismo de resistência, como é o caso da resistência à tetraciclina, que pode ser conseguida através de genes que codificam a alteração química do antibiótico, por genes que codificam o efluxo do antibiótico e ainda por genes que promovem a proteção do alvo¹².

Reservatórios

Solo

O solo é a maior fonte de antibióticos utilizados na terapêutica humana, uma vez que no solo se encontram milhões de bactérias produtoras de antibióticos. Conseqüentemente é também o maior reservatório de genes de resistência a antibióticos, pois acredita-se que a origem dos antibióticos está intimamente relacionada com o aparecimento da resistência aos mesmos¹⁵.

Pecuária

O aumento do crescimento global da população e o aumento irracional do consumo de proteína está a fomentar o desenvolvimento do setor da pecuária. De forma a responder às necessidades, a produção animal moderna utiliza antibióticos de modo a tornar os animais resistentes às doenças e também a acelerar o seu crescimento^{16,17}.

Estima-se que nos Estados Unidos, 80% do consumo anual de antibióticos é utilizado na produção de alimentos, sendo que os antibióticos utilizados para este fim são os mesmos que são utilizados na medicina humana para o tratamento de infeções e para a execução de procedimentos clínicos¹⁶.

No geral, os antibióticos utilizados na pecuária são usados em doses subterapêuticas, de modo profilático, não para tratar doenças que os animais já tenham, mas sim para protegê-los contra possíveis infeções, e para acelerar o aumento de peso e, portanto, o seu crescimento. São também utilizados em metafilaxia, que consiste na utilização de antibióticos para tratar o animal que está doente e os animais saudáveis que o rodeiam, protegendo-os da possibilidade de ficarem também doentes. Apesar de a profilaxia e a metafilaxia serem utilizadas com o mesmo fim, proteger o animal da possível infeção, a metafilaxia é apenas utilizada em situações especiais e em situações na qual se sabe que o animal esteve em contacto com a animais infetados, e não de forma sistemática como na profilaxia. Portanto, na pecuária, para além dos antibióticos serem utilizados como terapêutica, são também utilizados em profilaxia, em metafilaxia e como promotores de crescimento do animal¹⁶.

Na Europa os antibióticos são mais utilizados em suínos e aves de capoeira do que em bovinos e caprinos¹⁵. A exposição repetida a doses subterapêuticas, facilita mutações nos genes existentes, que levam ao aparecimento de bactérias resistentes aos antibióticos, com implicações diretas na saúde. As bactérias resistentes comensais nos animais são transmitidas ao ser humano, através do meio ambiente, do contacto direto e através da alimentação.¹¹ Os animais excretam nas fezes e na urina 40 a 95% do antibiótico que lhes foi administrado, contaminando assim o solo e aumentando a disseminação de bactérias resistentes a antibióticos no meio ambiente¹⁶.

Água

“Um dos vetores essenciais para a disseminação de resistência a antibióticos relacionadas com o Homem no meio ambiente é a água residual, como coletor dos resíduos fecais e, portanto, como reservatório de bactérias resistentes e de genes que conferem

resistências” (Pallares-Vega *et al.*, 2019). Os meios aquáticos apresentam uma maior facilidade de contacto com o ser humano do que o solo, quer através de atividades aquáticas, de águas residuais, da alimentação à base de peixes criados em aquicultura, como pela simples atividade que é beber água da torneira⁶.

Os Ecossistemas aquáticos são considerados dos mais importantes reservatórios de bactérias resistentes e de genes de resistência, devido à elevada mobilidade dos organismos e dos elementos genéticos⁶.

A água dos sistemas de distribuição, água tratada e considerada potável, sofre tratamentos de remoção de bactérias, mas nem todas são removidas na totalidade¹⁹. O objetivo do tratamento convencional de água potável é garantir que a água é segura para consumo humano através da remoção de contaminantes químicos, físicos e microbianos, tais como metais, partículas sólidas e micróbios patogénicos²⁰. No entanto, estudos demonstram que o cloro utilizado para a desinfecção da água, pode contribuir para o desenvolvimento de resistência a antibióticos, uma vez que os processos de tratamento da água potável não são, muitas vezes, concebidos para remover genes e bactérias resistentes a antibióticos, podendo mesmo acabar por promover a emergência, disseminação e transmissão de bactérias do ambiente para os seres humanos através da THG de genes de resistência a antibiótico¹⁴. Esta situação torna-se uma ameaça direta para a saúde, uma vez que a água é um bem-essencial e tendo, portanto, contacto direto diário com o ser humano, facilita o desenvolvimento de uma doença infecciosa¹⁹.

Os genes mais vezes detetados na água da torneira são os que codificam resistência para a bacitracina, as sulfonamidas, os aminoglicosídeos e para os beta-lactâmicos. Todos estes antibióticos são muito utilizados tanto na medicina humana, como na veterinária. A bacitracina, um antibiótico utilizado para tratar lesões cutâneas, foi o que apresentou maior concentração na água da torneira. Portanto, a proliferação, prevalência e persistência de bactérias resistentes e genes de resistência no ambiente aquático devido ao uso excessivo e indevido de antibióticos humanos e veterinários é uma questão de preocupação global (Sanganyado *et al.*, 2019). Esta disseminação de bactérias e genes nos vários reservatórios de fontes de água potável resulta também de atividades antropogénicas, como descargas de águas residuais e processos hidrológicos, como por exemplo, escoamentos, infiltrações, lixiviados e recarga das águas subterrâneas²⁰.

Estação de Tratamento de Águas Residuais

A maioria dos antibióticos utilizados pelo ser humano, são utilizados em casa, acabando no esgoto⁹. Uma vez que apenas uma pequena fração dos produtos farmacêuticos é metabolizada pelo corpo humano, a restante parte acaba por ser excretados na urina ou nas fezes, terminando no esgoto²¹. São, assim, as ETAR que recebem esses esgotos, tanto como outros vindos de diferentes fontes, o que significa que podem receber bactérias de diferentes ambientes. Essa junção de bactérias de diferentes ambientes vai possibilitar a sua interação e, em consequência, pode ocorrer THG²².

As ETAR podem, por isso, ser consideradas reservatórios e fornecedores de genes de resistência a antibióticos. As elevadas densidades bacterianas, os biofilmes e o stress causado por poluentes como antibióticos, biocidas, produtos farmacêuticos e metais pesados também são fatores que vão promover a THG nas águas residuais²².

Apesar de as ETAR terem a função de descontaminar as águas residuais, isso não acontece por completo. Foram encontradas bactérias resistentes nos efluentes das ETAR, apesar de a um nível geral as cargas bacterianas terem sido bastante inferiores face ao valor inicial, estas ainda são possíveis de ser encontradas, o que sugere que as ETARs não são totalmente eficazes na remoção das bactérias. A espécie predominante encontrada foi a *E. coli*, no entanto, também foram encontradas outras bactérias importantes na clínica, como bactérias de Gram negativo (*Pseudomonas* e *Acinetobacter*, por exemplo) que eram resistentes a fluoroquinolonas, a carbapenemos e produtoras de beta-lactamases de espectro alargado, *S.aureus* metilina resistentes e *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina. Para além das bactérias resistentes detetadas, muitos genes de resistência foram também detetados em ETARs²².

Nas ETARs, um dos tratamentos realizados é o tratamento com Ultra-violeta (UV). Foi observado que as bactérias reagem de forma diferente ao tratamento, enquanto que o número de bactérias resistentes à sulfadiazina, vancomicina, rifampicina e à tetraciclina aumentou, o número de bactérias resistentes à eritromicina, cefalexina, gentamicina e à ciprofloxacina diminuiu. Na Lama ativada, que resulta dos tratamentos feitos nas ETARs, foram detetados vários genes que codificam resistência à tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas e aos macrólidos²².

Portanto, as ETARs podem ser consideradas um reservatório, tanto de genes que codificam as resistências aos antibióticos, como de bactérias resistentes²².

Hospitais

“Locais de uso de antibióticos, como hospitais, contribuem para a disseminação de genes que conferem resistência aos antibióticos” (Rowe *et al.*, 2017). Os hospitais, sendo locais de uso de antibióticos, desempenham um papel importante na distribuição de antibióticos e, na proliferação de bactérias resistentes a esses mesmos antibióticos. Os efluentes hospitalares contêm resíduos de antibióticos que favorecem o aparecimento de bactérias resistentes e, apesar de na maior parte sofrerem tratamento, nem sempre esses tratamentos são eficazes, acabando, por vezes, por contribuir para o desenvolvimento de resistências devido à pressão seletiva exercida sobre as bactérias. Os efluentes hospitalares podem atingir as redes de água que são utilizadas na agricultura ou para fins domésticos, contribuindo, assim, para a transferência das resistências para o ser humano. Mas, apesar de em alguns países ou zonas, os tratamentos serem feitos mesmo não sendo eficazes por completo, em países não desenvolvidos ou em vias de desenvolvimento, estes tratamentos das águas residuais não são de todo feitos, contribuindo também assim para a disseminação de genes de resistência e bactérias resistentes a antibióticos e, para a contaminação das populações. O mesmo acontece em zonas rurais, em que as águas são usadas na agricultura sem qualquer tratamento prévio²⁴.

Foram detetados cerca de 14 antibióticos nas águas residuais dos hospitais, incluindo lincomicina, espiramicina e quinolonas. As elevadas concentrações e a frequência comum de deteção sugerem que as águas residuais hospitalares são uma importante fonte de contaminação (Wang *et al.*, 2018).

Um exemplo de bactéria detetada nos efluentes hospitalares é a *E. coli*, que é uma bactéria responsável por provocar infeções urinárias, septicémias, pneumonias e gastroenterites. A *E. coli*, tal como outras bactérias de Gram negativo, é capaz de produzir beta-lactamases. As beta-lactamases são capazes de hidrolisar os antibióticos beta-lactâmicos, tornando-os assim inativos e incapazes de exercer a sua ação ao nível da construção do peptidoglicano, que provocaria a morte da bactéria. Para além dos genes que codificam a resistência aos beta-lactâmicos, também foram encontrados genes que podem codificar resistência a quinolonas, aminoglicosídeos e sulfonamidas. Portanto, hoje em dia, infeções por *E. coli* são difíceis de tratar devido à quantidade de antibióticos que deixaram de fazer efeito, devido às resistências²⁴.

Outra evidência que comprova que os efluentes hospitalares são reservatórios de bactérias e de antibióticos é apresentada com a situação do cotrimoxazol. O cotrimoxazol foi encontrado nos efluentes hospitalares e este resulta de uma combinação de sulfametazol e

trimetoprim, compostos estes que não são fáceis de degradar, o que facilita a sua permanência nos efluentes e favorece a sua distribuição. Este antibiótico é muitas vezes utilizado na clínica para o tratamento de infeções do trato respiratório e do trato urinário, o que pode justificar a elevada ocorrência de bactérias com resistência ao cotrimoxazol^{24,25}.

Ser humano

O microbioma humano é constituído por cerca de $3,8 \times 10^{13}$ bactérias de diferente taxa, que estão espalhadas por todo o nosso corpo, na pele, nas mucosas, nos fluidos corporais e no intestino²⁵. A microbiota intestinal de um ser humano saudável é composto por mais de 35000 espécies de bactérias, pertencentes, na sua maioria, às Filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, seguidos das Filo *Actinobacteria* e *Verrucomicrobia*^{26, 27}.

O uso de antibióticos pode alterar de forma drástica a microbiota intestinal, diminuindo a diversidade microbiana e aumentando o número de bactérias resistentes²⁸. Foi demonstrado que a utilização da clindamicina pode diminuir a diversidade de *Bacteroides* até dois anos, tal como o tratamento para erradicar o *Helicobacter pylori* com claritromicina pode levar a uma redução drástica na diversidade de *Actinobacteria* e aumentar até mil vezes o gene de resistência *ermB*, com duração até quatro anos. O uso de ciprofloxacina e beta-lactâmicos demonstrou também ter efeitos na redução da diversidade microbiana no intestino e no aumento das resistências aos antibióticos²⁸.

Origem da resistência aos antibióticos

Este é um tema controverso, por um lado acredita-se que a atividade humana e o uso irracional e em excesso de antibióticos está na origem da crise, mas, por outro lado, estudos recentes demonstraram que a resistência aos antibióticos já existia muitos anos antes da utilização de antibióticos por humanos, tendo origem nas próprias bactérias, que possuem a chamada “resistência intrínseca”²⁹.

Um estudo realizado no Novo México, na caverna Lechuguilla, um local isolado de humanos e sem contacto com antibióticos, detetou a presença de bactérias resistentes a múltiplos antibióticos. Também noutros locais que não tem qualquer contacto com os humanos, como no fundo do mar, foram encontradas bactérias resistentes. Como é o caso dos genes que codificam as beta-lactamases, que foram encontrados em locais completamente isolados¹. Assim, estes resultados vêm dar força à hipótese que defende que a resistência é um fenómeno antigo, intrínseco e natural que tem evoluído ao longo dos anos. No caso da caverna Lechuguilla, as bactérias têm pouco acesso a nutrientes, pelo que a resistência aos

antibióticos pode surgir como uma adaptação a esse ambiente e como uma mais valia na competição com outras espécies^{30,31}.

Por outro lado, análises feitas ao solo na Holanda, na Era pré-antibióticos e na Era pós-antibióticos, demonstraram haver um aumento bastante significativo da abundância de genes de resistência a antibióticos, como os beta-lactâmicos, as tetraciclinas e os macrólidos, na era pós-antibióticos³⁰. O mesmo aconteceu numa análise realizada em animais na ilha de Galápagos, um local com pouca ocupação humana e com uma baixa exposição a antibióticos, em que os resultados revelaram não haver bactérias com genes de resistência. Estas análises demonstram haver uma ligação direta entre a utilização de antibióticos pelo ser humano e o aparecimento de genes de resistência aos mesmos²⁹.

O principal fator de risco para o aumento da resistência em bactérias patogênicas é o aumento do uso de antibióticos (Van den Bogaard *et al.*, 2000). Quer isto dizer que o uso desmesurado e irracional de antibióticos na medicina humana, na medicina veterinária, na agricultura e na pecuária tem vindo a aumentar o nível e o número de resistências aos antibióticos³².

Disseminação

Existem várias vias para a disseminação de bactérias resistentes e genes de resistência aos antibióticos. A utilização de estrume de animais como fertilizantes na agricultura, o escoamento de esgotos de hospitais para águas superficiais e o contacto direto com os reservatórios são vias de disseminação. Outra via são os animais selvagens³³.

Os animais selvagens são livres, movem-se por onde querem, podendo contactar com vários reservatórios, como o solo, águas contaminadas, campos agrícolas ou até mesmo com outros animais, transportando no seu corpo bactérias com resistências adquiridas para outros locais até então não contaminados. Assim, muitos dos animais selvagens atuam como reservatórios de bactérias resistentes e potenciais vetores para os seres humanos, para o gado e para ambientes naturais³³.

Um exemplo são as aves, que devido a sua mobilidade são capazes de transportar bactérias para zonas distantes e inatingíveis por qualquer outro animal³³.

Um estudo feito com 4 espécies diferentes de aves, com o objetivo de detetar se havia ou não resistências a 3 tipos de antibióticos (amoxicilina, tetraciclina e ciprofloxacina) concluiu que a resistência mais comum é à amoxicilina em relação à tetraciclina e à ciprofloxacina. Uma percentagem de 94% das aves estudadas apresentaram bactérias resistentes à amoxicilina,

enquanto que apenas 15% apresentou bactérias com resistência para a tetraciclina e apenas 1% continha bactérias resistentes à ciprofloxacina. Para além disso, os resultados deste estudo sugeriram que os padrões de uso dos antibióticos, desde a sua introdução no mercado, ao tempo de duração do tratamento e à sua popularidade na medicina humana e veterinária influenciam a prevalência de bactérias com resistências adquiridas na vida selvagem³³.

Portanto, considerando que a vida selvagem tem o potencial de abrigar doenças infecciosas e genes que codificam resistência aos antibióticos, eles são capazes de distribuir bactérias em ambientes rurais e urbanos e representar assim uma importante via de disseminação³³.

Transmissão das Resistências ao ser humano

Existem dois modos de transmissão de resistência a antibióticos para o humano, que são a colonização silenciosa e a colonização aguda. A colonização silenciosa é um processo cumulativo e a longo prazo, causado por vetores ou pelo microbioma comensal que adquiriu genes que codificam resistência aos antibióticos através de vetores transitórios. Este tipo de colonização pode evoluir para uma infeção, mas só no caso do hospedeiro apresentar uma diminuição da sua imunidade e, portanto, se apresentar mais debilitado, devido, por exemplo, a tratamentos de antibioterapia intensa ou tratamentos com imunossupressores. Este tipo de infeção é designado por infeção endógena. Infeções causadas por bactérias produtoras de beta-lactamases e de carbapenemases, ocorrem muitas vezes por colonização silenciosa⁷.

A colonização aguda, por outro lado, ocorre de forma rápida e é considerada um processo de infeção exógeno. A invasão do hospedeiro ocorre de imediato e, acontece, geralmente, em hospedeiros debilitados devido a intervenções invasivas, como cirurgias ou cateterismos, sendo, portanto, este o modo de transmissão mais recorrente nas unidades de saúde⁷.

As bactérias vindas do ambiente invadem o corpo humano através de várias vias de entrada, sendo que a porta de entrada escolhida por cada bactéria está geralmente associada ao habitat preferencial da bactéria e à localização da infeção que a bactéria poderá provocar. As vias predominantes são o trato gastrointestinal, o trato respiratório, a pele e o trato urinário⁷. Por exemplo, infeções no trato gastrointestinal por *E. coli* podem ocorrer por ingestão de água ou de alimentos contaminados, tal como infeções por *S. aureus* no sistema respiratório e na pele podem ocorrer pela inalação de ar contaminado ou pelo contacto com locais públicos ou animais infetados⁷.

Mas, para que exista transmissão e posterior colonização, é necessário que o ser humano esteja em contacto com reservatórios de resistências. Os animais, por exemplo, são possíveis reservatórios. Um exemplo de transferência de bactérias dos animais para o ser humano é a transferência de *Salmonella* spp., que acontece por contacto direto do ser humano com o animal infetado, ou contacto com as suas fezes ou também a partir do consumo de produtos alimentares de origem animal, como carne ou ovos. As salmonelas localizadas no trato intestinal do animal, contaminam a carne e os ovos, daí a possibilidade de transmissão da infeção através destes alimentos³². Também as águas residuais, as águas provenientes de ETARs, lagoas ou águas paradas, são exemplos de locais contaminados que podem transmitir bactérias aos humanos²².

Por exemplo, as águas provenientes das ETARs são utilizadas com frequência para irrigação de terras agrícola, e, uma vez que estas águas são reservatórios de bactérias resistentes a antibióticos, a sua utilização na agricultura, vai levar a uma forte disseminação. Ao comermos alimentos provenientes da agricultura, estamos a consumir alimentos contaminados por bactérias que de forma rápida ou lenta e silenciosa irão colonizar o nosso corpo. Por outro lado, também os animais domésticos podem beber água de locais não tratados ou mesmo tratados, que possuem bactérias resistentes e ficarem colonizados. Devido à sua proximidade com os humanos, podem transmitir-lhes essas mesmas bactérias resistentes, por contacto³⁴.

Posto isto, percebemos que se torna num ciclo: as águas residuais são tratadas nas ETARs, a água das ETARs contamina os alimentos, nós consumimos os alimentos contaminados, e depois expulsamos bactérias resistentes pelas fezes e pela urina, que vão acabar de novo nos esgotos e seguir até as ETARs a fim de ser tratada. E assim se reinicia o ciclo.

E a questão que surge é onde terá tido início este ciclo e se será possível travá-lo. Os níveis de bactérias resistentes a múltiplos antibióticos crescem de dia para dia, comprometendo cada vez mais a possibilidade de tratar as infeções provocadas por essas mesmas bactérias. Infeções que em tempos eram simples de ser tratadas, hoje em dia podem ser fatais³¹. Será ainda possível controlar o aparecimento de resistências aos antibióticos?

Controlo das Resistências

O maior problema subjacente à crise da resistência aos antibióticos, é, sem dúvida, o número de mortes que esta tem causado. O uso descontrolado e em excesso de antibióticos

tem levado à seleção de estirpes bacterianas com resistência múltipla pelo que é necessário agir de modo a controlar este acontecimento.

Várias são as propostas feitas para se conseguir controlar a resistência aos antibióticos, algumas a nível profissional e clínico e outras a nível científico e farmacológico. Ao nível profissional e clínico é proposto um controlo mais rígido das prescrições médicas de antibióticos, sendo estas sempre precedidas de exames clínicos para que a prescrição feita seja o mais correta possível e também que nunca se faça a dispensa de antibióticos nas Farmácias se o utente não se fizer acompanhar de uma receita médica. A sensibilização da população para o uso consciente dos antibióticos é um ponto importante para o controlo da resistência aos antibióticos, tal como a consciencialização para a importância da higiene, como por exemplo, a desinfeção das mãos, de modo a diminuir a contaminação entre indivíduos. Também o uso de antibióticos na agricultura e na pecuária deve ser mais controlado, devendo apenas ser usado em caso de doença por parte do animal e nunca de forma a potencializar o seu crescimento. Sabe-se que em muitos países o uso na agricultura e na pecuária foi proibido, no entanto, muitos desses países continuam a usar os antibióticos de forma ilegal¹.

A nível científico e farmacológico é aconselhada a alteração, modificação ou uso combinado de antibióticos. A alteração de um antibiótico ao qual a bactéria já demonstra ter resistência, como aconteceu com a alteração da penicilina por eritromicina, no tratamento de infeções por *S. aureus*. No entanto, a eritromicina tornou-se também ineficaz no tratamento destas infeções, seguido de outros antibióticos como o cloranfenicol. No caso da modificação, desenvolver antibióticos que tenham em conta os mecanismos de resistências dos antibióticos, de modo a conseguir contornar o mecanismo de resistência, como acontece com a associação da amoxicilina com ácido clavulânico, em que ácido clavulânico atua como um protetor da amoxicilina, perante a ação das beta-lactamases¹.

Outro método bastante utilizado na tentativa de travar as resistências é o “ciclo antibiótico”, que consiste em retirar o antibiótico de uso por um período de tempo, de modo a tentar limitar a seleção de estirpes resistentes e mais tarde, voltar a introduzi-lo^{1,35}. Este método tem como princípio base que o aparecimento e desenvolvimento de resistências está relacionado com o uso dos antibióticos na medicina, o que, na realidade, ainda não foi comprovado³⁵. E, apesar de este método ser bastante utilizado, já foi demonstrado não ser uma solução a longo prazo, pois quando o antibiótico volta a ser reintroduzido, as resistências voltam a aparecer¹.

E ainda, a combinação de antibióticos que apresentam mecanismos diferentes e complementares. Este método é muito utilizado em microorganismos de Gram negativo, como por exemplo, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. e *Enterobacteriaceae*. No tratamento de infecções por *Pseudomonas* spp. é geralmente utilizado um beta-lactâmico com um aminoglicosídeo ou uma fluoroquinolona, infecções por *Acinetobacter* spp. utiliza combinações de aminoglicosídeos, ampicilinas, colistina ou rifampicina e infecções por *Enterobacteriaceae* recorre a associações de aminoglicosídeos, fosfomicina, rifampicina e colistina^{36,37}. Mas, para que este método seja utilizado, muitas informações farmacodinâmicas são necessárias, pelo que é necessário realizar mais estudos para as obter^{1,37}.

Assim, se todos estes métodos e propostas sugeridos comesçassem a ser implementados e levados a sério em todo o mundo, o flagelo que hoje é a resistência das bactérias aos antibióticos poderia ser minimizado.

Conclusão

Se até então nos encontrávamos na era dos antibióticos, a época da cura “milagrosa”, parece que agora estamos a caminhar para uma era em que os antibióticos deixam de ser uma opção, pela sua demonstrada ineficácia devido à seleção de estirpes multirresistentes. Cada vez mais aparecem bactérias multirresistentes a uma grande variedade de antibióticos, o que torna o tratamento de muitas infeções quase impossível. Infeções que antes eram fáceis de tratar e não acarretavam preocupações, hoje em dia, podem ser muito difíceis de tratar ou mesmo fatais.

A culpa desta crise parece estar apontada tanto para o meio ambiente, como para o ser humano, não sendo possível culpabilizar apenas um. Se por um lado, o meio ambiente é responsável pelo aparecimento das resistências devido à resistência intrínseca, por outro lado, o ser humano é responsável devido à utilização inconsciente e incontrolada dos antibióticos, que leva também ao desenvolvimento da designada “resistência adquirida”. No entanto, devemos focar-nos não em culpabilizar a origem dos antibióticos, mas sim em percebê-la.

A solução para controlar a resistência aos antibióticos passa por evitar condições que favoreçam o desenvolvimento de resistências, tornando-se importante educar mentalidades, isto é, demonstrar aos profissionais de saúde e utentes a importância do uso correto dos antibióticos, bem como das medidas de higiene para que o controlo da resistência bacteriana aos antibióticos seja possível. Os reservatórios mais comuns devem ter-se em conta, de modo a tomar-se medidas de controlo em relação a estes que tornem possível a diminuição da disseminação a partir deles, bem como devem ser implementadas medidas de controlo mais apertadas para a utilização dos antibióticos na agricultura e na puericultura, para que consigamos diminuir de modo efetivo a sua utilização nestas áreas.

A continuação do estudo aprofundado dos mecanismos de ação dos antibióticos e dos mecanismos de resistência também é muito importante, para que seja possível desenvolver novos fármacos capazes de tratar as infeções por bactérias resistentes aos antibióticos que temos disponíveis.

Bibliografia

1. DAVIES, J. - Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiologia (Madrid, Spain)*. 12, (1996) 9–16.
2. SURETTE, M. D., WRIGHT, G. D. - Lessons from the Environmental Antibiotic Resistome, *Annual Review of Microbiology*. 71, (2017) 309–329.
3. COX, J. A. G., WORTHINGTON, T. - The “Antibiotic Apocalypse” – Scaremongering or Scientific Reporting?. *Trends in Microbiology*. 25, (2017) 167–169.
4. PERRY, J., WAGLECHNER, N., WRIGHT, G. D. - The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 6, (2016).
5. PERRY, J. A., WESTMAN, E. L., WRIGHT, G. D. - The antibiotic resistome: what’s new?. *Current Opinion in Microbiology*. 21, (2014) 45–50.
6. HU, Y., GAO, G. F., ZHU, B. - The antibiotic resistome: gene flow in environments, animals and human beings. *Frontiers of Medicine*. 11, (2017) 161–168.
7. MANAIA, C. M. - Assessing the Risk of Antibiotic Resistance Transmission from the Environment to Humans: Non-Direct Proportionality between Abundance and Risk. *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd. 25, (2017) 173–181.
8. MUNITA, J. M., ARIAS, C. A. - Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*. 481–511.
9. CROFTS, T. S., GASPARRINI, A. J., DANTAS, G. - Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome. *Nature Reviews Microbiology*. 15, (2017) 422–434.
10. BABIC, M., HUJER, A., BONOMO, R. - What’s new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug Resistance Updates*. 9, (2006) 142–156.
11. CHANDRAN, S. P., DIWAN V., TAMHANKAR A. J., JOSEPH B. V., ROSALES-KLINTZ S., MUNDAYOOR S., LUNDBORG C. S., MACADEN R. - Detection of carbapenem resistance genes and cephalosporin, and quinolone resistance genes along with oqxAB gene in *Escherichia coli* in hospital wastewater: a matter of concern. *Journal of Applied Microbiology*. 117, (2014), 984–995.
12. LI, C., LU, J., LIU, J., ZHANG, G., TONG, Y., MA, N. - Exploring the correlations between antibiotics and antibiotic resistance genes in the wastewater treatment plants of hospitals in Xinjiang, China. *Environmental Science and Pollution Research*. 23, (2016) 15111–15121.

13. CAMPBELL, E. A., KORZHEVA, N., MUSTAEV, A., MURAKAMI, K., NAIR, S., GOLDFARB, A., DARST, S. A. - Structural Mechanism for Rifampicin Inhibition of Bacterial RNA Polymerase. *Cell*. 104, (2001) 901–912.
14. ASÍN-PRIETO, E., RODRÍGUEZ-GASCÓN, A., ISLA, A. - Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 21, (2015) 319–329.
15. WOOLHOUSE, M., WARD, M., VAN BUNNIK, B., FARRAR, J. - Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Phil. Trans. R. Soc.* 370, (2015).
16. WEPKING, C., WEPKING, C., AVERA, B., BADGLEY, B., BARRETT, J.E., FRANKLIN, J., KNOWLTON K.F., RAY, P.P., SMITHERMAN, C., STRICKLAND, M.S. - Exposure to dairy manure leads to greater antibiotic resistance and increased mass-specific respiration in soil microbial communities. *Proc. Biol. Sci.* 284, (2017).
17. VAN BOECKEL, T. P., BROWER, C., GILBERT, M., GRENFELL, B. T., LEVIN, S. A., ROBINSON, T. P., TEILLANT, A., LAXMINARAYAN, R. - Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 112, (2015) 5649–54.
18. PALLARES-VEGA, R. BLAAK, H., VAN DER PLAATS, R., DE RODA HUSMAN, A.M., HERNANDEZ LEAL, L., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., WEISSBRODT, D.G., SCHMITT, H. - Determinants of presence and removal of antibiotic resistance genes during WWTP treatment: A cross-sectional study. *Water Research*. Elsevier Ltd. (2019).
19. MA, L., LI, B., JIANG, X. T., WANG, Y.L., XIA, Y.I., LI, A.D., ZHANG, T. - Catalogue of antibiotic resistome and host-tracking in drinking water deciphered by a large scale survey. *Microbiome*. 5, (2017) 154.
20. SANGANYADO, E., GWENZI, W. - Antibiotic resistance in drinking water systems: Occurrence, removal, and human health risks. *Sci. Total Environ*. Elsevier B.V. (2019) 785–797.
21. AUGUET, O., AUGUET, O., PIJUAN, M., BORREGO, C.M., RODRIGUEZ-MOZAZ, S., TRIADÓ-MARGARIT, X., GIUSTINA, S.V.D., GUTIERREZ, O. - Sewers as potential reservoirs of antibiotic resistance. *Sci Total Environ*. 605-606, (2017) 1047–1054.
22. KARKMAN, A., DO, T.T., WALSH, F., VIRTA, M.P.J. - Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd. 26, (2018) 220–228.
23. ROWE, W. P. M., BAKER-AUSTIN, C., VERNER-JEFFREYS, D.W., RYAN, J.J., MICALLEF, C., MASKELL, D.J., PEARCE, G.P. - Overexpression of antibiotic resistance genes in hospital effluents over time. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 72, (2017) 1617–1623.

24. LIEN, L. T. Q. LAN, P.T., CHUC, N.T.K., HOA, N.Q., NHUNG, P.H., THOA, N.T.M., DIWAN, V., TAMHANKAR, A.J., STÅLSBY LUNDBORG, C. - Antibiotic resistance and antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* isolates from hospital wastewater in Vietnam. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 14, (2017) 1–11.
25. WANG, Q., WANG, P., YANG, Q. - Occurrence and diversity of antibiotic resistance in untreated hospital wastewater. *Sci. Total Environ. Elsevier B.V.* 621, (2018) 990–999
26. DIONISIO, F. - Antibiotic Resistance Gene Diversity and Virulence Gene. *Microbiomes*. 4, (2019) 1–13.
27. JANDHYALA, S. M. - Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*. 21, (2015) 87.
28. OLEKHNOVICH, E. I., VASILYEV, A. T., ULYANTSEV, V. I., KOSTRYUKOVA, E. S., TYAKHT, A. V. - MetaCherchant: analyzing genomic context of antibiotic resistance genes in gut microbiota. *Bioinformatics*. 34, (2017) 434–444.
29. COX, G., WRIGHT, G. D. - Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology. Elsevier GmbH.*, 303, (2013) 287–292.
30. BHULLAR, K., WAGLECHNER, N., PAWLOWSKI, A., KOTEVA, K., BANKS, E.D., JOHNSTON, M.D., BARTON, H.A., WRIGHT, G.D. - Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiom. *PLoS One*. 7, (2012) 1–11.
31. SOMMER, M. O. A., CHURCH, G. M., DANTAS, G. - The human microbiome harbors a diverse reservoir of antibiotic resistance genes. *Virulence*. 1, (2010) 299–303.
32. VAN DEN BOGAARD, A. E., STOBBERINGH, E. E. - Epidemiology of resistance to antibiotics. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 14, (2000) 327–335.
33. CARTER, D. L., DOCHERTY, K.M., GILL, S.A., BAKER, K., TEACHOUT, J., VONHOF, M.J. - Antibiotic resistant bacteria are widespread in songbirds across rural and urban environments. *Sci. Total Environ. Elsevier B.V.* 627, (2018) 1234–1241.
34. BENGTSSON-PALME, J., KRISTIANSSON, E., LARSSON, D. G. J. - Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 42, (2018) 68–80.
35. MASTERTON, R. G. - Antibiotic cycling: more than it might seem?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 55, (2005) 1–5.
36. TÄNGDÉN, T. - Combination antibiotic therapy for multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 119, (2014) 149–153.
37. FRAIMOW, H., NAHRA, R. - Resistant Gram-Negative Infections. *Critical Care Clinics*. 29, (2013) 895–921.