



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Inês Galvão Duarte

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Streptococcus pneumoniae*
um agente patogénico dos nossos dias” referentes à Unidade Curricular
“Estágio” sob orientação da Dra. Cláudia Maria Gama, do Dr. André
Filipe Paiva Loureiro 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 2020

Eu, Joana Inês Galvão Duarte, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2015233084, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Streptococcus pneumoniae* um agente patogénico dos nossos dias” 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, 15 de setembro de 2020.

Joana Inês Galvão DUARTE

(Joana Inês Galvão Duarte)



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Inês Galvão Duarte

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Streptococcus pneumoniae* um agente patogénico dos nossos dias” referentes à Unidade Curricular “Estágio” sob orientação da Dra. Cláudia Maria Gama, do Dr. André Filipe Paiva Loureiro 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 2020

Agradecimentos

Porque todo e qualquer agradecimento teria que começar por ti, avó, que partiste cedo demais para me veres tornar “alguém de algures”, como tantas vezes me pediste, por isso, para ti, avó Lete, o maior dos obrigadas por me teres criado e levado até este ponto.

Aos meus pais, parte do meu coração, eternos cuidadores, maiores apoiantes e exemplo, sei que todas as minhas dores foram também as vossas, por isso, que todos os meus sucessos sejam também os vossos.

A ti Maricó, meu primeiro amor, obrigada por me acompanhares desde que me lembro de existir. Caminhamos lado a lado pela vida fora, da mesma forma que tem sido até aqui, juntas.

À minha restante família, que continuemos a partilhar toda a vida em forma de momentos felizes e jantares. Ao padrinho por todos os assobios reconhecíveis em qualquer parte da terra. Ao Tutu por termos crescido lado a lado. Às minhas tias Isabel e Manuela por todas as ajudas que me deram.

À Anabelices pelas melhores aulas de laboratório privadas e por me ter sempre incentivado a continuar. À Dani, não tenho como te agradecer por toda, e digo toda a paciência para os meus momentos que só tu aturas, prometo que estão quase a acabar.

À Beatriz por uma cama de solteiro ter sido sempre mais que suficiente para duas grandes amigas. Ao Filipe pelas gargalhadas mais sentidas. À Rafaela pela companhia em todos os momentos. À Rita pela cumplicidade e por todas as aventuras nacionais e internacionais.

A todos os grandes amigos que tive a felicidade de Coimbra colocar na minha vida, a vocês devo-vos, sem dúvida, aqueles que foram os melhores cinco anos. Vemo-nos por todas as pontas do país.

A toda a equipa da Farmácia Estádio, André, Luís, Mónica, Sara, Ana, Dina, Edite, João Pedro, o meu sentido obrigada por toda a aprendizagem, carinho e amizade que pude receber de vós. À Dra. Ana Isabel Rebelo muito obrigada pelo acolhimento e palavras.

À equipa do Controlo de Qualidade da Bluepharma, muito obrigada por me terem acolhido uma e outra vez. À Dra. Cláudia Maria Gama pelas oportunidades e conselhos que sempre me deu.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, primeira casa durante cinco anos, escolher-te-ia agora uma e outra vez. Aos Professores pelo exemplo diário e dedicação aos seus alunos. À Professora Doutora Olga Cardoso, em especial, por toda a orientação científica, cuidado e apoio. Aos funcionários pelo carinho e entrega.

A ti Coimbra, guardo-te saudades que ainda não sei que vou ter!

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas	10
1. Introdução.....	11
2. Bluepharma®	12
2.1. Departamento de Controlo de Qualidade	12
3. Análise Swot.....	14
3.1. Pontos Fortes	14
3.1.1. Equipa técnica do Departamento de CQ	14
3.1.2. Adequação do MICF e aplicação de conhecimentos	14
3.1.3. Plano de estágio dinâmico	14
3.1.4. Autonomia.....	17
3.1.5. Possibilidade de integrar uma equipa multidisciplinar.....	17
3.1.6. Existência de suporte documental oficial.....	17
3.1.7. Cultura de qualidade e segurança.....	18
3.1.8. Metodologia <i>Kaizen</i>	19
3.2 Pontos Fracos	19
3.2.1. Não atribuição de uma conta de analista.....	19
3.2.2. Limitação ao nível de instalações e equipamentos.....	20
3.3 Oportunidades	20
3.3.1. Oferta de formação contínua	20
3.3.2. Perspetivas de crescimento da Bluepharma®.....	20
3.4 Ameaças	21
3.4.1. Estágio em Indústria Farmacêutica enquanto estágio não creditado.....	21
4. Conclusão	22
5. Referências Bibliográficas.....	23

Parte II – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas	25
1. Introdução.....	26
2. Análise Swot.....	27
Farmácia Estádio	27
2.1 Pontos Fortes	27
2.1.1. Equipa técnica.....	27
2.1.2. Localização privilegiada e horário alargado de funcionamento.....	28
2.1.3. Plano de estágio	28

2.1.4. Sábados	30
2.1.5. Preparação Individualizada da Medicação	30
2.1.6. Prestação de Serviços.....	31
2.1.7. Aplicação e consolidação de conhecimentos	32
2.2 Pontos Fracos.....	32
2.2.1. Elevado número de estagiários.....	32
2.2.2. Diferenciação dos estagiários	33
2.3 Oportunidades.....	33
2.3.1. Novas formas de atendimento	33
2.3.2. Contato com o Novo Módulo de Atendimento.....	33
2.3.3. Dispensa de medicação hospitalar.....	34
2.3.4. Participação num serviço permanente.....	34
2.4 Ameaças	34
2.4.1. Impossibilidade de participar em formações complementares.....	34
2.4.2. Estágio em tempo de pandemia.....	35
2.4.3. Medicamentos esgotados.....	36
3. Conclusão	36
4. Referências Bibliográficas.....	37

Parte III – Monografia: "Streptococcus pneumoniae um agente patogénico dos nossos dias"

Resumo	39
Abstract	40
Lista de Abreviaturas.....	41
1. Introdução.....	43
2. Epidemiologia	44
3. Microbioma.....	45
4. Taxonomia	46
5. Microbiologia.....	46
6. Fatores De Virulência.....	47
6.1. Cápsula polissacarídica.....	48
6.2. Protease da Imunoglobulina A1 humana.....	49
6.3. Pneumolisina.....	50
6.4. Proteínas da superfície celular pneumocócica.....	50
6.4.1. Proteínas de ligação à colina.....	51
6.5. Hialuronidase	52
6.6. Adaptabilidade genética	52

6.7. Exoglicosidasas.....	53
6.8. Fímbrias ou Pilis.....	53
7. Patogénese.....	55
7.1. Colonização da nasofaringe	55
7.2. Invasão pneumocócica	57
7.3. Variação de fase.....	58
7.4. Doenças pneumocócicas invasivas	58
7.4.1. Pneumonia.....	58
7.4.2. Meningite pneumocócica	60
8. Defesas Hospedeiras	60
9. Fatores de Risco	62
10. Tratamento.....	62
11. Resistência Antibiótica	64
11.1. β -lactâmicos	65
11.2. Macrólidos	66
12. Vacinação.....	66
13. Conclusão e Perspetivas Futuras.....	67
14. Referências Bibliográficas.....	70

Parte I

Relatório de Estágio

Bluepharma Indústria Farmacêutica, S.A.

Abreviaturas

API - do inglês: *Active Pharmaceutical Ingredient*

CQ - Controlo de qualidade

FFUC - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FTIR - Espetroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

GC - do inglês: *Gas Chromatography*

HPLC - do inglês: *High Performance Liquid Chromatography*

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PA - Produto acabado

PSA - Produto semi-acabado

SOPs - do inglês: *Standard Operating Procedures*

SWOT - do inglês: *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

USP- *United States Pharmacopeia*

I. Introdução

Tem o plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) o objetivo de munir os seus estudantes de uma formação abrangente, multidisciplinar e atual, no âmbito das Ciências da Saúde, assim como em todas as áreas relacionadas com o medicamento, proporcionando-lhes, ao longo de cinco anos, uma vasta formação que aborda em toda a extensão as atividades descritas no ato farmacêutico, formando profissionais de saúde e, mais propriamente, profissionais do medicamento¹. Enquanto agente de Saúde Pública, tem o Farmacêutico o desígnio de promover o uso racional do medicamento em todo o seu ciclo de vida, acompanhando-o desde o seu desenvolvimento até à sua comercialização, sem descorar o seu registo, fabricação, controlo de qualidade, armazenamento, distribuição, dispensa e farmacovigilância².

É nesta sequência de pensamentos que é oferecida ao estudante do MICF da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) a oportunidade de estagiar numa outra área do circuito do medicamento que não apenas o estágio obrigatório em Farmácia Comunitária. Esta é verdadeiramente uma ocasião de enriquecimento pessoal e profissional do estagiário, já que por serem vastas as áreas em que o futuro farmacêutico pode exercer a sua atividade, se torna uma mais valia não só poder experienciar duas delas durante este período, mas também pela oportunidade oferecida de avaliar aptidões e preferências profissionais. Por conseguinte, e tendo em mente que o estágio curricular é realmente um período de grande aprendizagem, optei por realizar um dos meus estágios de final de curso junto de uma Indústria Farmacêutica.

Assim, após um processo de candidatura e entrevista, tive a possibilidade de estagiar, de janeiro a março, na Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A, onde pude consolidar e aplicar de forma prática muitos dos conhecimentos que adquiri ao longo do meu percurso académico. Serve então o presente relatório como uma breve análise *SWOT* (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*) ao longo da qual é minha intenção identificar e fundamentar todos os aspetos que considereei como positivos e negativos, ao longo do estágio, em termos de aprendizagem adquirida e adequabilidade do MICF, sem esquecer quais foram para mim as oportunidades oferecidas e as ameaças sentidas durante a realização do mesmo.

2. Bluepharma®

O Grupo Bluepharma® um dos mais atuais, dinâmicos e inovadores grupos do setor farmacêutico em Portugal, conta já com 19 anos de existência, ao longo dos quais alcançou prestígio considerável, não só a nível dos mercados nacionais, como dos mais exigentes mercados internacionais, sendo que nesta segunda década de história o seu objetivo é de continuar a crescer.

A atividade deste grupo percorre toda a cadeia de valor do medicamento e centra-se sobretudo nas áreas da investigação, do desenvolvimento e registo de medicamentos próprios, da comercialização de medicamentos genéricos e na sua produção propriamente dita. Por ter cultivado desde sempre os mais elevados padrões de qualidade e exigência, a Bluepharma® conta já com sucursais em oito países e com um total de dezoito empresas pertencentes ao grupo³. Com sede localizada em São Martinho do Bispo, Coimbra, é na sua unidade fabril que se produzem formas farmacêuticas sólidas orais – comprimidos e cápsulas – destinadas essencialmente à exportação, como marca própria ou para terceiros, sobretudo para os Estados Unidos da América, Europa, Médio Oriente, América Latina, África e Ásia. Pautada de uma postura de inovação técnica contínua e de acompanhamento da evolução tecnológica dos seus processos, são já muitos os produtos constantes do seu portfólio que certamente continuará a ampliar-se⁴.

2.1. Departamento de Controlo de Qualidade

No decorrer deste estágio fui incluída no grupo de Rotina pertencente ao Departamento de Controlo de Qualidade (CQ), sobre orientação da Dra. Cláudia Maria Gama. Em termos de organização interna este departamento ramifica-se em cinco grupos que trabalham concertadamente: o grupo da Amostragem, de Microbiologia, da Transferência de Tecnologia, da Documentação e da Rotina. Sucintamente, cabe à Amostragem amostrar todo o produto (material de embalagem, matéria-prima, API (do inglês, *Active Pharmaceutical Ingredient*), produto semiacabado (PSA) e acabado (PA)) destinado à análise laboratorial; a Microbiologia realiza todos os ensaios de ordem microbiológica; passa pela Transferência de Tecnologia a implementação de métodos analíticos (quer sejam atualizações ou novos métodos de farmacopeias, métodos internos ou de clientes) e finalmente, a Rotina executa os testes necessários às várias etapas do processo de fabrico (por exemplo: análise da matéria-prima antes que esta possa ser utilizada para produção, do PSA e material de acondicionamento primário antes do embalamento

primário, PA e acondicionamento secundário antes deste ser libertado para o mercado e também validação de limpeza). Relativamente às suas instalações, o CQ é composto por vários laboratórios, todos eles devidamente equipados por forma a que se possam realizar todos testes necessários, de modo a atestar a qualidade do produto. Faz ainda parte do CQ um *open-space* reservado ao trabalho de análise e processamento informático de dados e à revisão e correção da documentação técnica. Em termos de organização do trabalho no grupo de Rotina do laboratório de Controlo de Qualidade, este é escalado consoante o tipo de produto (conforme este seja matéria-prima, PSA ou PA) e de análise a realizar. O início da análise de um novo produto implica a leitura integral do diário do lote, do procedimento analítico e das especificações correspondentes. No diário do lote surgem informações relativas ao número de lote interno e data de amostragem, para além da enumeração de todas as análises que terão que ser executadas antes que o produto possa ser aprovado. Em anexo a este surgem o procedimento analítico e as especificações. O procedimento oferece-nos uma descrição detalhada de todos os testes a executar (ou indicação do capítulo farmacopeico a seguir), aos quais se juntam informações pormenorizadas, como quais os padrões a empregar, necessidade de utilização de luz amarela (baixo comprimento de onda) ou a informação de que o produto em análise se trata de um potente, entre outros; nas especificações, aparecem descritos os critérios de aceitação, isto é, os resultados que cada teste deve observar, seja o respeitar de um determinado intervalo de valores ou o aparecimento de uma cor, por exemplo. Quanto à análise propriamente dita, alguns dos colaboradores realizam todo o tipo de análises descritas na Farmacopeia Europeia ou na *United States Pharmacopeia* (USP) sobretudo, no caso de análises de matéria-prima. Enquanto outros executam análises por *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) e outros ainda análises de *Gas Chromatography* (GC), por exemplo. Assim, para que se obtenha uma análise final do lote, esta terá que reunir o trabalho de vários colaboradores, sem esquecer a ficha de amostragem, resultados dos ensaios de dissolução e de análise microbiológica, tendo toda esta informação que ser anexada ao diário do lote. Uma vez reunida a análise completa, é feita uma verificação e correção de toda a documentação para que se assegure que todas as análises decorreram de acordo com o cumprimento das especificações e que todos os protocolos foram respeitados. Só então pode ser emitido o certificado de análise, documento comprovativo de que o produto analisado tem qualidade. Apenas após a emissão deste documento o produto pode ser libertado ou utilizado nas etapas seguintes de fabricação ou embalagem.

3. Análise SWOT

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Equipa técnica do Departamento de CQ

O início do estágio foi assinalado pela receção de todos os estagiários numa sessão de acolhimento dirigida por membros do Departamento de Recursos Humanos, seguida de uma breve visita às instalações e por um momento de apresentação dos mesmos aos colaboradores dos vários departamentos. Uma vez no departamento de CQ, foi-me alocada uma tutora que se encarregou da minha apresentação e integração, e que me introduziu sobre a missão e valores da empresa. Aqui fui incluída numa equipa jovem, dinâmica e qualificada que desde o primeiro dia se mostrou empática e disponível para a minha rápida integração. Na generalidade, todos os colaboradores contribuíram para a minha formação através da partilha de conhecimentos considerados essenciais à minha progressão e pelo esclarecimento pronto de todas as minhas questões. Assim, a minha inserção numa equipa inclusiva, de profissionais muitíssimo qualificados e dedicados ao exercício da sua profissão, foi seguramente um dos pontos mais fortes da realização deste estágio.

3.1.2. Adequação do MICF e aplicação de conhecimentos

Depois deste primeiro contato com a realidade do mundo do trabalho, acredito que a formação adquirida no decorrer do MICF permite uma transição suave para a realidade profissional, sobretudo pela sua multidisciplinaridade. Considero que a extensa formação recebida, com particular destaque para os conhecimentos adquiridos em unidades curriculares como Farmácia Galénica, Tecnologia Farmacêutica (I, II e III), Métodos Instrumentais de Análise (I e II), e Assuntos Regulamentares do Medicamento, me facultaram o aporte de saberes necessários ao trabalho prático laboratorial que tive ocasião de desempenhar ou de assistir. Foi também com grande agrado que constatei, que nenhuma das técnicas analíticas, com as quais me deparei, me era totalmente desconhecida e que pude aplicar, no decorrer de todo o estágio, muito do que me foi passado nos últimos quatro anos e meio.

3.1.3. Plano de estágio dinâmico

Dos vários pontos que posso apontar como tendo sido positivos, este foi para mim o mais relevante, já que a realização deste estágio me ofereceu a possibilidade de experimentar e de ampliar conhecimentos relativos a muitas das técnicas analíticas e físico-

químicas que compõem aquele que é o trabalho do CQ. Para além disso, por ter podido contactar com uma grande variedade de técnicas, tive também a oportunidade de aplicar, agora em contexto de estágio curricular, muitos dos conhecimentos essencialmente teóricos que me foram passados, ao longo de todo o curso, e de atentar em outros pormenores apenas postos a descoberto pelo trabalho prático.

O meu plano de estágio foi diferente a cada semana, já que, consoante o plano de trabalhos semanal, acompanhei vários analistas nos seus diferentes trabalhos. Pude aprender e executar análises potenciométricas, de HPLC, GC, análise do tamanho de partícula por difração laser, *Karl-Fisher*, Espetroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), reações colorimétricas, ensaios de dissolução, entre outras. Muito embora não tenha tido assim a possibilidade de me aprimorar numa técnica em particular, a hipótese que me foi dada de experienciar quase a totalidade do trabalho desenvolvido neste departamento, foi para mim o ensejo máximo de enriquecimento profissional. Por não ter tido um plano de estágio restrito e estanque, a aprendizagem retirada das tarefas que me foram sendo propostas foi bastante enriquecedora. Aproveito assim para destacar algumas das tarefas que desempenhei:

- Preparação de soluções: São muitas as análises cujo início passa pela preparação de soluções, a título de exemplo, uma análise de HPLC ou uma análise de conteúdo de determinada matéria-prima pela Farmacopeia Europeia. Terá sido esta uma das primeiras tarefas que realizei, para que interiorizasse aquelas que são as metodologias internas fundamentais e para que me familiarizasse com todo o laboratório. Pude assim memorizar rapidamente onde se localiza todo o material de laboratório e quais são os locais de armazenamento dos diferentes tipos de reagentes. Pude também aprender a consultar com destreza a Farmacopeia Europeia.

O primeiro passo da preparação passa pela abertura da solução, na folha de preparação de soluções, com a atribuição do número de lote interno que lhe é correspondente. Este número é indispensável e a sua codificação é a seguinte: duas letras identificativas do local onde foi preparada, neste caso no controlo de qualidade (CQ), seguida de 8 algarismos; dois números correspondentes ao ano, dois ao mês, dois ao dia de preparação, e por fim, dois números sequenciais consoante o número de soluções preparadas nesse dia. Para além disso, nesta mesma ficha, são identificados todos os reagentes a utilizar (quantidade utilizada, lote, fabricante e respetivo prazo de validade), a documentação segundo a qual foi preparada, o prazo de validade final da solução, bem como

quem fez a sua preparação. Em anexo surgem todos os talões nomeadamente de pesagem e de acerto ou verificação de pH, se caso disso.

- Verificação de equipamentos: No início de cada dia de trabalho, alguns dos aparelhos, como o medidor de pH e as balanças, são alvo de uma verificação diária (“calibração interna”). Este passo é imprescindível, pois sem a sua realização o aparelho não pode ser considerado como apto a uso. No caso do medidor de pH, começa-se por averiguar visualmente o nível do eletrólito. De seguida, e utilizando duas soluções tampão, de pH=4 e pH=7, procede-se à sua calibração, após este passo, emprega-se uma terceira solução de pH=6, para verificação. Na verificação da balança, procedemos num momento inicial à sua limpeza. Depois disto segue-se a verificação do nível e um ajuste interno. Uma vez concluídos estes passos, e utilizando dois pesos com uma massa aferida, verificamos se a massa dos mesmos está compreendida num intervalo especificado para a balança e para a tolerância atribuída na calibração dos pesos em causa.

Em nenhum dos casos pode ser esquecido o preenchimento do *logbook* do equipamento e o anexo de todos os talões. Só depois de verificado o cumprimento de todos os requisitos se pode assegurar que estes equipamentos permitem a obtenção de resultados fiáveis e precisos.

- FTIR: A absorção de luz na região do infravermelho experienciada pela molécula permite a obtenção de um resultado espectral muito útil na identificação de amostras orgânicas e inorgânicas. No seio do CQ, esta técnica é amplamente utilizada quer na identificação de matérias-primas quer em PSA. Geralmente a execução desta análise segue o disposto nos capítulos gerais das Farmacopeias. No método mais usual, são pesadas 1 a 2 mg de padrão da molécula a identificar e 1 a 2 mg da amostra em análise. A cada uma destas massas são adicionadas 300-400 mg de brometo de potássio transparente de infravermelho (KBr). De seguida, as amostras são moídas e compactadas para que se obtenha uma pastilha.

Finalizados estes passos, procede-se à sua análise espectrofotométrica, sendo o esquema de análise o seguinte: leitura do *background*, análise da pastilha correspondente à amostra padrão, e por fim análise da amostra a analisar. Uma vez obtidos os espetros de cada uma destas amostras, procede-se, por meio de um sistema informático, à determinação da correlação entre os dois, que deverá ser superior a 98% para que se ateste que a amostra em análise corresponde efetivamente ao produto em análise.

3.1.4. Autonomia

Graças ao acompanhamento próximo que recebi durante toda a minha formação e à confiança depositada no meu trabalho, tive a possibilidade de conquistar, de forma gradual, autonomia na realização de tarefas. Num ponto inicial desempenhei atividades muito simples e rotineiras, como pesagens, preparação de soluções e verificação de equipamentos. No entanto, com o passar do tempo, pude inclusive realizar análises completas, das quais destaco: análises potenciométricas e de conteúdo, análises FTIR, análises de determinação de tamanho de partícula, entre outras. Pude ainda participar das atividades respeitantes à análise de potentes, validação de limpeza e aos ensaios de dissolução.

Assim, e naquele que é o trabalho desenvolvido pelo CQ, ter tido a possibilidade de executar e não de apenas observar, tornou indiscutivelmente este período de aprendizagem muito mais proveitoso.

3.1.5. Possibilidade de integrar uma equipa multidisciplinar

Ao integrar a equipa do CQ tive a oportunidade de trabalhar de perto com profissionais de áreas de formação distintas, que não apenas a área farmacêutica. Este aspeto, que ao início me passou despercebido, rapidamente se tornou numa verdadeira vantagem, uma vez que, por diversas ocasiões, pude receber aconselhamento e uma formação mais especializada e diferenciada da minha formação base, o que penso inclusive ter-me ajudado a desenvolver a capacidade de abordar as situações de uma outra perspetiva.

Esta vantagem estende-se à restante empresa, já que a necessidade de trabalho coordenado entre diferentes departamentos, oferece uma oportunidade bastante construtiva de enriquecimento coletivo, de partilha de conhecimentos e de impressões, que em última instância me permitiram também ter uma visão mais abrangente daquela que é globalidade do trabalho de uma Indústria Farmacêutica.

Mais acrescento que, por ter tido a possibilidade de visitar outros Departamentos, como o Desenvolvimento do Negócio, Garantia da Qualidade, Fabricação e Embalagem, facilitou o meu entendimento daquele que é o fluxo de trabalho e de processos numa Indústria Farmacêutica.

3.1.6. Existência de suporte documental oficial

Os dias que sucederam ao início do estágio foram, em parte, ocupados pela leitura de *Standard Operating Procedures (SOPs)*, que são documentos padronizados e descritivos da totalidade dos processos industriais. O intento da atribuição desta tarefa não foi a promoção

de uma aprendizagem estática ou limitada, mas antes a de servir como ferramenta de contextualização e a promoção do hábito de consulta de documentação fidedigna e atualizada. Também para toda e qualquer análise existe determinada documentação que a sustenta, sendo indispensável a consulta da mesma sobretudo antes do início da análise, mas também durante a sua execução, evitando assim a ocorrência de erros. O cumprimento criterioso de todos os aspetos descritos nestes documentos é obrigatório e indispensável. No caso dos ensaios às matérias-primas deve consultar-se a literatura constante da Farmacopeia Europeia ou da USP, sempre nas suas versões mais atualizadas. Enquanto que, para o PA e PSA, são os procedimentos internos aprovados pelo Departamento da *Compliance* que sustentam a sua análise. O fato de toda a informação essencial a uma análise estar pormenorizadamente compilada nestes documentos, facilita o acesso à totalidade da informação correta e permite ao analista rentabilizar o seu tempo de trabalho. Para além disso revela ser uma ferramenta preponderante para a garantia da reprodutibilidade dos resultados entre analistas.

3.1.7. Cultura de qualidade e segurança

A Bluepharma® centra a sua atividade na garantia sistemática da qualidade de todos os seus produtos, salvaguardando a segurança dos seus colaboradores, assim como o meio ambiente, tendo inclusive certificações em Qualidade (ISSO 9001), Segurança e Saúde Ocupacional (OHSAS 18000) e Ambiente (ISSO 14001).

Também no Departamento de CQ está muito bem instituída uma cultura de qualidade, segurança e preocupação ambiental. No que diz respeito à qualidade, esta é notória pela eficaz gestão dos processos, do sistema documental e dos colaboradores que realizam o seu trabalho com o máximo rigor. O cuidado com a segurança pode ser observado pela atribuição de equipamento de proteção individual atualizado e confortável, pelo uso obrigatório de bata e óculos de proteção ou ainda pela atenção dispensada à manipulação de medicamentos potentes, pelo elevado risco que acarreta o seu manuseamento, devendo este ser feito em câmara de contenção. Existe também uma preocupação na separação de todos os resíduos farmacêuticos, para posterior recolha e tratamento por uma empresa externa, evitando assim o risco de contaminação ambiental. Deste modo, estes hábitos de trabalho e os padrões de exigência praticados contribuiram em muito para o meu rigor enquanto profissional, o que considero uma mais valia para a persecução de uma profissão futura.

3.1.8. Metodologia *Kaizen*

A metodologia *Kaizen* compreende um processo de melhoria contínua com alicerces numa filosofia centrada na mudança (“*Kai*”) para melhor (“*Zen*”). A Bluepharma® tem, nos últimos anos, procurado transpor para o seu modo de funcionamento e para os seus processos as ideologias desta metodologia que, quando aplicada ao local de trabalho, procura envolver continuamente todas as funções e todos os funcionários.⁵ Sendo o seu objetivo final a otimização da totalidade dos resultados e dos processos, esta estende-se a toda a empresa, desde os laboratórios, aos escritórios, à fabricação e à embalagem.

No laboratório do CQ, a aplicação mais visível desta metodologia são as reuniões diárias com uma duração aproximada de 15 minutos. No decurso destas, é revisitado o plano de trabalho semanal, revê-se a prioridade de cada análise e fazem-se comunicações. Durante este momento, todos os colaboradores têm também a possibilidade de atualizar a restante equipa acerca do seu trabalho, tornando-se assim esta numa ocasião privilegiada para a partilha de conhecimentos e entreajuda. Estas reuniões diárias mostraram-se ser frutíferas, ao facilitarem que me inteirasse do trabalho desenvolvido neste departamento, das terminologias, bem como dos conceitos inerentes a esta área de trabalho, o que me permitiu uma mais rápida integração na equipa.

3.2 Pontos Fracos

3.2.1. Não atribuição de uma conta de analista

A utilização da maior parte dos equipamentos analíticos exige uma autorização para o seu uso, autorização esta concedida pela atribuição de uma conta pessoal protegida por uma senha a cada analista. Foram vários os equipamentos com que contatei que tinham esta exata exigência (a título de exemplo: potenciómetro, HPLC, GC, aparelho de Karl-Fisher, espectrofotómetro de infravermelho).

No entanto, por não me ter sido concedida nenhuma conta, e por ser recorrente a necessidade de introdução das credenciais, a minha utilização dos mesmos ficou restringida ao uso da conta da formadora que me acompanhava no momento, situação esta que não é a ideal e que não permitiu o alcance total da minha autonomia. Apesar deste constrangimento, não considero que tenha sido obstáculo à aquisição de todos os conhecimentos que me foram propostos.

3.2.2. Limitação ao nível de instalações e equipamentos

Embora os colaboradores estejam já escalados por diferentes turnos de trabalho, o fato da quantidade de trabalho ser avultada e de existir a necessidade de utilização simultânea do mesmo laboratório por várias pessoas, o espaço disponível por vezes escasseia. O mesmo acontece com certos equipamentos, como os sonificadores, o medidor de pH, o agitador, o aparelho de Karl-Fisher e sobretudo as balanças, que por existirem poucas unidades, estão quase sempre em constante uso. Pela existência de tais constrangimentos, torna-se assim inevitável que existam pequenos tempos de espera que, de alguma forma, afetam a produtividade.

3.3 Oportunidades

3.3.1. Oferta de formação contínua

Durante aquele que foi o período de duração do estágio, foram organizadas várias ações de formação, ministradas por colaboradores da empresa, às quais tive a oportunidade de assistir. Estes momentos de formação, de carácter obrigatório, para além de facilitarem momentos úteis de aprendizagem e de esclarecimento de dúvidas, auxiliaram ainda, por exemplo, à percepção do funcionamento integrado da empresa e a um melhor entendimento do fluxo dos processos. Estas versaram temas como: Melhoria contínua, Ambiente, Saúde e Segurança no Trabalho, Boas práticas de pesagem, Farmacovigilância, Assuntos Regulamentares, Dissoluções, Gestão de Qualidade, Investigação e Desenvolvimento e ainda uma visita às instalações.

A Bluepharma® organiza também ações de formação facultativas, acessíveis a todos os seus colaboradores, e que servem como ferramenta de auxílio à melhoria do desempenho das suas funções. No meu ponto de vista, esta é verdadeiramente uma oportunidade oferecida pela empresa, tanto às novas contratações, como aos seus colaboradores longevos, o que a diferencia das demais, acrescentando-lhe valor e preferência na escolha de um local para trabalhar.

3.3.2. Perspetivas de crescimento da Bluepharma®

Desde o início da sua história que a Bluepharma® tem vindo a crescer, aspeto notório pelo constante aumento do seu número de colaboradores, afiliação a novos parceiros de negócios e criação de ligações a cada vez mais mercados de exportação, especialmente estrangeiros, já que uma grande fatia da sua produção se destina à exportação.

Durante os próximos anos, prevê-se a ampliação das instalações atuais e a abertura de novas unidades fabris, ultrapassando os atuais constrangimentos de espaço e aumentando o seu volume de produção.

Certamente que esta ampliação abrirá portas a novas contratações, e tendo em conta que me encontro em vias de terminar o MICF, esta é também uma oportunidade para a minha atividade profissional futura, que não deixarei de considerar.

3.4 Ameaças

3.4.1. Estágio em Indústria Farmacêutica enquanto estágio não creditado

De acordo com o artigo 44º, secção 7, capítulo III da Diretiva 2005/36/CE do Parlamento Europeu, o título de farmacêutico sanciona uma formação de, pelo menos, cinco anos, dos quais: quatro anos e meio correspondem a uma formação teórica e prática, ministrada numa instituição reconhecida para o efeito; e seis meses de estágio em Farmácia Comunitária ou Farmácia Hospitalar.⁶ No entanto, pode o farmacêutico prosseguir carreira em Indústria Farmacêutica, tal como o prevê esta mesma diretiva, sem que para isso tenha tido a obrigatoriedade de contatar com esta atividade durante o seu percurso e formação académica. Assim, e a par do que acontece com os estágios em Farmácia Comunitária ou Farmácia Hospitalar, considero que também os estágios em Indústria Farmacêutica deveriam ser imbuídos de um carácter obrigatório, que abriria caminho a uma formação abrangente e ainda mais completa. Aproveito ainda para referir que não vejo a realização de um estágio em indústria, mesmo que não creditado, como uma desvantagem, mas antes como um critério de diferenciação.

4. Conclusão

A possibilidade oferecida pela FFUC aos seus estudantes de, ainda no decorrer da sua formação, poderem estagiar noutras áreas de possível atuação futura, que não apenas a Farmácia Comunitária e a Farmácia Hospitalar, constrói alicerces para a criação de futuros profissionais diferenciados e competentes.

Ao ser incluída no departamento de CQ pude privar com profissionais exemplares que muito contribuíram para o meu crescimento, tanto pessoal como profissional, e aos quais estou bastante agradecida por todos os ensinamentos.

Deste estágio destaco a oportunidade que tive de empregar muitos dos conhecimentos pré-adquiridos, agora num contexto muitíssimo prático, que pôs a descoberto qualquer dificuldade que pudesse existir, contribuindo para a minha constante evolução. Também a autonomia que adquiri e a confiança que senti depositada no meu trabalho foram dois aspetos muito gratificantes.

Em suma, ter estagiado na Bluepharma® foi para mim uma experiência que apenas posso descrever como tendo sido enriquecedora e valorosa para a minha formação, assim como para o meu futuro enquanto farmacêutica.

5. Referências Bibliográficas

1. FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA - **Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas** [Consult. 15 mar. 2020]. Disponível em <https://www.uc.pt/ffuc/Ensino/micf>
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Diário da República, 1ª série—Nº 173—4 de setembro de 2015** [Consult. 15 mar. 2020]. Disponível em https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/doc9992_29465282759230d567eecb.pdf
3. BLUEPHARMA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA S.A - **Desenvolvimento do negócio** [Consult. 16 mar. 2020]. Disponível em <https://www.bluepharma.pt/bdbusiness.php>
4. BLUEPHARMA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA S.A - **Grupo Bluepharma** [Consult. 16 mar. 2020]. Disponível em <https://www.bluepharma.pt/about-bluepharmagroup.php>
5. INSTITUTE, Kaizen - **KAIZEN™ Guiding Principles** [Consult. 30 mar. 2020]. Disponível em https://www.kaizen.com/#core_kaizen
6. PARLAMENTO EUROPEU; CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA - **Diretiva 2005/36/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 7 de Setembro de 2005 relativa ao reconhecimento das qualificações profissionais**. Jornal Oficial da União Europeia. 18:2005) 1–121.

Parte II

Relatório de Estágio

Farmácia Estádio

Abreviaturas

ANF – Associação Nacional das Farmácias

ARSC - Administração Regional de Saúde do Centro, I.P.

DGS – Direção Geral da Saúde

FE – Farmácia Estádio

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Glintt – do inglês: *Global Intelligent Technologies*

IMC – Índice de Massa Corporal

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

PIM – Preparação Individualizada da Medicação

PNV – Plano Nacional de Vacinação

PTS – Programa de Troca de Seringas

SIGREM – Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

SPMS, EPE – Serviços Partilhados do Ministério da Saúde

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

VALORMED – Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

I. Introdução

Analisando as várias áreas de intervenção do Farmacêutico, nomeadamente a Farmácia Hospitalar, Indústria Farmacêutica, Análises Clínicas, Assuntos Regulamentares, Distribuição Farmacêutica, entre outras, verificamos facilmente que a Farmácia Comunitária se destaca por ser “a face mais visível da profissão”¹. Quanto ao Farmacêutico, pela posição privilegiada que ocupa no Sistema de Saúde atual, este assume-se enquanto profissional habilitado capaz de satisfazer, informar e acompanhar um utente, cada vez mais interventivo, informado, exigente e crítico com a sua Saúde. Assim, as suas funções na “sociedade portuguesa traduzem-se numa afirmação crescente que ultrapassa o seu papel enquanto técnico do medicamento”² dada a sua competência profissional, disponibilidade e proximidade ao utente, aspetos que o diferenciam dos demais profissionais de saúde.

Para que os seus estudantes possam então corresponder à exigência das funções assumidas por aquilo que é ser Farmacêutico, o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) ministrado pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) forma, rigorosamente, profissionais de saúde capazes cientificamente e eticamente.

Este curso com duração de cinco anos culmina, no segundo semestre do quinto ano, com a realização de um Estágio Curricular obrigatório em Farmácia Comunitária, muito necessário à consolidação e maturação de conhecimentos e competências técnicas, científicas e humanas adquiridos durante os anos de formação académica precedentes, agora num contexto extremamente prático.

O Estágio Curricular que realizei na Farmácia Estádio (FE), foi isso mesmo, um momento ímpar de aprendizagem e crescimento, com especial relevo tanto na minha formação académica quanto pessoal, pela experiência e conhecimentos que daqui retirei, pelos desafios que enfrentei e pelos contatos que estabeleci.

Deste modo, analisarei ao longo deste relatório, por meio de uma análise SWOT (Pontos Fortes (Strengths), Pontos Fracos (Weaknesses), Oportunidades (Opportunities) e Ameaças (Threats)) aquele que foi o meu estágio final em Farmácia Comunitária, o qual decorreu então de 4 de março a 14 de setembro, do presente ano, na Farmácia Estádio sob orientação do Dr. André Paiva, com uma duração total de 810 horas.

2. Análise SWOT

Farmácia Estádio

A Farmácia Estádio encontra-se no nº11 da Rua Dom João III em Coimbra, inserida no próprio Estádio Cidade Coimbra e próxima a várias zonas residenciais, escolas, centros comerciais e outros serviços variados. A sua propriedade e diretoria técnica pertencem à Dra. Ana Isabel Rebelo.

Relativamente às suas instalações, esta distribui-se por um só piso, com espaços bem delimitados, tal como o imposto pelo 29º artigo do Regime Jurídico das Farmácias de Oficina³, nomeadamente, sala de atendimento ao público, laboratório, gabinetes do utente, local de receção de encomendas, instalações sanitárias, armazém, gabinete da Direção Técnica, copa e zona de arrumos.

Entre os seus fornecedores habituais constam a Plural – Cooperativa Farmacêutica e a *Alliance Healthcare* as quais fazem duas entregas diárias cada. Para além destes fornecedores, a FE recebe pontualmente produtos diretamente de alguns laboratórios e ainda produtos de dermocosmética, produtos veterinários, produtos homeopáticos e material de ortótese de outros fornecedores.

Quanto à farmácia em si, esta insere-se na rede de Farmácias Portuguesas da Associação Nacional das Farmácias (ANF), contando desta forma com o sistema Sifarma 2000[®], assim como, com o cartão Saúde.

2.1 Pontos Fortes

2.1.1. Equipa técnica

A Farmácia Estádio é constituída por uma equipa de profissionais qualificados que conjuga a juventude com a experiência. Esta é liderada pela Dra. Ana Isabel Rebelo, que juntamente com o farmacêutico substituto Dr. André Paiva, exerce uma direção técnica atenta e preocupada. Todos os seus elementos se distinguem pelas suas capacidades científicas e deontológicas, razão pela qual a farmácia conquista a preferência dos seus utentes e dispõe, por isso, de um vasto número de clientes fidelizados.

Outra característica muito importante nesta equipa está relacionada com o fato de cada elemento ter a si atribuído um papel e responsabilidades estipuladas que tornam organizado e bastante funcional o trabalho na farmácia. Ao ter-me sentido desde logo incluída como elemento desta equipa esforcei-me por corresponder de acordo com estes padrões de profissionalismo e rigor. Adicionalmente, o fato de sentir depositada confiança

no meu trabalho facilitou o ganho, natural e gradual, de autonomia no desempenho de funções e na resolução de problemas.

Deste modo, não posso deixar de destacar a equipa da Farmácia Estádio, incansavelmente disposta a formar, corrigir e apoiar, enquanto ponto mais forte de todo o meu estágio, pois foram certamente os profissionais com quem privei nestes últimos meses de aprendizagem que mostraram ser as principais determinantes do meu crescimento enquanto futura farmacêutica.

2.1.2. Localização privilegiada e horário alargado de funcionamento

Ao localizar-se numa zona central da cidade de Coimbra, é ampla a diversidade de clientes que a Farmácia Estádio recebe, heterogéneo o perfil dos mesmos, e consequentemente, distintas as suas necessidades, exigências, condições socioeconómicas e inclusive graus de literacia. De igual forma, pela sua proximidade a várias clínicas de saúde, de diversas especialidades, consultórios médicos, zonas comerciais e outros serviços, para além da zona habitacional circundante, a FE é visitada tanto por clientes fidelizados como, de forma frequente, por clientes de passagem.

Quanto ao seu horário de funcionamento, este é particularmente alargado, já que a FE tem as suas portas abertas das 8:30h às 21:00h, de segunda a sexta, e das 9:00h às 19:00h ao sábado, procurando ir de encontro às necessidades do maior número possível de utentes. A FE efetua, também, o serviço permanente definido pela Administração Regional de Saúde do Centro, I.P. (ARSC).

Enquanto futura farmacêutica ainda em formação, todo este enquadramento se revelou muito proveitoso, quer pela diversidade de desafios a que me vi exposta, quer pela aprendizagem, crescimento pessoal e profissional, e desenvolvimento de valências técnicas e científicas, comunicativas, emocionais e humanas que esta heterogeneidade e constante afluência de utentes me proporcionou.

2.1.3. Plano de estágio

No meu caso em particular, por ter sido esta a primeira vez em que contatei com a área da Farmácia Comunitária, o cuidado da FE na oferta de um plano estágio bem planeado e que segue uma sequência lógica, pensado de forma a possibilitar a evolução dos seus estagiários, foi sem dúvida uma grande vantagem, que me colocou a par dos meus colegas que tinham já experimentado esta área de atuação. Por este motivo, destaco o cuidado que a FE

teve em formar os seus estagiários desde o início, respeitando todos os requisitos exigidos pela FFUC, como um dos pontos mais fortes do estágio.

O estágio iniciou-se então com a realização de tarefas como a receção e conferência de encomendas, controlo de prazos de validade, marcação de preços e arrumação dos produtos nos seus locais devidos, o que me possibilitou um primeiro contato tanto com os medicamentos como com os demais produtos disponíveis. Fiquei assim a conhecer em que locais estes estão armazenados na farmácia, ao mesmo tempo que travei conhecimento relativo aos medicamentos, sobretudo sujeitos a receita médica, mais prescritos e aos produtos de saúde e bem estar com maior rotatividade. Pude ainda nesta fase iniciar a introdução às funcionalidades do sistema informático Sifarma 2000®.

Cedo no estágio participei também, sob supervisão, na Preparação Individual da Medicação, tarefa que destaco mais à frente. Antes ainda de ser iniciada no atendimento ao público propriamente dito, e depois de ter participado numa formação ministrada por um farmacêutico, pude ser introduzida no gabinete do utente, momento em que contatei pela primeira vez com os utentes, e onde executei essencialmente medições de tensão arterial e determinações de parâmetros bioquímicos. A preparação para o momento do atendimento foi sendo igualmente feita por intermédio da faturação e regularização de vendas, tanto suspensas quanto a crédito, de algumas instituições com as quais a FE tem protocolo, assim como pelo exercício da observação do atendimento de farmacêuticos e técnicos de farmácia experientes integrantes da equipa. Nestes momentos de carácter observacional pude aprender como é direccionado o atendimento e quais as suas diferentes etapas, para além de ter podido notar, por exemplo, quais as obrigações legais inerentes à dispensa de medicamentos psicotrópicos.

Todas estas tarefas que precederam o primeiro momento de atendimento ao balcão, o qual ocorreu inicialmente acompanhada, mostraram-se essenciais pelo ganho de destreza e pela familiarização tanto com o espaço como com o sistema informático e processos. Quanto às demais tarefas que desempenhei como, por exemplo, gestão de devoluções, a conferência de receituário, gestão da entrada e saída de psicotrópicos, correção de receitas e observação da preparação de medicamentos manipulados, estas surgiram naturalmente no decurso do estágio, em resultado da confiança depositada no meu trabalho. Pude ainda assistir ao encerramento da faturação mensal no último dia de cada mês, assim como, à gestão do receituário respeitante aos diversos subsistemas de saúde e respetivo envio às entidades competentes. À medida que fui executando cada uma destas tarefas, o estágio avançou com a sua repetição com níveis crescentes de autonomia.

Concluindo, reconheço agora a importância de ter podido acompanhar todos os passos que decorrem desde o trabalho do *back-office* até ao momento do atendimento, já que ao ter tido a oportunidade de seguir uma formação faseada, pude perceber a importância de cada uma destas etapas individualmente e qual o seu contributo para a totalidade do trabalho feito numa farmácia, assim como entender quais as repercussões que erros nas etapas iniciais têm posteriormente.

2.1.4. Sábados

Embora bem localizada, uma maioria ainda significativa dos utentes que frequentam a Farmácia Estádio durante os dias úteis é representada por clientes idosos polimedicados que procuram o aviamento da sua medicação crónica habitual. A extensão dos dias de trabalho, de segunda a sábado, possibilitou que me cruzasse com uma maior variedade de situações, já que notei que durante este período o número de pessoas que procuram a farmácia por forma a receberem aconselhamento farmacêutico é superior.

O estágio ao sábado revelou-se então como um momento privilegiado na minha formação e aprendizagem, uma vez que, para além ter tido a possibilidade de receber uma formação mais personalizada e exclusiva, dado que em cada sábado está presente apenas um estagiário, a minha experiência, pela maior variedade de situações, também aumentou.

2.1.5. Preparação Individualizada da Medicação

A Farmácia Estádio assenta uma importante parte do seu trabalho diário no fornecimento de medicação a várias instituições com as quais estabelece protocolos. Para esta tarefa existe uma equipa escalada de farmacêuticos e de técnicos, que todos os dias, faz a Preparação Individualizada da Medicação (PIM) para dezenas de utentes. Desde cedo tive a possibilidade de participar nesta preparação, tendo sido vários os benefícios que retirei desta atividade. Em primeiro lugar, destaco o estímulo do meu sentido de responsabilidade, dada a importância deste momento, assim como o gosto que desenvolvi por esta área de intervenção farmacêutica. Esta tarefa possibilitou, de igual modo, o meu contato com aquelas que são as doenças crónicas mais comuns (hipertensão arterial, hipercolesterolemia, insuficiência cardíaca, diabetes e obstipação) e com a sua medicação habitual, assim como com outros princípios ativos pouco referenciados durante a minha formação académica.

A familiarização com a apresentação, tamanho das embalagens, posologia e aparência das diferentes formas farmacêuticas, sobretudo as sólidas, revelou-se bastante útil dado a sua frequente referência nos momentos de atendimento ao balcão por parte dos utentes.

Acrescento ainda que serviu de revisão sobre a ação de alguns princípios ativos esquecidos e, inconscientemente, como treino de associação de nomes comerciais a princípios ativos.

Refiro por último que, por ser significativo o número de instituições e de utentes que a FE abastece, através da PIM, esta investiu na instalação de um equipamento de preparação individual da medicação automático, com o qual pude trabalhar, auxiliando em termos técnicos a produção, aprovisionamento e gestão de stocks, e que tornou a FE ainda mais moderna e a par do avanço tecnológico.

2.1.6. Prestação de Serviços

Dado a existência de um grande número de farmácias e pela sua convergência na dispensa, essencialmente do mesmo tipo de produtos, diferenciam-nas a qualidade e profissionalismo dos profissionais que as integram, mas também as atividades que estas dinamizam e os serviços que cada uma oferece aos seus utentes. No caso da FE, esta coloca à disposição dos seus utentes uma variedade de serviços, entre os quais destaco: a determinação da pressão arterial, a determinação de parâmetros bioquímicos, tais como, o colesterol total, a glicémia e os triglicéridos, a preparação de medicamentos manipulados, a administração de medicamentos injetáveis e vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação (PNV), a Preparação Individualizada da Medicação, as sessões de nutrição, a determinação do Índice de Massa Corporal (IMC) e as consultas de podologia.

Embora este não represente um Serviço Farmacêutico por si só, a FE insere-se também no Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (SIGREM) gerido pela Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (VALORMED), destinado à recolha de resíduos de medicamentos fora de utilização, num “processo de recolha e tratamento seguros, evitando que estejam “acessíveis” como qualquer outro resíduo urbano, contribuindo para a preservação do ambiente e proteção da saúde pública”⁴.

Esta farmácia conta ainda com o Programa de Troca de Seringas (PTS)⁵, reimplementado em 2016 nas farmácias comunitárias, pela Direção Geral da Saúde (DGS) e pelos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS, EPE).

Realço os vários Serviços disponibilizados, pela dinâmica e pela distinção que tais conferem a esta farmácia, refletindo-se na preferência e fidelização de utentes. Mas principalmente, por me ter sido possibilitada a participação na grande maioria destes, o que enriqueceu, sem qualquer dúvida, o meu percurso académico.

2.1.7. Aplicação e consolidação de conhecimentos

O estágio final em Farmácia Comunitária revelou-se num momento de aprendizagem, num contexto muito prático, que favorece uma transição aproximada e natural para a realidade do mundo do trabalho. Durante a sua duração, o que retiro como mais gratificante, para além da satisfação de ter podido ajudar alguém com a minha intervenção, foi ver aplicados muitos dos conhecimentos teóricos e técnicos que me foram passados durante os quatro anos e meio do MICF, consolidando-os e complementando-os, neste momento, no decorrer de casos práticos.

Com a realização deste estágio, e por ter podido contactar com um grande número e variedade de casos, ganhei a experiência necessária para lidar com situações futuras semelhantes, trabalhei as minhas competências comunicativas e emocionais, aprimorei a minha capacidade de associação entre princípios ativos e respetivo mecanismo de ação, nome comercial e indicação terapêutica. Também aprendi a aconselhar, alarguei os meus conhecimentos relativos a produtos de dermocosmética, dispositivos médicos, puericultura, uso veterinário e fitoterapia, bem como desenvolvi o meu conhecimento relativo à operação do programa Sifarma 2000[®].

Embora tenha enfrentado dificuldades em alguns momentos, considero que a bagagem que adquiri me facultou as valências que só a prática e experiência desenvolverão e reconheço que existem ainda muitos conhecimentos que terei que explorar e interiorizar.

2.2 Pontos Fracos

2.2.1. Elevado número de estagiários

Durante o período do meu estágio partilhei a orientação com outros quatro estagiários curriculares do MICF. Embora não veja este aspeto como tendo sido preponderante à minha desenvoltura e aprendizagem, considero que, nos momentos em que tive a oportunidade de ter uma maior exclusividade da atenção dos meus formadores, a minha aprendizagem foi mais fortuita. Compreendo também que na circunstância que nos vimos obrigados a adaptar, esta terá sido a única e melhor solução possível, já que, contrapondo a possibilidade de não realizar qualquer estágio ou a de partilhar um momento de formação e aprendizagem essencial, com um maior número de colegas, esta última foi indubitavelmente a melhor opção.

2.2.2. Diferenciação dos estagiários

Embora sirva a distinção dos estagiários por intermédio da cor da sua bata como estratégia de estímulo da compreensão dos utentes face à inexperiência dos mesmos, esta acabou por revelar-se, em alguns momentos, como um entrave ao atendimento de um número ainda considerável de utentes, que preferiram o atendimento por parte de um farmacêutico ou técnico de farmácia experiente em detrimento dos estagiários. Contudo, não terá sido este aspeto um entrave completo, uma vez que, nos foi sempre oferecida a oportunidade de assistir a todo e qualquer momento de aconselhamento. No entanto, o impulso da nossa capacidade de resolução autónoma de problemas viu-se, em alguns momentos, algo diminuída.

2.3 Oportunidades

2.3.1. Novas formas de atendimento

Procurando adaptar-se às exigências atuais e focando-se na manutenção da proximidade possível aos seus utentes, a Farmácia Estádio, reforçou a sua aposta em alguns serviços previamente existentes, como o atendimento telefónico e o serviço de entrega ao domicílio de forma gratuita. Tais estratégias estimularam a criação de novas formas de trabalho, que não se cingiram ao atendimento presencial, e que aperfeiçoaram as capacidades comunicativas de todos os colaboradores e sobretudo, incutiram em mim valores de superação face às adversidades.

2.3.2. Contato com o Novo Módulo de Atendimento

Quase no término do meu estágio, e já depois de estar familiarizada com o módulo de atendimento do sistema Sifarma 2000[®], criado pela *Global Intelligent Technologies (Glintt)*, pude contactar, ainda que brevemente, com o seu Novo Módulo de Atendimento, o qual se prevê que entre definitivamente em vigor no início do ano de 2021. A par do desenvolvimento tecnológico dos dias de hoje, este programa piloto apresenta-se mais personalizado e intuitivo, dando azo a uma nova forma de atendimento bastante simplificada, interativa e focada no utente. Destaco este aspeto enquanto uma oportunidade pela preparação para um eventual futuro de trabalho em Farmácia Comunitária, assim como um aspeto diferenciador na minha formação, uma vez que, para já, este não está acessível em todas as farmácias.

2.3.3. Dispensa de medicação hospitalar

Face à presente pandemia, e durante a vigência do período de emergência, ainda que excepcional e temporariamente, as farmácias comunitárias servem enquanto intermediárias da dispensa de medicação hospitalar em regime de ambulatório. Esta dispensa é da responsabilidade exclusiva de um farmacêutico que deve avaliar se o utente “relata novos sinais ou sintomas sugestivos de agravamento da doença, interações medicamentosas ou efeitos indesejáveis relacionados com o uso do medicamento”⁶, devendo em caso positivo, reportar de imediato aos serviços farmacêuticos hospitalares. Enquanto estagiária, embora não tenha podido dispensar estes medicamentos, o fato de ter contactado com o processo e com a própria medicação de dispensa hospitalar em si, permitiu-me usufruir de um momento excepcional àquele que é habitualmente o estágio numa farmácia comunitária.

2.3.4. Participação num serviço permanente

Durante o decorrer do meu estágio foi-me dada a possibilidade de participação numa noite de serviço. Nestes momentos, a farmácia é procurada sobretudo, por utentes vindos diretamente do hospital, que apresentam exigências urgentes e que requerem informações prontas relativamente ao seu tratamento e posologia, mas também por indivíduos com condições de saúde urgentes que procuram, ainda mais, a farmácia como primeira instância de ajuda. Considero que esta oportunidade me proporcionou uma melhor compreensão daquela que é a abrangência do trabalho desenvolvido na Farmácia Comunitária, para além de que despertou em mim a vontade de expandir as minhas capacidades de aconselhamento e de resolução de problemas, contribuindo desta forma para a minha formação e construção enquanto futura farmacêutica mais completa.

2.4 Ameaças

2.4.1. Impossibilidade de participar em formações complementares

A área farmacêutica trata-se de uma área em constante atualização onde surgem, praticamente todos os dias, novos conhecimentos, novas moléculas, novos produtos e novos dispositivos. Assim, o Farmacêutico, por forma a oferecer sempre aos seus utentes as melhores opções existentes, um atendimento e aconselhamento à luz da evidência atual, deve procurar atualizar-se continuamente.

Pela imensidão de produtos e serviços disponíveis na Farmácia Comunitária, a possibilidade de obter e de participar em momentos adicionais de formação e

enriquecimento, técnico e científico, revela-se como algo muitíssimo vantajoso, principalmente para o futuro farmacêutico. Contudo, com a atual situação da pandemia, as visitas à farmácia por entidades formadoras externas viram-se quase ou totalmente suprimidas. Tal situação foi sempre sendo colmatada pela total disponibilidade dos diferentes colaboradores da farmácia de promoverem eles próprios momentos de formação vária para assim suprirem algumas lacunas ao nível do aconselhamento de alguns produtos. Este esforço e os conhecimentos que daqui retirei, aumentaram a minha confiança, segurança e autonomia no ato do atendimento.

2.4.2. Estágio em tempo de pandemia

Na atual situação de pandemia constatei que a busca da farmácia convergiu frequentemente para a procura e aquisição de alguns produtos específicos como álcool, gel desinfetante, máscaras e viseiras, luvas e complexos vitamínicos. Durante este período a preocupação de muitos utentes em garantirem o aprovisionamento de grandes quantidades, tanto dos seus medicamentos crónicos habituais, como de alguns outros de venda não sujeita a receita médica obrigatória, como o paracetamol 500 mg foi uma realidade. A exigência da dispensa de MSRM foi também uma constante na procura da farmácia, o que naturalmente gerou alguns constrangimentos, dada a impossibilidade da dispensa destes sem a apresentação de uma receita médica válida.

Quantos aos momentos de aconselhamento habituais no dia-a-dia da farmácia, estes foram substituídos pela inquietação na procura do esclarecimento de dúvidas relacionadas com procedimentos a adotar nesta fase e na desmitificação de algumas informações retiradas de fontes de informação não fidedignas. Desta forma, os já mais reduzidos momentos de aconselhamento farmacêutico que teria a possibilidade de proporcionar viram-se ainda mais diminuídos.

Muito embora a procura da farmácia tenha num momento inicial aumentado significativamente, o distanciamento físico imposto pela utilização de acrílicos, marcações delineadas no piso e encerramento de balcões traduziu-se num afastamento do próprio utente que deixou de procurar a farmácia tão regularmente, mas apenas para situações estritamente necessárias.

Concretizando, estes foram alguns desafios com os quais me deparei no período em que o meu estágio decorreu, os quais considero que em última instância, e apesar das dificuldades criadas, acabaram por se transformar em novas formas de adaptação e superação que caracterizam aquela que é a classe farmacêutica.

2.4.3. Medicamentos esgotados

Infelizmente tem vindo a ser, nos últimos anos, comum a realidade dos medicamentos esgotados. Para além dos longos períodos de tempo durante os quais é impossível encomendá-los, e falamos de semanas até meses, por serem, na sua grande maioria, medicamentos sem alternativa terapêutica (por exemplo: Serenal® 50mg, Victan® 2mg) a satisfação das necessidades de muitos utentes está em muitas ocasiões impossibilitada. Enquanto estagiária aponto esta problemática primeiro por não conseguir, em vários momentos, corresponder aos pedidos de medicamentos que me foram feitos, mas também por ter sentido a incompreensão de um grande número de utentes na inimputabilidade das farmácias perante esta situação. Reparei ainda, com preocupação, que um número considerável de utentes, ao não conseguirem adquirir a sua medicação suspenderam, autonomamente, a sua toma, abrindo assim lugar a novos problemas de não adesão terapêutica.

3. Conclusão

Terminadas as 810 horas de estágio em Farmácia Comunitária, que encerram um capítulo inesquecível da minha vida, reconheço com orgulho que os quatro anos e meio de aprendizagem e de ensinamentos teórico-práticos que precederam este momento me prepararam da melhor forma para o encerrar de um ciclo que culminou na realização deste estágio.

Quanto ao estágio propriamente dito, é crença minha que todas as dificuldades sentidas bem como Pontos Fracos e Ameaças experienciadas se tornaram, sempre, e em última instância numa oportunidade de enriquecimento, superação e de maturação que me aproximaram apenas do meu objetivo de me tornar uma excelente farmacêutica.

Posto isto, o Estágio Curricular obrigatório foi para mim verdadeiramente enriquecedor, primeiro pela possibilidade de estender a minha aprendizagem e experiência, segundo pela satisfação de ver aplicados muitos dos conhecimentos científicos e técnicos que me foram fornecidos nestes últimos anos de trabalho e dedicação. Acrescento ainda o fato deste ter sido um momento diferenciador, ao qual reconheço a completa necessidade de aparecer no nosso plano de estudos enquanto Unidade Curricular obrigatória.

Resta-me acrescentar que a competência, profissionalismo, responsabilidade e qualidade de trabalho que me foram passadas ao estagiar na Farmácia Estádio muito acrescentaram ao meu percurso e por isso estou muito agradecida.

4. Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Farmácia Comunitária** [Consult. 20 ago. 2020]. Disponível em <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria>.
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Farmácia Comunitária** [Consult. 21 ago. 2020]. Disponível em https://www.ordemfarmaceuticos.pt/scid/ofWebInst_09/defaultCategoryViewOne.asp?categoryId=1909.
3. Decreto Lei nº 168/2007 - **Diário da República, Série I**. (2007-08-31).
4. SOCIEDADE GESTORA DE RESÍDUOS DE EMBALAGENS E MEDICAMENTOS, Lda - **VALORMED** [Consult. 25 ago. 2020]. Disponível em <http://valormed.pt/paginas/2/spanquemspan-somos>.
5. PORTARIA n.º 301-A/2016. - **Diário da República 230/2016 Série I, 1º Suplemento. 4270** (2016- 11-30)
6. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Saúde regula dispensa de medicamentos hospitalares nas farmácias comunitárias**, (2020). [Consult. 20 ago. 2020]. Disponível em <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/saude-regula-dispensa-de-medicamentos-hospitalares-nas-farmacias-comunitarias>.

Parte III

Monografia

Streptococcus pneumoniae um agente patogénico dos nossos dias

Resumo

O *Streptococcus pneumoniae* trata-se de um habitante comensal e bem-adaptado da superfície mucosa do trato respiratório superior que tem com o seu hospedeiro obrigatório, o Homem, uma relação complexa. Este microrganismo descoberto há mais de cem anos, mantém-se como um importante agente etiológico de pneumonia, meningite, otite média, sinusite e septicemia em todo o mundo. O largo espectro de doenças que causa surge da aplicação dos seus muitos fatores de virulência ou da debilidade do sistema imunitário do hospedeiro que tornam permissiva a invasão de locais por norma estéreis como o ouvido médio, os pulmões, a corrente sanguínea e as meninges. A sua transmissão, colonização e invasão dependem largamente das suas refinadas estratégias de evasão ou da sua notória capacidade de retirar vantagem das respostas inflamatória e imunes do seu hospedeiro.

Também o tratamento das infeções pneumocócicas se demonstra desafiante pelo aparecimento, a nível mundial, de pneumococos resistentes aos β -lactâmicos, assim como a outras classes de antibióticos. Para além disso, o uso generalizado da vacinação antipneumocócica e a resultante pressão imunitária, somada aos demais aspetos referidos, esclarecem a sua dinâmica e proeminência enquanto importante agente patogénico infeccioso.

Palavras-chave: *Streptococcus pneumoniae*, fatores de virulência, pneumonia, meningite, tratamento, resistência antibiótica, vacinação.

Abstract

Streptococcus pneumoniae is a commensal and well-adapted inhabitant of the mucosal surface of the upper respiratory tract who has a complex relationship with his obligatory host, the Human. This microorganism discovered more than a hundred years ago, is still an important etiological agent of pneumonia, meningitis, otitis media, sinusitis and septicaemia worldwide. The wide spectrum of diseases it causes arises from the use of its many virulence factors or the weakness of the host's immune system that makes permissive the invasion of usually sterile places such as the middle ear, lungs, bloodstream and meninges. Its transmission, colonization and invasion depend largely on its refined escape strategies or its notorious ability to take advantage of the host's inflammatory and immune responses.

The treatment of pneumococcal infections is also challenging because of the worldwide appearance of pneumococci resistant to β -lactams, as well as to other classes of antibiotics. In addition, the widespread use of anti-pneumococcal vaccination and the resulting immune pressure, together with the other aspects mentioned, clarify its dynamics and prominence as a particularly important infectious pathogen.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, virulence factors, pneumonia, meningitis, treatment, antibiotic resistance, vaccination.

Lista de Abreviaturas

BgaA – β -galactosidase

BHE – Barreira hematoencefálica

CbpA – Proteína A de ligação à colina

CBPs – Proteínas de ligação à colina

ChoP – Fosforilcolina

CPS – Cápsula polissacarídica

CRP – do inglês: *C-reactive protein*

DGS – Direção-Geral da Saúde

DPI – Doença pneumocócica invasiva

EARSS – do inglês: *European Antimicrobial Resistance Surveillance System*

erm(B) – do inglês: *erythromycin ribosomal methylation*

ERS/ESCMID – *European Respiratory Society/ European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*

Fab – Fragmentos de ligação ao antigénio

Hyl – Hialuronidase

IgA1 – Imunoglobulina A1 humana

ITR – Infecções do Trato Respiratório

LCR – Líquido cefalorraquidiano

LR – Recetor da laminina

LytA – Autolisina A

mef(A) – do inglês: *macrolide efflux system gene*

NanA – Neuraminidase A

NLRs – do inglês: *NOD-like receptors*

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAFR – Recetor do Fator de Ativação Plaquetar

PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos

PBPs – do inglês: *Penicillin-binding proteins*

PCR – do inglês: *Polymerization Chain Reaction*

PgdA – peptidoglicano-N-acetilglucosamina-desacetilase

pIgR – Recetor Polimérico da Imunoglobulina

Ply – Pneumolisina

PRRs – Recetores de reconhecimento de padrão

PspA – Proteína A de superfície

SNC – Sistema Nervoso Central

SPP – Sociedade Portuguesa de Pneumologia

StrH – N- β -acetilglucosaminidase

TLRs – do inglês: *Toll-like receptors*

TRS – Trato Respiratório Superior

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

VPC – Vacina pneumocócica conjugada

VPC13 – Vacina pneumocócica conjugada 13-valente

VPP23 – Vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

ZmpAI – Metaloprotease de zinco pneumocócica

I. Introdução

Nas últimas décadas, as áreas da microbiologia, da antibioterapia, da medicina e da vacinação conheceram enormes avanços científicos e técnicos, não obstante a isto, as doenças infecciosas não seguiram o fim que todo este conhecimento parecia prever¹. Em vez disso, e mais propriamente no que diz respeito às Infecções do Trato Respiratório (ITR), estas prevalecem por mais conhecimento, cuidados secundários de saúde e armas médicas que tenhamos ao nosso dispor, posicionando-se nos lugares cimeiros de causas de doença entre o Homem. Assim, as ITR, como a pneumonia são um importante e reconhecido problema de saúde global, representando elevados valores de morbi e mortalidade, em especial, entre crianças e indivíduos idosos. A isto podemos ainda adicionar o impacto que este grupo de doenças tem na qualidade de vida, já que para além da incapacidade inerente, constituem a principal causa de consulta em ambulatório, de ausência laboral e ainda de prescrição antibiótica¹. Como importantes causadores de infeções graves encontramos vários agentes etiológicos, e de entre todos eles, realça-se o papel da bactéria *Streptococcus pneumoniae* nesta problemática.

Este microrganismo, apontado em 2017 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos 12 patógenos prioritários, é responsável por uma miríade de doenças, muitas delas do trato respiratório, que compreendem doenças que ameaçam a vida, nas quais se incluem a pneumonia, a meningite e a septicémia, assim como infeções menos sérias como a otite média, a sinusite e a conjuntivite².

A invasão do hospedeiro, por parte desta bactéria é feita, num primeiro momento, através da colonização assintomática da nasofaringe^{3, 4}. Após colonização, caso não seja eliminado pelo sistema imunitário hospedeiro, pode disseminar-se para as vias respiratórias inferiores bem como para outros órgãos e tecidos, tornando-se patogénico^{4, 5}. Um sistema imunitário forte e o equilíbrio entre a microbiota residente e o agente invasor podem auxiliar a sua eliminação evitando assim a sua progressão. Caso os mecanismos de defesa sejam deficientes, o hospedeiro fica então sujeito a uma colonização frequente e duradoura por *S. pneumoniae*, a qual pode levar ao desenvolvimento de um estado de doença^{6, 7}. Esta bactéria dispõe ainda de uma vasta seleção de fatores de virulência que promovem a sua colonização, aderência e invasão dos tecidos, assim como lhe permitem escapar às defesas imunitárias do hospedeiro e defender-se contra a microbiota residente na nasofaringe que tentaria eliminá-la^{5,8,9}.

Embora mantenha uma existência dicotómica como agente patogénico virulento e habitual membro inócuo da microbiota do trato respiratório superior (TRS)¹⁰, ao ser um

agente etiológico de doenças bacterianas graves, a bactéria *S. pneumoniae* é inequivocamente um problema de saúde global ao contribuir para elevadas taxas de mortalidade e morbidade, em particular entre os extremos etários¹¹.

A contínua incidência e severidade da doença pneumocócica, acoplada a significativos valores de caso-fatalidade, apesar do uso de terapêutica antimicrobiana, o aumento do número de estirpes resistentes a agentes antimicrobianos, assim como o surgimento de serotipos não vacinais, imposto pela utilização generalizada da vacinação antipneumocócica, renovaram o interesse e o alerta para a necessidade de acompanhamento constante e de pesquisa alargada de terapêuticas, bem como de medidas preventivas para a doença pneumocócica¹².

2. Epidemiologia

O *S. pneumoniae* apontado como uma das causas mais comuns de pneumonia, septicemia e infeções do sistema nervoso central como a meningite¹³, trata-se de um agente patogénico infeccioso com um fardo global significativo. Em 2005, a OMS estimou que 1,6 milhões de mortes ocorreram anualmente devido ao pneumococo, a maioria entre crianças e idosos. No entanto, como a generalidade das pessoas que morre, por exemplo de pneumonia, não tem o agente etiológico causador identificado, é presumível que este número seja uma subavaliação¹⁴. De entre o avultado número de mortes pelas quais é responsável, todos os anos, um milhão dessas mortes são crianças, com idade inferior a cinco anos, as quais morrem no decorrer do desenvolvimento de pneumonia ou de outra doença pneumocócica invasiva¹⁵. Só nos EUA estima-se que cause cerca de quatro milhões de casos de doença e perto de 450.000 hospitalizações por ano^{16, 17}. Estudos indicam ainda que durante o ano de 2017 cerca de 19% dos doentes que desenvolveram doenças pneumocócicas invasivas morreram em resultado das mesmas¹⁸.

Em termos das ITR em particular, o pneumococo foi considerado a principal causa de mortalidade e morbidade com esta origem, contribuindo para mais mortes do que todas as outras etiologias estudadas combinadas (*Haemophilus influenzae* tipo b, vírus Influenza e vírus Sincial Respiratório)¹⁹. A meningite pneumocócica representa também um elevado valor de caso-fatalidade com valores de mortalidade próximos dos 20% e 50%, em países desenvolvidos e em desenvolvimento, respetivamente⁴.

3. Microbioma

O corpo humano alberga uma enorme variedade de comunidades microbianas, intrincadas redes que interagem entre si e que consistem fundamentalmente numa miríade de bactérias, fungos, vírus, bacteriófagos, *archaea* e eucariotas, que colonizam diferentes superfícies corporais como é o caso da pele, da cavidade oral, do intestino, do trato respiratório superior e do pulmão²⁰. Esta população comensal de microrganismos participa do metabolismo de produtos alimentares, protege contra infeções causadas por microrganismos virulentos e estimula a resposta imune. O advento em métodos de amplificação, como o *Polymerization Chain Reaction* (PCR), permitiu estudar em detalhe estes micro-ecossistemas e a sua relação com a saúde e a doença (por vezes crónica), levando a que cada vez mais se encare a saúde humana como um resultado do *outcome* da complexa interação entre redes de microrganismos e o seu hospedeiro²¹.

As ITR consideradas comuns, como as otites médias e as pneumonias estão no geral associadas a um número limitado de patógenos de entre os quais se destacam *S. pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*. No entanto, estes agentes patogénicos são também conhecidos residentes do TRS, e formam, junto com outras bactérias comensais, vírus e fungos, intrincadas redes ecológicas conhecidas no seu coletivo como microbiota. Tal como acontece, por exemplo, com a microbiota intestinal, também o equilíbrio da microbiota respiratória é tido como benéfico para a saúde do seu hospedeiro, preparando e protegendo o sistema imunológico contra possíveis colonizações. Por outro lado, o desequilíbrio deste ecossistema pode predispor o trato respiratório ao crescimento bacteriano e desenvolvimento de infeções respiratórias. Acredita-se então, que a microbiota respiratória é uma forte determinante da saúde respiratória.

São vários os fatores que parecem causar perturbações ecológicas que podem romper o delicado equilíbrio das comunidades bacterianas, em especial do TRS, sejam estes associados a fatores ambientais, ao estilo de vida ou ao tratamento com antibióticos, que diminuindo a resistência à colonização ou exponenciando o crescimento bacteriano, podem em última instância conduzir a infeções bacterianas locais ou sistémicas. Particularizando para a situação do *S. pneumoniae*, procura-se ainda perceber de que forma, sendo um habitual colonizador não virulento da nasofaringe, se torna virulento e invade locais por norma estéreis como os pulmões ou as meninges.

4. Taxonomia

Taxonomicamente a bactéria *S. pneumoniae* pertence ao filo *Firmicutes*, à classe *Bacilli*, à ordem *Lactobacillales*, à família *Streptococcaceae*, ao género *Streptococcus* e à espécie *Streptococcus pneumoniae*²². O género *Streptococcus* compreende um diverso grupo de espécies colonizadoras tanto do Homem como de alguns animais, algumas delas comensais de vários nichos, outras patogénicas. Faz ainda parte do grupo *viridans* onde se incluem *Streptococcus mitis*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus peroris* e *Streptococcus infantis*, dos quais se diferencia pela sua suscetibilidade à etil-hidrocupreína (optoquina) e solubilidade em ácidos biliares ou desoxicolato^{14, 23}.

5. Microbiologia

Isolado pela primeira vez em 1881, em simultâneo por George Miller Sternberg nos Estados Unidos e por Louis Pasteur em França²⁴, o *S. pneumoniae* trata-se de um pequeno e fastidioso coco Gram-positivo encapsulado, comensal do TRS, e mais propriamente da nasofaringe²⁵. Esta bactéria é um agente patogénico extracelular que tem como hospedeiro obrigatório o Homem. É anaeróbio aerotolerante, já que não realiza metabolismo respiratório, catalase, peroxidase, e oxidase negativo, assim como imóvel²⁴.

A sua superfície exterior é constituída de forma genérica por: cápsula, parede celular e membrana citoplasmática. A cápsula, a sua camada mais espessa, é composta por estruturas químicas polissacarídicas complexas, específicas de cada um dos seus serotipos. A sua parede celular fornece proteção e molda a célula, e apresenta, para além disso, a estrutura típica de bactérias Gram-positivo, sendo o seu componente principal uma espessa camada de peptidoglicano, responsável pela integridade celular e pela proteção do citoplasma contra diferenças de pressão osmótica. Para além do peptidoglicano, fazem ainda parte dois outros componentes principais desta parede, o ácido lipoteicóico e o ácido teicóico, do qual existem duas formas. Uma exposta à superfície celular bacteriana e uma outra estrutura semelhante covalentemente ligada aos lípidos da membrana plasmática. O ácido teicóico exposto liga-se à camada de peptidoglicano e estende-se através da cápsula sobreposta, formando uma estrutura específica desta espécie chamada de polissacarídeo C, que uma vez na presença de cálcio precipita uma porção de uma globulina do soro, a proteína C-reativa (CRP). Ambas as formas de ácido teicóico estão associadas a resíduos de fosforilcolina (ChoP). A ChoP única na parede celular de *S. pneumoniae* desempenha funções imprescindíveis das quais se destaca a sua capacidade de ligação ao recetor do Fator de

Ativação Plaquetar (PAFR) expresso à superfície das células endoteliais, plaquetas, leucócitos e células dos pulmões e das meninges. Ao ligar-se a estes recetores as células ficam acessíveis à entrada bacteriana e o pneumococo, por sua vez, protegido da opsonização e fagocitose, pode assim invadir locais como o sangue e o Sistema Nervoso Central (SNC). Muitas outras proteínas são expressas na superfície da célula pneumocócica, tendo as que se ligam à colina particular importância pelo seu papel na patogénese, e as proteínas envolvidas na sua recetividade à aquisição de DNA, relevância no mecanismo de competência natural deste agente patogénico. Por último, a membrana plasmática envolve o citoplasma e tem a si ligado de forma não covalente o ácido lipoteicóico, lípidos e proteínas²⁵⁻²⁸.

Por ser nutricionalmente exigente, requer para o seu cultivo, meios sólidos complexos suplementados com produtos como o sangue. As suas condições ótimas de crescimento compreendem 5-10% de CO₂ na sua atmosfera de incubação e uma temperatura de 37°C. Outra característica muito útil à sua identificação é o fato de ser α -hemolítico. A aparência α -hemolítica decorre da produção de pneumolisina, uma enzima que conduz à lise parcial dos glóbulos vermelhos presentes num meio de cultura enriquecido com sangue e que degrada a hemoglobina, resultando num halo esverdeado na área circundante à colónia^{14, 25}.

6. Fatores de Virulência

Sabe-se hoje em dia, pelo grande número de análises genómicas, que cada estirpe de *S. pneumoniae* difere na sua capacidade de produzir fatores de virulência, através dos quais este se evade do sistema imunitário e causa doença²⁵. Estes dados revelam-se muito importantes, já que do conhecimento da patogénese da infeção poderá advir a identificação de possíveis pontos de intervenção de tratamento ou de vacinação⁵. Assim, a investigação nesta área tem sido estimulada pela constatação de que as proteínas pneumocócicas representam uma via promissora para o desenvolvimento de vacinas que sejam comuns a todos serotipos pneumocócicos⁵. A isto podemos ainda acrescentar que, do entendimento da distribuição destes fatores de virulência pelas diferentes variantes de pneumococo, poderá ser possível a associação entre fatores de virulência e os diferentes tipos de doença²⁹.

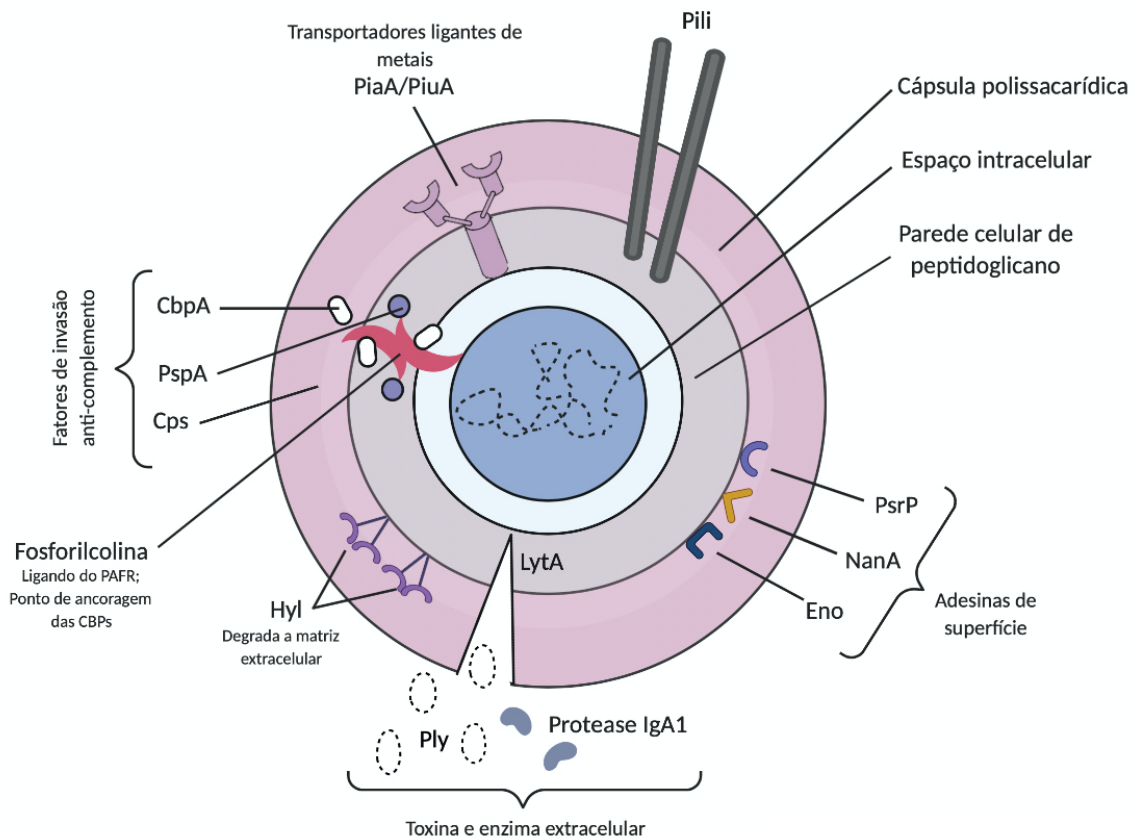


Figura 1 - Representação dos principais fatores de virulência pneumocócicos. Abreviaturas: Cps (Cápsula polissacarídica), PspA (Proteína A de superfície pneumocócica), CbpA (Proteína A de ligação à colina), Hyl (Hialuronidase), Ply (Pneumolisina), NanA (Neuraminidase A), Eno (Enolase), LytA (Autolisina A), PiaA/PiuA (Pneumococcal iron acquisition A protein/ Pneumococcal iron uptake A protein). (Adaptado de POLL, Tom VAN DER; OPAL, Steven M (2009))⁴

6.1. Cápsula polissacarídica

A cápsula polissacarídica (CPS), exterior à parede celular, é indubitavelmente apontada como o principal fator de virulência do *S. pneumoniae*. O papel desta em termos de virulência relaciona-se sobretudo com a sua capacidade antifagocítica, em indivíduos não-imunizados⁵. Muito embora a CPS iniba sobretudo a fagocitose mediada pelas células imunitárias inatas, previne também o reconhecimento da bactéria pelos recetores do hospedeiro e pelos fatores do complemento, evitando o aprisionamento pelos neutrófilos e a opsonofagocitose, permitindo desta forma a multiplicação extracelular indiscriminada do microrganismo. Auxilia ainda o início da infeção ao permitir que a bactéria adira às células hospedeiras e cause inflamação, ao mesmo tempo que a protege do sistema imunitário²⁸.

A CPS coadjuva também o processo de colonização, uma vez que evita a remoção mecânica pelo muco e pelo movimento ciliar. Para além disso, restringe a autólise e reduz a exposição aos antibióticos¹. A cápsula tem carga negativa, tal como o muco e as células fagocíticas, como os macrófagos, assim os papéis desta na patogénese, nomeadamente a

diminuição da *clearance* de *S. pneumoniae*, podem ser explicados pelo fenômeno de repulsão eletrostática²⁸.

A maioria das estirpes desta espécie é capsulada, conhecendo-se mais de 90 serotipos capsulares antígenicamente distintos⁵ para cada um dos quais, a produção de anticorpos anticapsulares fornece proteção apenas contra esse mesmo serotipo. Já as estirpes não-capsuladas são consideradas menos virulentas, uma vez que é a cápsula a principal determinante da diminuição da suscetibilidade aos mecanismos de defesa do hospedeiro. Cada um destes serotipos difere na sua capacidade de colonização e transmissão, manifestação da doença, idade de prevalência, resistência antimicrobiana e ainda na sua distribuição geográfica².

Mutações nos genes de síntese dos polissacarídeos capsulares promovem a troca do serotipo, assim, a virulência conseguida através da CPS é exponenciada pela capacidade natural deste agente patogénico comutá-la. Esta troca de serotipo é cada vez mais frequente, seja via recombinação ou baseada em polimorfismos resultantes de pressões seletivas de antibióticos ou vacinas. Assim, este mecanismo de competência torna-se uma ainda maior preocupação para os cuidados de saúde atuais, uma vez que os serotipos não vacinais estão a ser detetados em taxas superiores às detetadas antes da implementação das vacinas. As estirpes comutadoras de serotipo e as estirpes não-capsuladas juntas aumentarão o fardo sobre as faixas etárias de risco, razão pela qual se torna essencial melhorar vacinas e tratamentos¹⁷.

6.2. Protease da Imunoglobulina AI humana

A imunoglobulina AI humana (IgAI) é a mais abundante imunoglobulina presente na mucosa do TRS humano, responsável pela *clearance* de microrganismos e de partículas invasoras. A metaloprotease de zinco pneumocócica (ZmpA) também conhecida por protease da IgAI, cliva a região do fragmento cristalizável da IgAI humana. Os fragmentos de ligação ao antígeno (Fab) intactos, resultantes da proteólise, embora retenham a capacidade de ligação ao antígeno, por serem monovalentes, são incapazes de manter a capacidade aglutinante, já que a sua ligação aos epítopos presentes na superfície bacteriana bloqueia o acesso das células imunocompetentes e dos anticorpos necessários à eliminação do agente patogénico, permitindo a fuga do pneumococo a este mecanismo de defesa. Uma vez hidrolisada, a IgAI acaba ainda por contribuir para a adesão pneumocócica, pois os fragmentos Fab, que permanecem na superfície bacteriana após hidrólise, neutralizam a carga negativa da cápsula e potenciam a sua adesão à mucosa³¹.

Quando comparadas, as bactérias produtoras da protease da IgA1 são melhor sucedidas na colonização da nasofaringe do que as não produtoras, depreendendo-se, a partir destes dados, que a microbiota deste nicho é em parte regulado, pela presença desta protease. Importa ainda acrescentar que o Homem é o único hospedeiro conhecido para o pneumococo, sendo que esta sua predisposição natural à colonização poderá ser explicada pela elevada afinidade e especificidade existente entre a protease pneumocócica e a IgA1^{1,20}.

6.3. Pneumolisina

Outro fator de virulência significativo é a pneumolisina (Ply), uma citolisina pertencente à família das toxinas formadoras de canais, com capacidade de lesar as células hospedeiras e de interferir com a resposta imune, presente na maioria dos isolados clínicos pneumocócicos⁵. A sua ação principal passa pela ligação ao colesterol membranar com consequente formação de poros mediante oligomerização, os quais conduzem à lise celular e à desregulação de Ca^{2+} e K^+ ³⁰. Os poros formados permitem ainda o acesso bacteriano ao citosol das células hospedeiras, despoletando a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e causando desta forma danos celulares significativos²¹. Para além de subverter a integridade epitelial, as propriedades citotóxicas e fortes efeitos pró-inflamatórios desta toxina, secundários à sua atividade enquanto formadora de poros, exponenciam a virulência do pneumococo e beneficiam o estado de doença, por exemplo, pelo favorecimento da colonização e disseminação³. Outro dos seus efeitos é a ativação do sistema do complemento, importante defesa inata hospedeira. Em concentrações mais baixas, a toxina tem ainda uma variedade de efeitos em diferentes tipos de células, entre as quais demonstrou: diminuir o movimento ciliar das células epiteliais, perturbar as *tight-junctions* e impedir a capacidade fagocítica de neutrófilos e macrófagos pela inibição do *burst oxidativo*^{12,31}. Estudos demonstraram que a Ply pode também causar danos no DNA. Tal acontece pelas suas propriedades enquanto formadora de poros, que ao provocarem a disrupção dos níveis de Ca^{2+} intracelular, conduzem à sobreprodução de espécies reativas de oxigénio que, por sua vez, causam danos no DNA do hospedeiro³⁴.

6.4. Proteínas da superfície celular pneumocócica

As proteínas da superfície celular pneumocócica têm atraído uma atenção considerável devido ao seu potencial enquanto antigénios vacinais que podem estimular a produção de anticorpos opsonicos. Sendo três os grupos principais: proteínas de ligação à

colina (CBPs), lipoproteínas e proteínas covalentemente ligadas à parede celular bacteriana por uma carboxi (C)-esterase terminal (LPXTG)⁵.

6.4.1. Proteínas de ligação à colina

A ChoP componente integrante da parede celular, para além de promotora da adesão pneumocócica, serve como ponto de ancoragem a um conjunto de proteínas, único no pneumococo, designadas por CBPs²⁸.

6.4.1.1. Proteína A de ligação à colina

A proteína A de ligação à colina (CbpA) é uma proteína multifuncional com atividade enquanto adesina e que apresenta ainda dois domínios de ligação, um domínio específico de ligação ao recetor polimérico da imunoglobulina (pIgR) da mucosa da nasofaringe⁵, bem como um segundo domínio de ligação ao recetor da laminina (LR) presente na barreira hematoencefálica (BHE), estando ambas as interações implicadas na translocação bacteriana através das respetivas barreiras. É, portanto, uma importante determinante da colonização nasofaríngea e do desenvolvimento de doença invasiva. Previne ainda a formação da via alternativa do complemento, limitando a opsonofagocitose pneumocócica^{28, 35, 36}.

6.4.1.2. Autolisina A

A contribuição da autolisina (LytA) para a virulência é considerada mediada, em parte, pela sua ação enquanto desencadeadora da libertação de antigénios pneumocócicos citotóxicos como a Ply, e pró-inflamatórios como o peptidoglicano e o ácido lipoteicoico, a partir de pneumococos lisados⁵. A libertação de tais componentes inibe a produção de citocinas como a IL-12, o que, por sua vez, bloqueia a ativação de fagócitos, funcionando deste modo como uma forma de evasão ao sistema imune. Ao bloquear a sinalização celular através do bloqueio da produção de citocinas, a LytA revelou ser ainda um obstáculo à ativação e deposição do complemento. Hidrolisa igualmente o peptidoglicano, sendo essencial ao processo de divisão celular e um importante fator de colonização da nasofaringe^{28, 35, 36}.

6.4.1.3. Proteína A de superfície

Pela sua elevada eletronegatividade, a proteína A de superfície (PspA) bloqueia, através da inibição da via clássica, a deposição do complemento sobre a superfície bacteriana,

impedindo desta forma a captura pelos fagócitos. Pode também ligar-se à apolactoferrina hospedeira, a forma sem ferro da glicoproteína lactoferrina, bloqueando a ação bactericida da mesma^{5, 28, 35}.

6.4.1.4. LytB e LytC

São respetivamente uma glucosaminidase e uma lisozima, ambas envolvidas na adesão às células epiteliais da nasofaringe. A sua libertação está ainda implicada no processo de transformação, processo no qual a bactéria é capaz de incorporar no seu genoma DNA exógeno. Este fenómeno promove o intercâmbio genético o qual, em última instância, pode favorecer a sobrevivência bacteriana, por exemplo, pela incorporação de genes codificantes de resistência antibiótica²⁸.

6.5. Hialuronidase

A hialuronidase (Hyl) é uma enzima hidrolítica que degrada sobretudo o ácido hialurónico, mas também outros componentes intercelulares como a condroitina. Várias referências sugerem que esta enzima é um dos importantes fatores associados ao desenvolvimento da meningite pneumocócica pelo seu papel na disseminação e invasão bacteriana, uma vez que viola a barreira hematoencefálica³⁷. Outras ainda relacionam-na com a capacidade de invasão da corrente sanguínea, após colonização do TRS, ao fragilizar a barreira mucosa da nasofaringe³⁸. Assim, e apesar de não se lhe reconhecerem efeitos sobre o epitélio respiratório *per se*, um outro estudo demonstra que ao dismantelar enzimaticamente a matriz intercelular e ao hidrolisar o ácido hialurónico do forro epitelial, sem esquecer ainda a sua capacidade de retirar o muco que recobre o epitélio, esta aumenta a acessibilidade das células epiteliais à Ply. Concretizando, a ação concertada destes dois fatores de virulência potencia a disfunção ciliar e o dano epitelial, favorecedores da colonização e da invasão pneumocócica³³.

6.6. Adaptabilidade genética

Trata-se de uma bactéria naturalmente transmutável, pela sua capacidade de retirar do meio envolvente cadeias simples de DNA, incorporando este DNA exógeno no seu genoma, num processo chamado de recombinação transformacional¹².

A sua surpreendente capacidade de remodelar o seu genoma através da incorporação de DNA exógeno, quer de outros pneumococos, quer de *Streptococcus*

proximamente relacionados, pertencentes à sua microbiota, facilitou o aumento da sua resistência antibiótica e evasão à imunidade induzida pela vacina, o que tem demonstrado ser uma poderosa ferramenta de evolução e flexibilidade genômica. Além disso, acredita-se que a sua proeminência enquanto agente causador de doença se deve à combinação de elevadas taxas de mutação, à sua adaptabilidade genética e à alternância da sua relação com o hospedeiro entre comensal e patogênico².

6.7. Exoglicosidases

Este microrganismo é também capaz de manipular os resíduos de açúcar que constituem as proteínas glicoconjugadas dispostas sobre o epitélio, fazendo para isso uso de exoglicosidases, como a neuraminidase A (NanA), a β -galactosidase (BgaA) e a N- β -acetilglucosaminidase (StrH) que clivam, de forma sequencial, o ácido siálico, a galactose e a N-acetilglucosamina, respetivamente. Uma vez clivadas, as glicoproteínas perdem a sua função, expondo os recetores das células epiteliais ao pneumococo, facilitando desta forma a sua adesão^{31,39}.

6.8. Fímbrias ou Pilis

A presença de fímbrias ou pilis é observada em apenas 20 a 30% das estirpes de pneumococo, porém a sua presença é comum, sobretudo, entre patogénicos pertencentes a estirpes resistentes a antibióticos. Existem dois tipos principais, pilis-1 e pilis-2, sendo o pilis-1 o mais frequente²⁸. Os pilis de bactérias Gram-positivo desempenham papéis fundamentais na capacidade de a bactéria colonizar tecidos, inclusive em condições de stress mecânico, modelar a resposta imune hospedeira e interagir com células hospedeiras, podendo contribuir ainda para o desenvolvimento de doenças invasivas¹⁹.

As fímbrias (do tipo pilis-1) são compostas por três proteínas estruturais RrgA, RrgB, RrgC. Sendo a RrgA uma proteína essencial na adesão às células do epitélio respiratório²³.

Tabela I - Principais fatores de virulência pneumocócicos

Fator de virulência	Descrição	Função na patogênese
CPS	<ul style="list-style-type: none">• Mais de 90 serotipos distintos• Principal antígeno de superfície	<ul style="list-style-type: none">• Previne a captura no muco durante o processo de colonização• Inibe a opsonofagocitose ao impedir a interação do complemento e do fragmento Fc das imunoglobulinas ligadas a estruturas de superfície bacteriana mais profundas, como os receptores das células fagocitárias
Fragmentos de peptidoglicano, ácido lipoteicóico e lipopeptídeos	<ul style="list-style-type: none">• PAMPs	<ul style="list-style-type: none">• Promotores da inflamação
Ply	<ul style="list-style-type: none">• Toxina formadora de poros• Ligando do TLR4	<ul style="list-style-type: none">• Citotóxica e pró-apoptótica.• Ativa a via clássica do complemento• Altamente pró-inflamatória em concentrações sub-líticas
CbpA	<ul style="list-style-type: none">• CBP	<ul style="list-style-type: none">• Adere ao PIGR e ao LR através de domínios distintos• Facilita a aderência e a invasão do epitélio respiratório e da BHE• Limita a deposição do complemento na superfície pneumocócica
CbpE	<ul style="list-style-type: none">• CBP• Esterase da fosforilcolina	<ul style="list-style-type: none">• Diminui a atividade neutrofílica ao inativar o PAF hospedeiro
CbpG	<ul style="list-style-type: none">• CBP• Protease de serina	<ul style="list-style-type: none">• Importante para a colonização mucosa e desenvolvimento de DPI
CbpL	<ul style="list-style-type: none">• CBP	<ul style="list-style-type: none">• Promove a disseminação da nasofaringe para os pulmões ou sangue ao inibir a fagocitose
PspA	<ul style="list-style-type: none">• CBP	<ul style="list-style-type: none">• Limita a deposição do complemento na superfície pneumocócica• Protege dos efeitos bactericidas da apolactoferrina
LytA	<ul style="list-style-type: none">• CBP• Autolisina	<ul style="list-style-type: none">• Digere a parede celular• Liberta Ply, bem como outros fragmentos bacterianos pró-inflamatórios• Medeia o desprendimento da CPS durante o processo de invasão
Fosforilcolina no ácido teicóico	<ul style="list-style-type: none">• Ligando do PAFR	<ul style="list-style-type: none">• Liga-se ao PAFR na superfície das células epiteliais e endoteliais facilitando a aderência e invasão
NanA	<ul style="list-style-type: none">• Neuraminidase• LPXTG	<ul style="list-style-type: none">• Cliva o ácido siálico presente na mucina e nos glicoconjugados das células hospedeiras• Expõem receptores às adesinas• Facilita a invasão endotelial
BgaA	<ul style="list-style-type: none">• B-galactosidase• LPXTG	<ul style="list-style-type: none">• Cliva sequencialmente açúcares dos glicoconjugados do hospedeiro
StrH	<ul style="list-style-type: none">• B-N-acetilglucosaminidase• LPXTG	<ul style="list-style-type: none">• Cliva sequencialmente açúcares dos glicoconjugados do hospedeiro

Tabela I - Principais fatores de virulência pneumocócicos

Hyl	<ul style="list-style-type: none">• Hialuronidase• LPXTG	<ul style="list-style-type: none">• Degrada a matriz extracelular• Facilita a invasão tecidual
ZmpA	<ul style="list-style-type: none">• Metaloprotease de zinco• LPXTG	<ul style="list-style-type: none">• Cliva a IgA I humana• Promove a colonização nasofaríngea
PsrP	<ul style="list-style-type: none">• LPXTG	<ul style="list-style-type: none">• Adesina
RrgA, RrgB, RrgC	<ul style="list-style-type: none">• LPXTG• Componentes estruturais dos pilis do tipo I	<ul style="list-style-type: none">• Adesinas• Facilitam a colonização
PiaA/PiuA	<ul style="list-style-type: none">• <i>Pneumococcal iron acquisition and iron uptake A</i>	<ul style="list-style-type: none">• Transportadores implicados na aquisição de ferro para crescimento e virulência bacteriana
PepO	<ul style="list-style-type: none">• Endopeptidase	<ul style="list-style-type: none">• Facilita aderência e invasão
Eno	<ul style="list-style-type: none">• Enolase	<ul style="list-style-type: none">• Facilita a invasão dos tecidos
SpxB	<ul style="list-style-type: none">• Piruvato oxidase	<ul style="list-style-type: none">• Gera H₂O₂

7. Patogénese

7.1. Colonização da nasofaringe

A nasofaringe humana é o único reservatório natural conhecido do pneumococo, local onde permanece, e a partir do qual se pode distribuir tanto para outros hospedeiros, por intermédio de gotículas aerossolizadas ou objetos contaminados, como para diversos nichos num mesmo hospedeiro. A colonização da nasofaringe é pré-requisito para o desenvolvimento de infeções pneumocócicas³⁵, no entanto, a grande maioria dos pneumococos coloniza-a de forma assintomática, por um período de até 6 semanas, sendo depois disso eliminado sem qualquer sequela³¹.

Minutos após aceder à cavidade nasofaríngea o pneumococo é confrontado por um conjunto de defesas que procuram contrariar a sua fixação naquele local⁴¹. Contudo são também vários os fatores que capacitam a colonização e a persistência do pneumococo neste nicho numa duração e densidade suficiente, ou para que a transmissão ocorra ou para que se desenvolva um estado de doença, nomeadamente: a degradação do muco, a criação um primeiro contacto com o epitélio e recetores epiteliais, a interação com o sistema do complemento, a ligação de metais, a diminuição da atividade dos neutrófilos e ainda os efeitos pró-inflamatórios da toxina Ply³¹.

Para evitar o aprisionamento pelo muco e conseqüente eliminação pelo movimento mucociliar, o pneumococo emprega três estratégias principais: pelas suas características, a CPS impede o aprisionamento bacteriano, já as enzimas pneumocócicas NanA, BgaA e StrH degradam o muco inibindo, por conseguinte, a depuração mucociliar. Além disso, a LytA facilita a libertação de Ply, a qual danifica o epitélio e restringe o movimento mucociliar².

Em termos das demais estratégias de evasão à resposta imunitária, a CPS e várias outras proteínas pneumocócicas, incluindo a PspA e a CbpA, bloqueiam a deposição do complemento. A PspA liga-se à lactoferrina sequestrando o ferro e, bloqueando, desta forma, o efeito antimicrobiano da apolactoferrina. Já a ZmpA subverte a imunidade humoral da mucosa através da clivagem da IgA1. A enzima peptidoglicano-N-acetilglucosamina-desacetilase (PgdA) modifica o peptidoglicano permitindo a resistência aos efeitos líticos da lisozima, outra importante ferramenta de defesa hospedeira^{2,5}.

No que diz respeito ao estabelecimento de interações adesivas a CbpA liga-se ao plgR promovendo a adesão. A ChoP presente no ácido teicóico mimetiza o PAF hospedeiro permitindo a ligação ao seu recetor. No caso das estirpes piliadas estas expressam ainda uma subunidade aderente RrgA na sua extremidade².

Todas estas interações com a superfície epitelial são necessárias para uma colonização eficaz, no entanto, constituem também o passo inicial do processo de invasão.

7.2. Invasão pneumocócica

Muitos patógenos respiratórios causadores de infeções invasivas, nos quais se inclui o *S. pneumoniae*, desenvolveram estratégias, a partir das quais evoluem de um estado de colonização da mucosa respiratória para um estado de doença invasiva, no entanto, poucos são aqueles que tal como o pneumococo, se conseguem mover através das células, sem as danificar, recorrendo para isso a vacúolos⁴². A invasão está dependente da ativação das células hospedeiras por intermédio de componentes da parede celular pneumocócica ou da Ply, a qual resulta na expressão de defesas hospedeiras como o PAFR, o complemento e outros fatores³¹. O PAFR, importante recetor pneumocócico, presente em locais como os pulmões, o sangue e o LCR, está implicado neste processo de transporte bacteriano no interior das células. De forma resumida, a ligação da ChoP, a qual mimetiza o ligando natural deste recetor, ao PAFR, desencadeia, a formação de vacúolos, que permitem o movimento bacteriano através das barreiras epiteliais e endoteliais, mediando deste modo a invasão bacteriana, por exemplo, da corrente sanguínea^{42,43}. Assim, pelo fato do pneumococo ser um patogénico extracelular, a translocação intracelular constitui uma parte importante da sua patogénese³¹.

Tal estratégia é contrariada por mecanismos de resposta inata, como é o caso da CRP, a qual inibe competitivamente a formação do complexo ChoP/PAFR, ao ligar-se à fosforilcolina^{35,42}.

Um outro mecanismo através do qual o pneumococo é capaz de se fazer translocar através da barreira mucosa consiste na cooptação do plgR por intermédio do motivo YRNYPT da CbpA³¹. O *S. pneumoniae* transloca-se através das células epiteliais, ao sequestrar o plgR da face apical da célula hospedeira, acabando por ser transportado juntamente com o mesmo. *In vivo* esta interação manifesta-se pela diminuição da colonização nasofaríngea em murinos deficientes em plgR e pela capacidade reduzida de mutantes sem CbpA acederem à corrente sanguínea³¹.

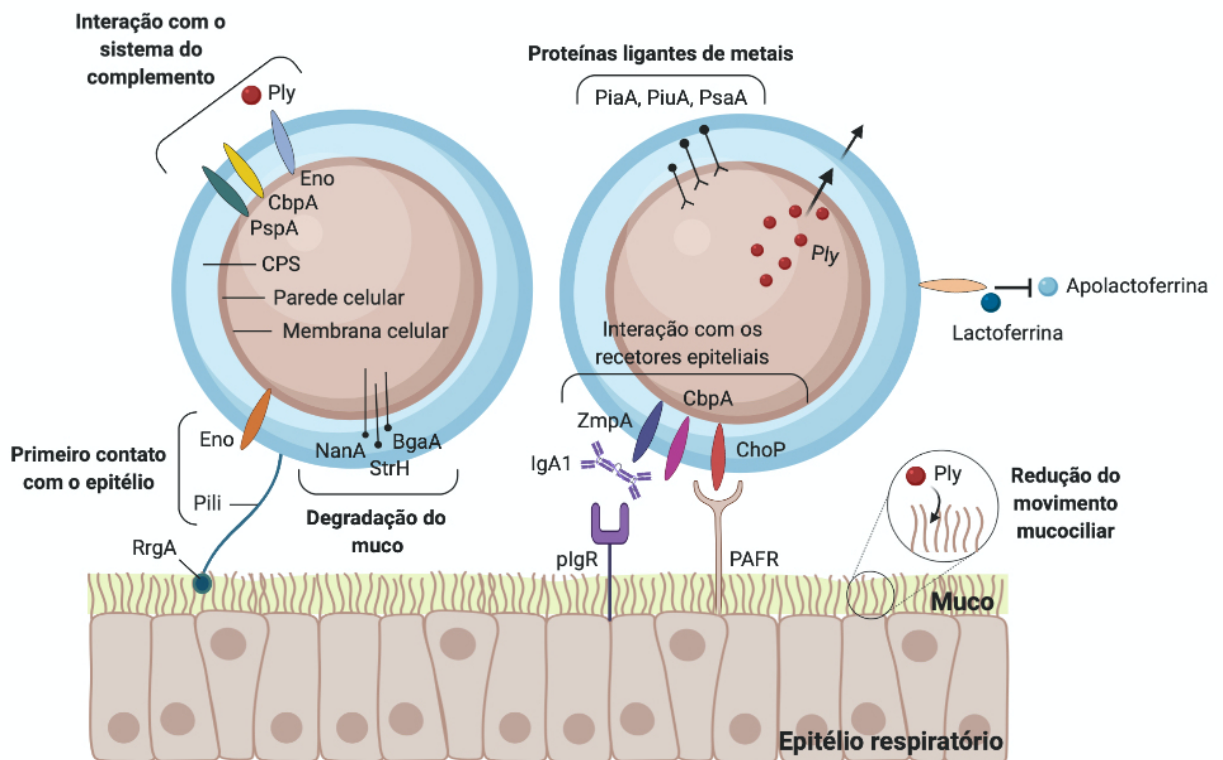


Figura 2 - Mecanismos moleculares de interação com a superfície hospedeira
(Adaptado de WEISER, Jeffrey N.; FERREIRA, Daniela M.; PATON, James C. (2018)²)

7.3. Variação de fase

Um outro notório método de evasão, crítico na patogénese deste microrganismo, refere-se à capacidade das suas colónias alternarem entre um fenótipo transparente e um opaco⁴⁴. Este fenómeno, espontâneo e reversível, experimentado pelo pneumococo, conhecido por variação de fase, desempenha uma importante função na modulação da adaptação pneumocócica às diversas respostas imunitárias ocorridas na nasofaringe e sangue, alternando a síntese das principais estruturas de superfície necessárias a tais ambientes hospedeiros seletivos^{2, 44, 45}. Esta variação fenotípica permite a seleção de variantes com aptidão ótima a ambientes hospedeiros distintos, nomeadamente, o fenótipo transparente

que está associado às formas de colonização nasofaríngea, enquanto que, em oposição, as formas opacas são, de forma geral, isoladas a partir de amostras sanguíneas^{2,44}.

No fenótipo transparente encontramos expressas quantidades acrescidas de ChoP e de CbpA, as quais funcionam como adesinas e contribuem para a capacidade de colonização bacteriana da nasofaringe, o fenótipo opaco exprime níveis aumentados de CPS e de PspA, importantes fatores de resistência à fagocitose e, conseqüente sobrevivência no sangue². Alguns estudos recentes referentes a esta matéria, apontam a variação da opacidade da colônia como sendo um fenómeno partilhado pela globalidade das estirpes pneumocócicas. No entanto, a comutação da produção capsular e da produção de pilis foi observada apenas num grupo restrito de serotipos⁴⁴. De referir ainda, que caso esta seja deveras uma propriedade restrita a determinados grupos, poderá inclusive ser relacionada ao sucesso epidemiológico de algumas estirpes em detrimento de outras.

7.4. Doenças pneumocócicas invasivas

A indução de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias, a sobre expressão de recetores alvo e os danos sobre o epitélio respiratório, facilitam a transmissão bacteriana, porém a probabilidade de penetração dos tecidos do hospedeiro e de progressão para doença invasiva vê-se também aumentada². Esta progressão é mais provável em crianças pequenas, idosos e pacientes com características e comorbilidades específicas de estilo de vida. Existem também marcadas diferenças na capacidade de estirpes específicas de *S. pneumoniae* causarem doenças invasivas, o que não é surpreendente dada a vasta heterogeneidade genética e fenotípica desta bactéria².

O termo doença pneumocócica invasiva (DPI) é usado para descrever as infeções pneumocócicas mais severas e invasivas tais como a meningite e bacteriemia, nas quais a bactéria pode ser isolada de locais por norma estéreis. É o isolamento de *S. pneumoniae* no sangue, líquido cefalorraquiano (LCR), líquido pleural ou peritoneal, ou de qualquer outro local habitualmente estéril que define a DPI⁴⁶.

7.4.1. Pneumonia

O desenvolvimento de pneumonia está dependente da capacidade do pneumococo em estabelecer uma infeção no TRI, apesar das defesas do hospedeiro que se dispõem por forma a eliminar as bactérias aspiradas. A adesão pneumocócica às células pulmonares eucarióticas é um processo sequencial, de escape aos mecanismos de *clearance*, aderência, endocitose e invasão, o qual num momento inicial implica a interação com os

glicoconjugados dispostos à superfície das células hospedeiras, seguida de uma interação mais estreita e segura com os recetores que promovem a sua internalização². Uma das primeiras barreiras encontradas, uma vez mais, refere-se ao aprisionamento pelo muco disposto sobre o epitélio respiratório e, composto por glicoproteínas de mucina, peptídeos antimicrobianos e imunoglobulinas, bem como à remoção mecânica pelo movimento mucociliar. O pneumococo supera estas barreiras através da carga negativa da sua CPS, pela degradação por intermédio da ZmpA e pela ação da Ply. Nesta fase inicial da infeção, a ação concertada da NanA com a BgaA e StrH, ao causar a degradação do muco e ao expôr recetores à ação de adesinas, mostra ser um passo essencial. Um dos recetores expostos ao acesso bacteriano trata-se do recetor N-acetilglucosamina- β -(1-4)-galactose⁵. A ação concertada destes efeitos reduz a viscosidade desta barreira e torna mais permissivo o acesso bacteriano ao epitélio^{2,31}. Uma segunda etapa de adaptação ao ambiente pulmonar depende de alterações da superfície bacteriana promotoras da aderência ao epitélio. O epitélio respiratório produz também potentes peptídeos antibacterianos que matam as bactérias com as quais contactam. Evidências recentes demonstram que o pneumococo neutraliza esta defesa, pela libertação da sua cápsula, num processo conduzido pela enzima LytA a qual confere resistência relativa à destruição pelos peptídeos antimicrobianos, impulsionando a perda de cápsula sem ocorrência de lise bacteriana. A perda da cápsula permite ainda uma estreita interação dos fatores de virulência bacterianos com as células hospedeiras, o que favorece um início de infeção bem-sucedido. À medida que a pneumonia progride, o epitélio respiratório é desnudado, expondo a matriz extracelular subjacente, ao acesso das proteínas da superfície bacteriana promotoras da adesão pneumocócica, que amplificam a interação com o hospedeiro, e fomentam uma adesão firme ao epitélio alveolar por meio de adesinas bacterianas como é o caso da fosforilcolina, da CbpA, da subunidade RrgA dos pilis e da enolase. Uma vez estabelecida a adesão, a libertação de quantidades abundantes de pneumolisina e de H₂O₂, tem uma ação direta e disruptiva sobre o epitélio, enquanto que a hialuronidase degrada a matriz extracelular. Tais ocorrências decompõem a barreira epitelial e facilitam a invasão. As interações fosforilcolina-PAFR e CbpA-PIGR para além de permitirem a endocitose do pneumococo facilitam ainda a sua invasão da corrente sanguínea. Assim sendo, a adesão firme da bactéria ao epitélio alveolar, a interação dos produtos secretados e dos componentes bacterianos ancorados na superfície celular com o epitélio alveolar, a sua subsequente replicação e o início da resposta inflamatória despoletada pelos mecanismos de defesa do hospedeiro aos danos, mediam o estado inflamatório e citotóxico observado nos pulmões no decorrer desta patologia^{2, 31,35}.

7.4.2. Meningite pneumocócica

A meningite pneumocócica é, sem dúvida, a complicação mais devastadora da DPI. Algumas estimativas sugerem que cerca de um terço dos indivíduos afetados morre e que metade dos sobreviventes padece de sequelas neurológicas permanentes³¹.

O desenvolvimento de meningite envolve a violação da BHE, a qual uma vez superada permite o acesso ao LCR, local onde este pode multiplicar-se de forma indiscriminada, já que não encontra, neste compartimento, qualquer mecanismo de defesa inata que contraponha a sua multiplicação, sendo por isso a meningite, muitas vezes, uma condição fulminante⁴⁷.

No caso particular do pneumococo, esta ocorre, por intermédio de 3 mecanismos principais: pela ligação da CbpA ao recetor da laminina do endotélio da barreira hematoencefálica, através do motivo NEEK exposto à sua superfície e diferente do usado para aderir à nasofaringe; bem como pelas interações CbpA-PIGR e ChoP-PAFR, facilitando este último a superação da BHE ao subverter o recetor à endocitose do pneumococo². Modelos murinos deficientes em CpbA ou PAFR são incapazes de desenvolver meningite, o que evidencia a relevância de tais mecanismos na invasão das meninges³⁵.

Os danos neuronais característicos desta doença são, em parte, mediados pela resposta das defesas hospedeiras aos produtos bacterianos, nomeadamente os componentes da parede celular, libertados em resultado da lise bacteriana, são detetados pelas células hospedeiras e conduzem a um influxo de leucócitos motivador de uma extensa inflamação. Esta exuberante resposta hospedeira desencadeia a apoptose caspase dependente e independente dos neurónios. A outra metade dos danos neuronais é devida à libertação de abundantes quantidades de toxinas, Ply e H₂O₂, as quais lesionam as células diretamente e exponenciam ainda mais o estado inflamatório^{31, 47}.

Também o uso de antibióticos promotores da lise bacteriana reforça este estado inflamatório do LCR, sendo por esta razão, aconselhado o uso simultâneo de antibióticos e anti-inflamatórios numa abordagem ao tratamento da meningite³⁵.

8. Defesas Hospedeiras

Fundamentais para o processo de defesa contra o desenvolvimento da doença pneumocócica são a interação entre os agentes imunitários inatos, incluindo o complemento, os anticorpos antibacterianos, e a atividade dos fagócitos. Cada um destes é necessário e nenhum é, por si só, suficiente para eliminar este agente invasivo.

Quanto às células epiteliais respiratórias estas não só constituem a barreira

mucociliar responsável pela contínua remoção de potenciais patógenos das vias aéreas, expulsando-os por meio de mecanismos como a tosse ou a deglutição, como ainda respondem ativamente à presença destes, pelo recrutamento de outras células produtoras de citocinas ou quimiocinas ou ainda pela secreção de peptídeos antimicrobianos como as defensinas, a apolactoferrina humana e a lisozima^{4, 28}. Relativamente ao sistema do complemento, o pneumococo ativa as suas três vias principais: clássica, alternativa e das lectinas⁴⁸.

Os recetores de reconhecimento de padrão (PRRs) são também componentes-chave do sistema imune inato, ao reconhecerem motivos conservados expressos pelos agentes patogénicos, designados por padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Vários destes recetores contribuem para o início de uma resposta imunitária inata eficaz. A CRP, uma proteína de fase aguda, funciona como PRRs para *S. pneumoniae*, ao ligar-se à ChoP, ativando o complemento e opsonizando a bactéria. Também a ativação dos macrófagos face à invasão pneumocócica depende do reconhecimento por dois tipos principais de PRRs: os recetores *Toll-like* (TLRs), presentes nas células epiteliais e macrófagos alveolares, e os recetores *NOD-like* (NLRs)⁴. Particularizando, o TLR2 desempenha um importante papel no reconhecimento de patógenos, sobretudo Gram-positivo, pela deteção de componentes da parede celular, como o peptidoglicano, o ácido lipoteicóico e ainda os lipopeptídeos, neste caso em particular pneumocócicos. O TLR4 reconhece os efeitos pró-inflamatórios da Ply e o TLR9, por sua vez, deteta o DNA bacteriano. Por outro lado o NOD-2 reconhece o dipeptídeo de muramilo, um fragmento do peptidoglicano^{4, 28, 35}. Em doses infecciosas baixas, as células epiteliais e os macrófagos alveolares, representantes da primeira linha de defesa fagocítica pulmonar, são capazes de eliminar o pneumococo sem que para isso haja recrutamento de neutrófilos, em parte através da libertação de mediadores inflamatórios como a interleucina 1 (IL 1), o fator de necrose tumoral α (TNF α), a interleucina 18 (IL 18), produtos do complemento e os peptídeos antimicrobianos. Já no caso de uma dose infecciosa elevada, pela capacidade fagocítica limitada dos macrófagos, para além da libertação destes mediadores ocorre ainda o recrutamento de células polimorfonucleares. Embora necessária para a eliminação da infeção, a inflamação intensa induzida pelos neutrófilos pode contribuir para a ocorrência de danos, uma vez que, a sobreexpressão do PAFR provocada pela libertação de citocinas amplifica a invasão mediada pela interação ChoP-PAFR^{2, 4, 35}.

9. Fatores de risco

A incidência de doença pneumocócica varia sobretudo com a idade, historial genético, estatuto socioeconómico, estado imunitário e localização geográfica. A capacidade de resolução da infeção pneumocócica é dependente do estado do sistema imunológico do hospedeiro, pois sendo um agente oportunista, o pneumococo retira vantagem de hospedeiros com sistemas imunitários subdesenvolvidos, enfraquecidos ou deteriorados. O sucesso da eliminação de agentes patogénicos está também intimamente ligado à idade, uma vez, que crianças com menos de 5 anos têm maior probabilidade de contrair a doença pela sua imaturidade imunológica e ausência de imunidade adquirida, enquanto que os idosos experienciam fenómenos de imunossenescência²⁸.

Reconhecem-se, no entanto, outros fatores como sendo de risco, tais como, a aquisição recente de uma estirpe de elevada virulência, a asplenia, o alcoolismo, a existência de doenças subjacentes como a diabetes *mellitus*, a doença pulmonar ou hepática grave, a co-infeção pelo vírus Influenza, as deficiências imunitárias (sistema do complemento, por exemplo) e ainda a coinfeção por VIH. Também a aglomeração populacional, a pobreza, o tabagismo, a exposição recente a antibióticos são fatores de risco adicionais⁴.

10. Tratamento

É consensual a nível mundial que *S. pneumoniae* é a mais frequente causa de pneumonia adquirida na comunidade, no entanto, por não ser fácil distinguir a pneumonia causada por este da causada por outro qualquer agente etiológico, o tratamento da PAC deve ser eficaz contra o pneumococo, tendo em conta também a resistência antimicrobiana local conhecida⁴⁹.

Por ser uma das mais importantes manifestações da doença pneumocócica, pela sua frequência e taxas de mortalidade e morbidade associadas, pela crescente resistência antimicrobiana e por serem várias as opções terapêuticas válidas para o tratamento da pneumonia pneumocócica, várias sociedades científicas compuseram orientações que guiam o seu tratamento. A nível nacional destacam-se as recomendações da Direção-Geral da Saúde (DGS) e da Sociedade Portuguesa de Pneumologia (SPP), já a nível Europeu as da *European Respiratory Society/ European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ERS/ESCMID)*^{49, 50, 51}.

Tabela 2- Resumo das orientações para o tratamento empírico da PAC da Direção- Geral da Saúde (Orientação n.º 045/2011) e da European Respiratory Society/ European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2011) em regime de ambulatório.

DGS ⁵⁰	ERS/ESCMID ⁴⁹
<p>Indivíduos previamente saudáveis e sem antibioterapia nos três meses anteriores:</p> <p>(i) como primeira linha: Amoxicilina, 500mg, 8/8 horas;</p> <p>(ii) em alternativa: se houver intolerância à amoxicilina e/ou epidemia por <i>Mycoplasma pneumoniae</i>:</p> <p style="padding-left: 40px;">Azitromicina, 500mg por dia</p> <p>ou Claritromicina, 500mg de 12/12 horas</p> <p>ou Doxiciclina, 200mg dose inicial, depois, 100mg de 12/12 horas.</p>	<p>Amoxicillin or tetracycline should be used as antibiotic of first choice based on least chance of harm and wide experience in clinical practice. In case of hypersensitivity a tetracycline or macrolide such as azithromycin, clarithromycin, erythromycin or roxithromycin is a good alternative in countries with low pneumococcal macrolide resistance. National/local resistance rates should be considered when choosing a particular antibiotic. When there are clinically relevant bacterial resistance rates against all first-choice agents, treatment with levofloxacin or moxifloxacin may be considered.</p>
<p>Indivíduos com comorbilidades^{a)} ou antibioterapia nos três meses anteriores:</p> <p>(i) como primeira linha: Amoxicilina, 1g, 8/8 horas associada a um dos três seguintes:</p> <p style="padding-left: 40px;">Azitromicina 500mg por dia</p> <p>ou Claritromicina 500mg 12/12 horas</p> <p>ou Doxiciclina 200mg dose inicial, depois 100mg 12/12 horas.</p> <p>(ii) Se existir intolerância aos agentes de 1ª linha:</p> <p style="padding-left: 40px;">Fluoroquinolonas (levofloxacina, 500mg, 24/24 horas ou moxifloxacina, 400mg, 24/24 horas)</p>	

a) São consideradas comorbilidades: DPOC, Diabetes *mellitus*, doença cardíaca, hepática ou renal crónica, neoplasia, alcoolismo, esplenectomia.

Para o tratamento em ambulatório, as orientações da DGS advogam o uso de amoxicilina como primeira linha de tratamento e como alternativa o uso de um macrólido (azitromicina ou claritromicina) ou de doxiciclina, isto no caso de doentes previamente saudáveis e sem antibioterapia nos três meses anteriores. Já para doentes com comorbilidades ou antibioterapia prévia nos últimos três meses, a presente norma recomenda também o uso amoxicilina, mas associada a um macrólido ou a doxiciclina, sendo

a alternativa uma fluoroquinolona. A presente norma desencoraja ainda a adição de ácido clavulânico à amoxicilina pois não se verifica qualquer benefício no uso desta combinação uma vez que a mesma se justifica em situações nas quais o mecanismo de resistência a este antibiótico isolado se deva à produção de β -lactamases pelas bactérias, não sendo o que acontece no caso do *S. pneumoniae*⁵⁰. Assim, para além de não acrescentar eficácia pode ainda potenciar efeitos adversos e desequilibrar a flora microbiana^{52, 53}.

Também a ERS/ESCMID privilegia o uso de amoxicilina ou de uma tetraciclina como agentes preferenciais para o tratamento de doentes em ambulatório, com base no seu custo, menor probabilidade de causarem danos e na vasta experiência de utilização na prática clínica. Em alternativa à amoxicilina sugere-se, que nos países com baixa resistência pneumocócica aos macrólidos, se use um macrólido ou uma tetraciclina. Caso se verifiquem taxas de resistência significativas para os agentes de primeira linha, o tratamento com levofloxacina ou moxifloxacina deve ser considerado⁴⁹.

Em suma, a maioria dos pacientes com PAC são tratados empiricamente com um regime que se pensa ter atividade contra *S. pneumoniae*, no entanto, a escolha da terapêutica inicial é complicada dado o aumento da sua resistência antibiótica. Assim, a melhor forma de prevenir a infeção pneumocócica será através da vacinação e estabilização de condições concomitantes que predisponham para a infeção.

II. Resistência antibiótica

A resistência microbiana é inequivocamente um problema de saúde pública a nível mundial seja pelas limitações que causa às opções de tratamento de certas infeções, pelo aumento dos custos de tratamento ou pela extensão do período de internamento hospitalar. Tendo em conta a sua importância, várias organizações nacionais e internacionais, reconhecem como relevante o estudo da emergência da resistência bem como o desenvolvimento de sistemas de vigilância e controlo destas resistências⁵⁴.

No caso particular do pneumococo este é por si só um problema de saúde pública, com cerca de 15 a 30% dos isolados em todo o mundo a serem classificados como multirresistentes, isto é, resistentes a três ou mais classes de antibióticos⁵⁵.

Desde 1980 que a resistência pneumocócica se encontra disseminada por todo o globo, com taxas crescentes de resistência generalizadas e com alguns países da América Latina e Ásia a reportarem, hoje em dia, taxas de resistência próximas dos 60 e 80%, respetivamente⁵⁶.

11.1. β -lactâmicos

As primeiras estirpes pneumocócicas resistentes à penicilina foram documentadas em 1965, tendo desde aí a sua disseminação sido quase global. Dos mais de 90 serotipos pneumocócicos conhecidos, apenas um pequeno número tem sido responsável pela propagação da resistência à penicilina por todo o mundo, de entre os quais se destacam, por exemplo, os serotipos 23F, 9V e 6B^{52,56}.

A penicilina inibe a multiplicação de *S. pneumoniae* ao ligar-se a uma ou mais enzimas necessárias à síntese do peptidoglicano, impedindo a sua ação e conduzindo à lise da célula bacteriana. Em oposição ao que acontece com outras bactérias Gram-positivo, o pneumococo não produz β -lactamases. Antes, o mecanismo pelo qual a resistência aos β -lactâmicos surge neste microrganismo, envolve a alteração das enzimas envolvidas na síntese de peptidoglicano também chamadas de proteínas de ligação à penicilina (PBPs), presentes na parede celular bacteriana, reduzindo a sua afinidade para esta classe de antimicrobianos. Os diferentes β -lactâmicos partilham uma estrutura química que inclui um anel comum, que por ser na verdade um análogo estrutural do substrato das PBPs impede que estas concretizem a ligação cruzada das cadeiras que compõem o peptidoglicano. Foram identificadas para o *S. pneumoniae* seis PBP distintas, três enzimas de classe A (PBP1a, PBP1b e PBP2a); duas de classe B (PBP2b e PBP2x); e uma D-alanil-D-alanina carboxipeptidase (PBP3). As alterações nas PBPs responsáveis pela resistência deste microrganismo aos β -lactâmicos resultam de um processo de transformação que ocorre pela transferência de genes de estirpes resistentes à penicilina para estirpes anteriormente sensíveis à penicilina que coexistem na proximidade. O grau de resistência de *S. pneumoniae* relaciona-se sobretudo com o número de PBPs afetadas e com o grau de afinidade entre uma PBP e o β -lactâmico respetivo. É ainda importante notar que um aumento dos níveis de resistência aos β -lactâmicos ainda que discreto, se associa à resistência a outros antibióticos amplamente utilizados como os macrólidos, as tetraciclina e até o trimetoprim-sulfametoxazol^{11,26,57,58}. Segundo dados disponibilizados pelo *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS), no ano de 2018, foram reportadas estirpes invasivas de *S. pneumoniae* cuja percentagem de não suscetibilidade à penicilina variava entre 0,1% na (Bélgica) e 40% (Roménia). No caso particular de Portugal, a percentagem de não suscetibilidade à penicilina, neste mesmo ano, foi de 13,4%, um valor mais elevado que o do mesmo período de 2013 que apontava para os 7,6%⁵⁹.

11.2. Macrólidos

Quanto à resistência aos macrólidos são dois os principais mecanismos de resistência, pelos quais o *S. pneumoniae* evita a ação desta classe de antibióticos, expressos em dois fenótipos distintos, o fenótipo MLS_B e o fenótipo M⁶⁰. Nas estirpes fenotípicas MLS_B a resistência é codificada pela aquisição do gene *erythromycin ribossomal methylation (erm(B))* codificante de uma alteração pós-transcricional, mediada por uma metilase, da porção 23S da subunidade 50S do RNA ribossomal, que impede a ligação do macrólido ao ribossoma e a sua consequente ação. No caso do fenótipo M a resistência ocorre pela aquisição do gene *macrolide efflux system gene (mef(A))* codificante de bombas de efluxo que levam à diminuição da quantidade de macrólido intracelular para concentrações sub-inibitórias impedindo a sua ação bacteriostática⁶⁰. Na Europa a resistência aos macrólidos é mediada em especial por mutações do gene *erm(B)* com consequente impedimento da ligação do macrólido ao seu alvo pela alteração da subunidade 50S, o que resulta numa elevada resistência⁶¹. De forma oposta, do mecanismo de efluxo codificado pelo gene *mef(A)* advém baixa resistência⁶². Em 2018, as percentagens nacionais de isolados resistentes aos macrólidos, de 29 países europeus, variaram entre 2,5% (Dinamarca) e 32,3% (Roménia). Já em Portugal o valor situou-se nos 15,5%. No caso da resistência combinada tanto à penicilina como aos macrólidos, esta foi mais incomum, com o seu valor na maioria dos países a não ultrapassar os 10%⁶³.

12. Vacinação

O *S. pneumoniae* apresenta uma elevada diversidade genética, com algumas estirpes particularmente bem sucedidas enquanto agentes patogénicos. Uma importante fonte de variabilidade entre estirpes é explicada pela estrutura da CPS, determinante de virulência principal e estrutura dominante deste. Hoje em dia, conhecem-se mais de 90 tipos de polissacarídeos capsulares estruturalmente distintos, no entanto, apenas um conjunto relativamente pequeno destes está envolvido nos fenómenos de transmissão e de doença. Assim, uma vez que as vacinas licenciadas até ao momento se baseiam na estrutura da CPS, também a proteção por estas fornecida visa apenas um número limitado de serotipos⁶⁴.

São dois os tipos de vacinas antipneumocócicas disponíveis: as vacinas polisacarídicas, contendo apenas polissacarídeos capsulares, e as vacinas polisacarídicas conjugadas, as quais para além dos polissacarídeos capsulares têm associada uma proteína transportadora adjuvante⁶⁵.

Em Portugal, as vacinas antipneumocócicas, atualmente, aprovadas e utilizadas para

prevenção da doença pneumocócica são: a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente (VPP23), contendo 23 serotipos, (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F e 33F) e a vacina pneumocócica conjugada 13-valente (VPC13), com 13 serotipos (1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F e 23F), sendo esta última mais imunogénica⁶⁵.

A VPP23 é aconselhada na imunização de indivíduos com idade igual ou superior a 65 anos, bem como, de indivíduos com idade compreendida entre os 2 e os 64 anos portadores de fatores de risco para a infeção pneumocócica. Embora o maior número de serotipos incluídos nesta formulação, esta não é imunogénica em crianças com idade inferior a 2 anos, um importante grupo de risco para a infeção pneumocócica^{66: 67}.

Por outro lado, desde a sua introdução, em 2000 nos EUA, a vacina pneumocócica conjugada (VPC) tem sido muito eficaz na prevenção de doenças pneumocócicas invasivas, em crianças menores de 2 anos, assim como tem diminuído o *carriage* e a transmissão entre crianças imunizadas, protegendo também as crianças não imunizadas assim como os adultos, pela imunidade de grupo⁶⁸.

No entanto, é importante notar que a proteção oferecida pela vacinação antipneumocócica é limitada uma vez que as formulações atuais contêm apenas 10, 13 ou 23 dos mais de 90 serotipos conhecidos de CPS. Outra questão é a da crescente prevalência de serotipos não vacinais implicados na transmissão e doença, em consequência da pressão imunitária causada pelo uso generalizado da VPC. Esforços atuais com vista a melhorar a prevenção através da vacinação, o aumento do número de serotipos abrangidos pela vacina ou a adição de proteínas pneumocócicas conservadas que induzam imunidade independente do serotipo podem ser algumas das medidas a tomar para contrariar este aumento².

Tanto a SPP como a DGS são consensuais ao reconhecer o papel que a vacinação antipneumocócica desempenha como medida essencial na prevenção do conjunto de patologias provocadas por este agente etiológico, assim, ambas as entidades recomendam a utilização da VPP23 e da VPC13 como medida preventiva^{65: 69}.

13. Conclusão e Perspetivas futuras

O *S. pneumoniae* tem provado ser um inimigo para a saúde humana bastante resiliente na medida em que tem vindo a ultrapassar as pressões seletivas impostas pelo uso de múltiplas classes de antibióticos, assim como tem mostrado adaptar-se com facilidade à pressão imunitária resultante da imunização obtida através da vacinação. Ao mesmo tempo, a sua colonização assintomática e a extensa diversidade de serotipos permitem a sua

persistência na população, bem como complica o desenvolvimento de vacinas eficazes. Também a sua capacidade de invadir e causar patologias em sistemas de órgãos tão variados, ao mesmo tempo, que evita eficazmente a eliminação pelo sistema imunitário, fazem deste microrganismo um agente patogénico especialmente competente. Estes fatos demonstram ainda que a comunidade científica não pode ser complacente e que são necessárias novas e mais aprofundadas investigações, sobretudo de possíveis candidatos para utilização enquanto antígenos vacinais promissores, de modo a combatermos a doença pneumocócica.

Neste trabalho focaram-se as etapas chave da patogénese do pneumococo tais como, a sua colonização e invasão, assim como se fez referência à abundância de fatores de virulência que medeiam a evasão e subversão imunitária característica deste microrganismo, e que esclarecem o seu sucesso enquanto principal causa de pneumonia adquirida na comunidade e ainda como agente etiológico responsável por milhões de mortes, por ano, em todo o mundo. Procurou-se também esclarecer a interação entre estes fatores de virulência bacterianos e o hospedeiro, no contexto de duas doenças invasivas principais, a pneumonia e a meningite pneumocócicas. Abordou-se, ainda, de forma breve, o modo como as defesas hospedeiras reagem à sua presença, e ainda o fato de as pessoas com sistemas imunitários fragilizados serem particularmente suscetíveis à infecção causada por este microrganismo.

No que diz respeito aos antibióticos utilizados, hoje em dia, para reduzir a colonização pneumocócica, estes veem a sua eficácia comprometida dado que a crescente incidência da resistência pneumocócica prossegue por todo o mundo, tornando mesmo alguns dos antibióticos de largo espectro quase obsoletos⁷⁰. Desta forma, o tratamento e prevenção das doenças pneumocócicas representam igualmente uma grande preocupação no campo clínico pelas altas taxas de mortalidade, pelos custos que têm a si associados e pela baixa eficácia das vacinas disponíveis sobretudo devido ao fenómeno da substituição de serotipos.

No futuro perspectiva-se o desenvolvimento da terapêutica inalatória enquanto forma de veicular antibióticos de forma mais direcionada, de melhorar a depuração mucociliar e de estimular o sistema imunitário pela inalação de citocinas⁷¹. Por outro lado, e tendo em vista a diminuição da resistência antibiótica espera-se que as estirpes pneumocócicas sejam estudadas utilizando técnicas de sequenciação, bem como outras tecnologias de alto rendimento, para assim detetar genes de resistência e caracterizar minuciosamente os serotipos. Alguns métodos alternativos de vacinação têm sido propostos e estão a ser desenvolvidos. Por exemplo, nos últimos anos, alguns grupos de investigação propuseram a

criação de vacinas independentes de serotipo. Estas incluem proteínas, uma combinação de proteínas e polissacarídeos, ou ainda células inteiras⁷¹⁻⁷⁴. Estas conteriam então sobretudo proteínas de superfície altamente conservadas no pneumococo^{76; 77}. Por exemplo, a PspA e a Ply inativada foram já inclusive testadas em ensaios clínicos de fase I enquanto antígenos proteicos, tendo ambas demonstrado segurança⁷⁷, embora a Ply inativada tenha sido considerada mais imunogénica e eficaz em gerar uma resposta imunitária protetora⁷⁸.

Outras considerações deverão ser feitas em relação às vacinas independentes de serotipo, em particular se serão imunogénicas em todas as faixas etárias, se provocarão ou não uma forte resposta imunitária e se serão capazes de assegurar a indução um estado pró-inflamatório sem que haja uma ativação excessiva do sistema imunitário.

Em suma, assistiu-se nas últimas décadas a uma evolução naquela que é a nossa compreensão das doenças pneumocócicas. No entanto, estas constituem ainda um fardo significativo para os cuidados de saúde. Assistiu-se inclusivamente a uma diminuição da prevalência das doenças pneumocócicas após a implementação das vacinas antipneumocócicas, contudo, com o passar do tempo, devido aos fenómenos de substituição de serotipo, disseminação da resistência antibiótica e mudanças imunitárias decorrentes da idade, os tratamentos e vacinas em vigor têm vindo a mostrar-se insuficientes. Deste modo, esforços para melhorar a vacinação e os tratamentos devem prosseguir para aliviar os efeitos nocivos causados pelo pneumococo.

14. Referências Bibliográficas

1. VASCONCELOS, Alexandra; VIEIRA, António; CORDEIRO, Carlos; SUBTIL, João, BENTO, Maria; BORREGO, Luís; MARÇAL, Nelson; LUZ, Sofia - **Infeções Respiratórias Recorrentes**. [S.l.] : Circulo Médico, (2012).
2. WEISER, Jeffrey N.; FERREIRA, Daniela M.; PATON, James C. - **Streptococcus pneumoniae: Transmission, colonization and invasion**. Nature Reviews Microbiology. 16:6 (2018) 355–367.
3. BOGAERT, D.; GROOT, R. DE; HERMANS, P. W. M. - **Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease**. The Lancet. Infectious diseases. United States. ISSN 1473-3099 (Print). 4:3 (2004) 144–154.
4. POLL, Tom VAN DER; OPAL, Steven M. - **Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia**. The Lancet. ISSN 01406736. 374:9700 (2009) 1543–1556.
5. KADIOGLU, Aras *et al.* - **The role of Streptococcus pneumoniae virulence factors in host respiratory colonization and disease**. Nature reviews. Microbiology. England. ISSN 1740-1534 (Electronic)..
6. CENTERS FOR DISEASE CONTROL PREVENTION - **Pneumococcal Disease**, atual. (2015) [Consult. 20 mai. 2020]. Disponível em <https://www.cdc.gov/pneumococcal/index.html>
7. Prevention of pneumococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). - **MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report**. Recommendations and reports. United States. (1997) 1–24.
8. BLUMENTAL, Sophie *et al.* - **Virulence Factors of Streptococcus pneumoniae. Comparison between African and French Invasive Isolates and Implication for Future Vaccines**. PloS one. ISSN 1932-6203 (Electronic). 10:7 (2015).
9. FELDMAN, Charles; ANDERSON, Ronald - **Epidemiology, virulence factors and management of the pneumococcus**. F1000Research. ISSN 2046-1402. (2016).
10. LANGELIER, Chaz - **A molecular warning system for invasive pneumococcus**. Science Translational Medicine. 10:446 (2018).
11. OLIGBU, Godwin; FRY, Norman K.; LADHANI, Shamez N. - **The Pneumococcus**

- and Its Critical Role in Public Health.** *Methods in Molecular Biology.* (2019) 205–213. d
12. JAMES CHERRY GAIL DEMMLER-HARRISON SHELDON KAPLAN WILLIAM STEINBACH PETER HOTEZ - **Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases** . Eighth ed. [S.l.] : Elsevier Inc., 2017 Disponível em <https://www-clinicalkey-com.db.rsu.lv/#!/content/book/3-s2.0-B9780323376921000551?indexOverride=GLOBAL>>. ISBN 9780323376921.
 13. LANGELIER, Chaz - **Raff-ining our understanding of pneumococcal invasion.** *Science Translational Medicine.* 11:478 (2019).
 14. LEE GOLDMAN, Andrew I. Schafer - **Goldman-Cecil Medicine, 26th Edition.** Twenty-Six ed. [S.l.] : Elsevier Inc., 2020 Disponível em <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-53266-2.00273-3>.
 15. OBARO, Steven; ADEGBOLA, Richard - **The pneumococcus: carriage, disease and conjugate vaccines.** *Journal of medical microbiology.* England. ISSN 0022-2615 (Print). 51:2 (2002) 98–104.
 16. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - **Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Streptococcus pneumoniae** , (2017). [Consult. 3 mai. 2020]. Disponível em <https://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/spneu16.html>
 17. RYAN GIERKE, MPH; LESLEY MCGEE, PHD; BERNARD BEALL, PHD; TAMARA PILISHIVILI, MPH - **Manual for the Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases, Chapter 11:Pneumococcal** , (2017) [Consult. 3 mai. 2020]. Disponível em <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt11-pneumo.html>
 18. (ECDC), European Centre For Disease Prevention And Control - **Active Bacterial Core Surveillance (ABCs): Emerging Infections Program Network**, (2017).
 19. FELDMAN, Charles; ANDERSON, Ronald - **Recent advances in the epidemiology and prevention of Streptococcus pneumoniae infections.** *F1000Research.* ISSN 2046-1402. 9: (2020)
 20. DING, Tao; SCHLOSS, Patrick D. - **Dynamics and associations of microbial community types across the human body.** *Nature.* ISSN 14764687. 509:7500 (2014) 357–360.
 21. VAYSSIER-TAUSSAT, Muriel *et al.* - **Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome new concepts in the light of meta-omics.** *Frontiers in Cellular and*

Infection Microbiology. ISSN 22352988. 5:MAR (2014).

22. LIFE, Catalogue Of - **Streptococcus pneumoniae (Klein, 1884) Chester, 1901**, (2019) [Consult. 23 fev. 2020]. Disponível em <https://www.gbif.org/pt/species/3227089>>.
23. KELLOGG, J. A. *et al.* - **Identification of Streptococcus pneumoniae revisited**. Journal of clinical microbiology. ISSN 0095-1137. 39:9 (2001) 3373–3375.
24. JANOFF, Edward N.; MUSER, Daniel M. - **Streptococcus pneumoniae em Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**. Eighth ed. Philadelphia: [s.n.] Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455748013002010>.
25. PATRICK R. MURRAY, KEN S. ROSENTHAL, Michael A. Pfaller. - **Medical Microbiology**. Ninth ed. [S.l.] : Elsevier Inc., 2020 Disponível em <https://www.clinicalkey.com/#!/content/book/3-s2.0-B9780323673228000191>.
26. JOHN E. BENNETT, MD, RAPHAEL DOLIN, MD AND MARTIN J. BLASER, MD - **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 9th Edition** Ninth Edit ed. [S.l.] : Elsevier Inc., (2019) Disponível em <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48255-4.00199-5>.
27. BRUYN, G. A. W.; ZEGERS, B. J. M.; FURTH, R. VAN - **Mechanisms of host defense against infection with Streptococcus pneumoniae**. Clinical Infectious Diseases (1992) 251–262.
28. BROOKS, Laida R. K.; MIAS, George I. - **Streptococcus pneumoniae's virulence and host immunity: Aging, diagnostics, and prevention**. Frontiers in Immunology. IS. 9:JUN (2018).
29. OPPENHEIM, Joost J.; DEYANG - **Current Opinion in Immunology**. (2005).
30. MITCHELL, A. M.; MITCHELL, T. J. - **Streptococcus pneumoniae: Virulence factors and variation**. Clinical Microbiology and Infection. 16:5 (2010) 411–418.
31. LOUGHRAN, Allister J.; ORIHUELA, Carlos J.; TUOMANEN, Elaine I. - **Streptococcus pneumoniae: Invasion and Inflammation**. Microbiology Spectrum. 7:2 (2019) 3–4.
32. KILIAN, M.; MESTECKY, J.; RUSSELL, M. W. - **Defense mechanisms involving Fc-dependent functions of immunoglobulin A and their subversion by bacterial immunoglobulin A proteases**. Microbiological Reviews. 52:2 (1988).

33. FELDMAN, C. *et al.* - **Hyaluronidase augments pneumolysin-mediated injury to human ciliated epithelium.** *International Journal of Infectious Diseases.* 11:1 (2007) 11–15.
34. RAI, Prashant *et al.* - **Pneumococcal Pneumolysin Induces DNA Damage and Cell Cycle Arrest.** *Scientific reports* (2016)
35. HENRIQUES-NORMARK, Birgitta; TUOMANEN, Elaine I. - **The Pneumococcus: Epidemiology, Microbiology, and Pathogenesis.** *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* (2013).
36. FELDMAN, Charles; ANDERSON, Ronald - **Pneumococcal virulence factors in community-acquired pneumonia.** *Current Opinion in Pulmonary Medicine.* 26:3 (2020).
37. KOSTYUKOVA, N. N. *et al.* - **A study of pathogenic factors of Streptococcus pneumoniae strains causing meningitis.** *FEMS immunology and medical microbiology.* England. (Print). (1995) 133–137.
38. ZWIJNENBURG, P. J. *et al.* - **Experimental pneumococcal meningitis in mice: a model of intranasal infection.** *The Journal of Infectious Diseases.* United States. (2001) 1143–1146.
39. KING, Samantha J.; HIPPE, Karen R.; WEISER, Jeffrey N. - **Deglycosylation of human glycoconjugates by the sequential activities of exoglycosidases expressed by Streptococcus pneumoniae.** *Molecular Microbiology.* (2006) 961–974.
40. IOVINO, Federico *et al.* - **The impact of the ancillary pilus-I protein RrgA of Streptococcus pneumoniae on colonization and disease.** *Molecular Microbiology.* (2020) 650–658.
41. TUNKEL, A. R.; SCHELD, W. M. - **Pathogenesis and pathophysiology of bacterial meningitis.** *Clinical Microbiology Reviews.* (1993) 118–136.
42. RADIN, Jana N. *et al.* - **Beta-Arrestin I participates in platelet-activating factor receptor-mediated endocytosis of Streptococcus pneumoniae.** *Infection and immunity.* (2005) 7827–7835.
43. CHEN, Zhangguo *et al.* - **Agonist-induced internalization of the platelet-activating factor receptor is dependent on arrestins but independent of G-protein activation. Role of the C terminus and the (D/N)PXXY motif.** *The Journal of biological chemistry.* United States. (2002) 7356–7362.

44. LI, Jing; ZHANG, Jing-Ren - **Phase Variation of Streptococcus pneumoniae**. Microbiology spectrum. United States (2019).
45. WEISER, J. N. *et al.* - **Phase variation in pneumococcal opacity: relationship between colonial morphology and nasopharyngeal colonization**. Infection and immunity. (1994) 2582–2589.
46. SCHLOSSBERG, David - **Clinical Infectious Disease**. Cambridge University Press, (2008) Disponível em <https://www.cambridge.org/core/books/clinical-infectious-disease/0F8B8F12B76B366A66D32ED97D69E6CF>
47. MOOK-KANAMORI, Barry B. *et al.* - **Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis**. Clinical Microbiology Reviews. (2011) 557–591.
48. WALPORT, M. J. - **Complement. First of two parts**. The New England journal of medicine. United States. (2001) 1058–1066.
49. WOODHEAD, M. *et al.* - **Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections - Full version**. Clinical Microbiology and Infection. (2011)
50. MONTEIRO, M. E. *et al.* - Orientação n.º 045/2011: **Antibioterapia na Pneumonia Adquirida na Comunidade em Adultos Imunocompetentes**. Direcção-Geral Saúde. (2011) 1–17.
51. SOCIETY, Portuguese Respiratory - **Recomendações de abordagem diagnóstica e terapêutica da pneumonia da comunidade em adultos imunocompetentes Portuguese Respiratory Society guidelines for the management of community – acquired pneumonia in immunocompetent adults**. Revista Portuguesa de Pneumologia. IX:5 (2003) 435–461.
52. LIM, Wei Shen *et al.* - **British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: Update 2009**. Thorax. (2009).
53. SAÚDE, Direcção-Geral Da - Orientação da Direcção Geral da Saúde -**Utilização de Ampicilina, Amoxicilina e Amoxicilina/Ácido Clavulânico**. (2011)
54. LOUREIRO, Rui João *et al.* - **O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução**. Revista Portuguesa de Saúde Pública. (2016) 77–84.
55. ABBOTT, Myles B.; VLASSES, Christopher H. - **Nelson Textbook of Pediatrics**. JAMA. (2011) 1436-1440.
56. APPELBAUM, Peter C. - **Antimicrobial Resistance in Streptococcus**

pneumoniae: An Overview. Clinical Infectious Diseases. (1992) 77–83.

57. HSIEH, Yu Chia *et al.* - **Alterations of penicillin-binding proteins in pneumococci with stepwise increase in β -lactam resistance.** Pathogens and Disease. (2013) 84–88.

58. MAEDA, Kumiko *et al.* - **Comparison of activities of β -lactam antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* with recombinant penicillin-binding protein genes from a penicillin-resistant strain.** Journal of Infection and Chemotherapy. (2005) 107–111.

59. (ECDC), European Centre For Disease Prevention And Control - **Surveillance Atlas of Infectious Diseases** [Consult. 2 abr. 2020]. Disponível em <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>.

60. JACOBS, Michael R. - ***Streptococcus pneumoniae*: epidemiology and patterns of resistance.** The American journal of medicine. United States. (Print). (2004) 3S-15S.

61. REINERT, Ralf René *et al.* - **Molecular epidemiology of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in Europe.** Journal of clinical microbiology. (2005) 1294–1300.

62. DALY, Melissa M. *et al.* - **Characterization and prevalence of MefA, MefE, and the associated msr(D) gene in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates.** Journal of clinical microbiology. (2004) 3570–3574.

63. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC) - **Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018.** |

64. KATHERINE L. O'BRIEN, MD, MPH, MEENA RAMAKRISHNAN, MD, MPH ADAM FINN, MD PHD†, RICHARD MALLEY, MD - **Pneumococcus, Pneumococcal Disease, and Prevention.** Em The Vaccine Book . Second ed. [S.l.] : Elsevier Inc., (2016) Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802174-3.00012-6>. ISBN 9780128021743. p. 225–243.

65. COSTA, Rui P.; GONÇALVES, Carlos; SOUSA, Jaime Correia De - **A doença pneumocócica e recomendações GRESP para a vacinação antipneumocócica na população adulta (≥ 18 anos).** Revista Portuguesa de Clínica Geral. ISSN (2016) 70–74.

66. HUSS, Anke *et al.* - **Efficacy of pneumococcal vaccination in adults: a meta-analysis.** CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale

canadienne. (2009).

67. BENIN, Andrea L. *et al.* - **Effectiveness of the 23-valent polysaccharide vaccine against invasive pneumococcal disease in Navajo adults.** The Journal of infectious diseases. United States. (2003) 81–89.

68. AGUIAR, S. I. *et al.* - **Changes in Streptococcus pneumoniae serotypes causing invasive disease with non-universal vaccination coverage of the seven-valent conjugate vaccine.** Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. England. (2008) 835–843.

69. GEORGE, Francisco Jorge Moura - **Norma 011/2015 - Vacinação contra infeções por Streptococcus pneumoniae de grupos com risco acrescido para doença invasiva pneumocócica (DIP). Adultos (≥18 anos de idade).** Direção-Geral da Saúde. Norma nº01 (2015) 1–7.

70. KIM, Lindsay *et al.* - **Biological and Epidemiological Features of Antibiotic-Resistant Streptococcus pneumoniae in Pre- and Post-Conjugate Vaccine Eras: a United States Perspective.** Clinical microbiology reviews (Electronic). (2016) 525–552.

71. SAFDAR, Amar *et al.* - **Inhaled therapeutics for prevention and treatment of pneumonia. Expert opinion on drug safety.** ISSN 1744-764X (Electronic). (2009) 435–449.

72. WEINBERGER, Daniel M.; HARBOE, Zitta B.; SHAPIRO, Eugene D. - **Developing Better Pneumococcal Vaccines for Adults.** JAMA internal medicine. (Electronic). (2017) 303–304.

73. BERICAL, Andrew C. *et al.* - **Pneumococcal Vaccination Strategies. An Update and Perspective.** Annals of the American Thoracic Society. (Electronic). (2016) 933–944.

74. LEE, Lucia H.; GU, Xin-Xing; NAHM, Moon H. - **Towards New Broader Spectrum Pneumococcal Vaccines: The Future of Pneumococcal Disease Prevention.** Vaccines. (Print). (2014) 112–128.

75. MOFFITT, Kristin; MALLEY, Richard - **Rationale and prospects for novel pneumococcal vaccines.** Human vaccines & immunotherapeutics. (Electronic). (2016) 383–392.

76. RODGERS, Gail L.; KLUGMAN, Keith P. - **The future of pneumococcal disease prevention.** Vaccine. Netherlands (Electronic). (2011)

77. DANIELS, Calvin C.; ROGERS, P. David; SHELTON, Chasity M. - **A Review of Pneumococcal Vaccines: Current Polysaccharide Vaccine Recommendations and Future Protein Antigens.** The journal of pediatric pharmacology and therapeutics : JPPT : the official journal of PPAG. (2016) 27–35.
78. KAMTCHOUA, Thierry *et al.* - **Safety and immunogenicity of the pneumococcal pneumolysin derivative PlyDI in a single-antigen protein vaccine candidate in adults.** Vaccine. Netherlands. (2013) 327–333.