



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Rute Rodrigues Rocha

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Klebsiella pneumoniae* – Virulência e Resistência” referentes à Unidade Curricular “Estágio” sob a orientação do Dr. Diogo Moura, da Dra. Sónia Santos e da Professora Doutora Olga 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 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Rute Rodrigues Rocha

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Klebsiella pneumoniae* – Virulência e Resistência” referentes à Unidade Curricular “Estágio” sob a orientação do Dr. Diogo Moura, da Dra. Sónia Santos e da Professora Doutora Olga Cardoso, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2021

Eu, Rute Rodrigues Rocha, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016242696, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Klebsiella pneumoniae* – Virulência e Resistência” 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, 7 de setembro de 2021.

Rute Rodrigues Rocha

(Rute Rodrigues Rocha)

Agradecimentos

Ao meu avô João, estarei para sempre grata pelas longas conversas repletas de carinho e conselhos.

Aos meus pais, João e Guida, para os quais palavras ou gestos nunca serão suficientes para demonstrar a minha eterna gratidão pelo apoio incondicional e amizade.

À minha irmã, “Sário”, sempre com a palavra certa no momento certo e ao meu cunhado, Marco, por nunca me terem deixado desistir, ajudando-me a acreditar mais em mim.

Aos meus sobrinhos, Afonso e Adriana, em quem encontro sempre a felicidade nos seus sorrisos leves e traquinhas, por me fazerem lutar nas alturas mais difíceis.

Ao meu padrinho, Jorge, madrinha, Rita, tia Sara, primos Gabriel, Micael e Patrícia, por estarem sempre ao meu lado desde sempre.

Aos meus amigos, a família que eu escolhi, por me ensinarem que o poder da amizade supera todas as dificuldades.

Às minhas companheiras de casa de Coimbra, pelo crescimento conjunto e momentos inesquecíveis que guardarei para sempre no meu coração.

Aos meus companheiros de curso, pelos momentos inesquecíveis que partilhámos, companheirismo e amizade. Sem eles Coimbra não teria tido o mesmo encanto.

Ao Doutor Francisco Portela, por todo o acompanhamento clínico e apoio ao longo dos vários internamentos difíceis, as suas palavras de carinho e coragem refletiram-se em motivação e superação.

À Professora Doutora Olga Cardoso, por quem tenho uma enorme admiração, mais que agradecida por toda a ajuda e dedicação que foram fundamentais para a elaboração da monografia, sinto uma honra por ter partilhado esta fase académica com ela.

À equipa da Farmácia Moura, companheiros talentosos e amigos por quem guardarei sempre uma enorme estima e um carinhoso respeito.

À Dra. Vanessa Corceiro, à Dra. Sónia Santos e à equipa do departamento de Produção de Injetáveis dos Laboratórios BASI, pela integração calorosa, ajuda e compreensão que me proporcionaram três meses de conhecimentos imensos.

*“Toda a gente tem dentro de si próprio um pedaço de boas notícias.
As boas notícias é que tu não sabes o quanto grandioso podes ser! O quanto tu
podes amar! O quanto podes conseguir! E descobrires qual é o teu potencial!”*

Anne Frank

CAPÍTULO I - RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Lista de Abreviaturas	10
1. Introdução.....	11
2. Farmácia Moura.....	11
3. Análise SWOT	12
3.1 Pontos Fortes (<i>Strengths</i>).....	12
3.1.1 Equipa técnica e utentes fidelizados	12
3.1.2 Planeamento do estágio	13
3.1.3 Gestão, receção e arrumação de encomendas.....	13
3.1.4 Atendimento ao público.....	14
3.1.5 Sistema informático.....	15
3.1.6 Serviços farmacêuticos prestados.....	15
3.1.7 Plano de estudos do MICF.....	16
3.2 Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>).....	16
3.2.1 Desconhecimento dos nomes comerciais.....	16
3.2.2 Falta de confiança no estagiário.....	16
3.2.3 A COVID-19.....	17
3.3 Oportunidades (<i>Opportunities</i>).....	17
3.3.1 Formação Kaizen.....	17
3.3.2 Formação contínua.....	18
3.3.3 Formações à equipa técnica	18
3.3.4 A PIM.....	18
3.3.5 Dispensa de medicamentos hospitalares.....	19
3.4 Ameaças (<i>Threats</i>)	19
3.4.1 Estabelecimentos de venda de MNSRM, produtos de saúde e bem-estar	19
3.4.2 Medicamentos esgotados.....	19
4. O farmacêutico comunitário e a indicação farmacêutica.....	19
5. Casos Clínicos	20
6. Considerações Finais	23
7. Referências	24

CAPÍTULO II - RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Lista de Abreviaturas	27
1. Introdução.....	28
2. Laboratórios BASI	28
3. Análise SWOT	29
3.1 Pontos Fortes (<i>Strengths</i>).....	29
3.1.1 Integração na equipa	29
3.1.2 Planeamento do estágio	29
3.1.3 Experiência prática	30
3.1.4 Zona de produção.....	30
3.1.5 Plano de estudos do MICF.....	31
3.2 Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>).....	32

3.2.1	Áreas de trabalho não observadas.....	32
3.2.2	Plano de estudos do MICF.....	32
3.3	Oportunidades (<i>Opportunities</i>).....	33
3.3.1	Contacto com profissionais de diferentes áreas	33
3.3.2	Contacto próximo com as funções da responsável pelo fabrico.....	33
3.3.3	Formação contínua.....	33
3.4	Ameaças (<i>Threats</i>)	34
3.4.1	Competitividade do mercado farmacêutico	34
3.4.2	Constante mudança.....	34
4.	Considerações Finais	35
5.	Referências	36

CAPÍTULO III - MONOGRAFIA: "*Klebsiella pneumoniae*: Virulência e Resistência"

	Lista de Abreviaturas	38
	Resumo	39
	Abstract	40
1.	Introdução.....	41
2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	41
3.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> – Variabilidade genómica	43
3.1	Classificação genómica	43
3.2	Definição genómica.....	43
4.	Mecanismos de defesa do organismo hospedeiro.....	44
5.	Virulência.....	44
5.1	Fatores de Virulência.....	46
5.1.1	Cápsula polissacarídica	46
5.1.2	Lipopolissacarídeo	46
5.1.3	Fímbrias.....	47
5.1.4	Biofilmes.....	47
5.1.5	Sideróforos.....	48
5.1.5.1	Enterobactina	48
5.1.5.2	Salmochelina.....	49
5.1.5.3	Yersiniabactina.....	49
5.1.5.4	Aerobactina	49
5.1.6	Outros fatores de virulência.....	49
6.	<i>K. pneumoniae</i> e a resistência aos antimicrobianos	49
6.1	MDR, <i>Extremely Drug Resistant</i> e mecanismos de disseminação.....	49
6.2	Resistência aos β -lactâmicos.....	51
6.2.1	β -lactamases.....	52
6.2.2	Extended – Spectrum β -lactamases	52
6.2.3	Cefalosporinases.....	52
6.2.4	Carbapenemases.....	53
6.3	Resistência aos aminoglicosídeos.....	53
6.4	Resistência às quinolonas.....	53
6.5	Resistência às polimixinas.....	54
6.6	Resistência à tigeciclina	54

7.	Dados estatísticos em Portugal e medidas de prevenção da resistência a antimicrobianos	55
8.	Novos antimicrobianos	57
9.	Hypervirulent <i>Klebsiella pneumoniae</i>	58
9.1	Caracterização	58
9.2	Crescimento e Virulência	59
9.2.1	“Hipercápsula”	59
9.2.2	Plasmídeo com genes de virulência	60
9.2.2.1	rmpA e rmpA2	60
9.2.2.2	iuc.....	60
9.2.3	ICEs.....	60
9.2.4	Colibactina	61
9.3	Colonização intestinal e disseminação de Hypervirulent <i>K. pneumoniae</i>	61
9.4	Convergência da hipervirulência com a resistência aos antimicrobianos.....	61
9.5	Infeções e métodos de tratamento	62
10.	Métodos de diagnóstico.....	63
10.1	Identificação microbiológica.....	63
10.2	Identificação radiográfica	63
11.	Novos métodos de tratamento	64
11.1	Transplante da microbiota intestinal	64
11.2	Imunoterapia	64
12.	Conclusão	65
13.	Referências.....	66

CAPÍTULO I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia Moura



Lista de Abreviaturas

DCI	Denominação Comum Internacional
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
FM	Farmácia Moura
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamento não Sujeito a Receita Médica
MSRM	Medicamento Sujeito a Receita Médica
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
PVP	Preço de Venda ao Público
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>

1. Introdução

O ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) apresenta um plano curricular organizado de forma a facultar uma panóplia de conhecimentos científicos, bem como de estimular competências sociais e humanas. Ambos constituem algumas das bases de formação de futuros profissionais de saúde. O término do MICF implica a realização de estágios curriculares, sendo que, de entre os possíveis a realizar, o em farmácia comunitária é de carácter obrigatório.

A farmácia comunitária é a faceta mais visível da profissão de farmacêutico, sendo o farmacêutico comunitário considerado um elo de ligação entre o utente e os cuidados de saúde primários, uma vez que está apto a prestar diferentes tipos de serviços que promovem o bem-estar dos utentes (1), (2). Assim, a realização de um estágio na farmácia comunitária além de estabelecer a transição entre a fase de aprendizagem teórica e o exercício prático da profissão, expondo o estudante à realidade diária de um farmacêutico comunitário, providencia a aquisição de novos conhecimentos.

O meu estágio teve a duração de quatro meses e foi realizado na Farmácia Moura (FM), localizada na rua da Praça do Comércio na zona histórica da cidade de Tondela, sob a orientação do Dr. Diogo Moura.

O presente relatório consiste numa fundamentada análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities* e *Threats*) relativa ao meu percurso enquanto estagiária na FM, assim como na exposição de alguns aspetos acerca do processo de integração no contexto simulado do exercício prático da profissão.

2. Farmácia Moura

A direção técnica da FM é da responsabilidade do Dr. Jorge Moura (proprietário) e a equipa técnica é constituída por dois farmacêuticos, o Dr. Diogo Moura (farmacêutico substituto e o meu orientador) e a Dra. Cátia Correia, juntamente com quatro técnicos de farmácia, Luís Ferreira, Paulo Torres, Carina Dias e Mário Marques.

As instalações da FM foram recentemente remodeladas, apresentando um aspeto moderno e acolhedor que garantem as condições de conservação e manipulação dos medicamentos e outros produtos de saúde, como também o conforto e a privacidade da equipa técnica e dos utentes.

A sala de atendimento ao público é constituída por quatro balcões individualizados, dois gabinetes de atendimento personalizado ao público que são usados para a prestação de serviços como a medição dos parâmetros bioquímicos (avaliação da glicémia, perfil lipídico e

pressão arterial), administração de vacinas e injetáveis e consultas nas áreas de saúde de nutrição e podologia. Neste local encontram-se expostos diversos produtos de saúde, tais como produtos de dermofarmácia e cosmética, higiene oral, higiene e tratamento capilar, higiene íntima, suplementação alimentar, puericultura, ortopedia e saúde animal, assim como alguns Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM). A forma como estão organizados tem em consideração a circulação dos utentes pelo espaço e permite estabelecer uma ligação cruzada entre as necessidades e interesses dos utentes e os interesses comerciais da FM.

A zona do *backoffice* é composta pelas seguintes divisões, armazém, instalações sanitárias, local de Preparação Individualizada da Medicação (PIM), zona de recolhimento (usada durante o serviço permanente), local de preparação de manipulados, local de gestão e receção de encomendas e o gabinete da direção técnica.

Apesar da FM possuir um vasto leque de utentes fidelizados, na sua maioria idosos polimedicados, nos últimos anos tem-se registado uma maior afluência de novos utentes interessados, em particular, nas áreas de dermofarmácia e cosmética e suplementação alimentar.

3. Análise SWOT

3.1 Pontos Fortes (*Strengths*)

3.1.1 Equipa técnica e utentes fidelizados

A equipa técnica que desempenha funções na FM rege-se por um método de organização e distribuição das tarefas que garante a sua realização de forma disciplinada e eficiente.

Em função das diferentes formações e experiências profissionais de cada membro da equipa técnica, determinadas tarefas estavam ao encargo do membro mais experiente nas mesmas, o que permitiu-me consolidar e adquirir conhecimentos mais específicos nas diferentes áreas.

O estabelecimento de uma relação de respeito e confiança entre a equipa técnica e os utentes estimulava a fidelização de utentes, o que, por um lado facilitava a identificação das suas principais necessidades e interesses e, por outro, incentivava-os a escutar e seguir as informações indicadas no ato de atendimento. O grupo de utentes fidelizados possibilitou-me conhecer e acompanhar a evolução do estado de saúde de alguns deles, e assim efetuar um atendimento mais personalizado.

3.1.2 Planeamento do estágio

O meu percurso enquanto estagiária, estabelecido pelo Dr. Diogo Moura, dividia-se em três etapas sequenciais, através das quais acompanhei o quotidiano da FM e acumulei responsabilidades de forma dinâmica e progressiva.

A primeira etapa consistiu na realização de funções a nível do *backoffice* como a gestão, receção e arrumação de encomendas, que foram as bases fundamentais para que os atendimentos ao público viessem, numa fase posterior, a ser realizados da forma mais célere possível.

Aquando da realização destas tarefas com a autonomia e destreza necessárias, comecei a assistir aos atendimentos ao público, de modo a iniciar a interação com os utentes, o que consciencializou-me da diversidade de utentes e situações com que o farmacêutico comunitário é confrontado diariamente.

Por último, a etapa mais desejada, mas também a mais desafiante, a de atendimento autónomo ao público.

3.1.3 Gestão, receção e arrumação de encomendas

Gestão, receção e arrumação de encomendas eram as principais tarefas executadas a nível do *backoffice*, as quais contribuíram para a familiarização com os nomes comerciais dos Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) e dos MNSRM, assim como do local e modo como estes são armazenados e da noção do *stock* e sortido presentes na FM, o que facilitou o processo de atendimento ao utente.

Na FM eram efetuados dois tipos de encomendas, as diárias e as instantâneas. As diárias, realizadas duas vezes ao dia (uma ao final da manhã e outra ao final da tarde) incluíam os medicamentos e produtos de saúde dispensados na parte do dia respetiva. A gestão deste tipo de encomendas baseava-se pelo *stock* mínimo e máximo definidos na ficha técnica dos medicamentos e produtos de saúde com rotatividade significativa, assegurando assim a disponibilidade dos mesmos na FM. As encomendas instantâneas podiam ser realizadas em qualquer período do dia através do sistema informático ou diretamente aos fornecedores, e incluíam os medicamentos e/ou produtos de saúde pretendidos pelo utente que não se encontravam disponíveis na FM. Os fornecedores principais aos quais eram requeridos ambos os tipos de encomendas eram, Plural-Cooperativa Farmacêutica, Empifarma – Produtos Farmacêuticos, Alliance Healthcare Portugal, Cooprofar – Medlog e Ocp Portugal – Produtos Farmacêuticos.

Aquando da chegada das encomendas à FM era iniciado o processo de receção das mesmas, dando prioridade, caso existissem, aos produtos armazenados no frio. A receção era

feita no módulo “Receção de Encomendas” do sistema informático SIFARMA 2000®. Seleccionava a encomenda a rececionar, inseria o número da fatura e o seu valor monetário e introduzia-os no sistema informático através do leitor ótico do código de barras, sendo que no final o número de embalagens enviadas pelo fornecedor (que constava na fatura) tinha de coincidir com as rececionadas. Verificava o prazo de validade, o *stock* existente, se o preço de venda ao público (PVP) marcado nas embalagens dos MSRM era igual ao registado no sistema informático e a existência de reservas. No caso dos MNSRM e de outros produtos de saúde era necessário conferir se o seu PVP estava atualizado, sendo que por vezes este tinha de ser corrigido ou determinado, no caso de ser um produto sem ficha na FM. Para tal, multiplicava o preço unitário do MNSRM e/ou produto pelo Imposto sobre o Valor Acrescentado (IVA) e pela margem de lucro da FM.

Concluídos os dois processos descritos, procedia à arrumação das encomendas. Os MSRM eram arrumados em gavetas onde eram organizados por ordem alfabética da Denominação Comum Internacional (DCI) / nome comercial, por dosagem, por prazos de validades de acordo com a regra “*first in, first out*”, pela forma farmacêutica e pela via de administração. Os que necessitavam de condições de conservação de frio eram armazenados na câmara frigorífica, cujas divisões estavam assinaladas por área terapêutica, e dentro desta por ordem alfabética de DCI / nome comercial. O *stock* dos MSRM era organizado no armazém, no espaço referente ao respetivo laboratório / marca comercial, segundo o método de organização aplicado nas gavetas.

Os MNSRM e produtos de saúde eram dispostos em locais específicos da sala de atendimento consoante a sua indicação farmacêutica, sendo que o destaque de alguns variava conforme a altura do ano e épocas festivas. O *stock* dos MNSRM e dos produtos de saúde era guardado no armazém, em prateleiras identificadas por indicação farmacêutica.

3.1.4 Atendimento ao público

O ato de atendimento ao público foi, no meu ponto de vista, um dos momentos mais desafiantes, mas também o mais gratificante do estágio. O contacto com diferentes tipos de utentes e situações possibilitou-me não só a aplicação dos conhecimentos adquiridos, como também a aquisição de novas competências fulcrais para a melhoria contínua dos atendimentos.

O tipo de utentes que frequentava a FM variava consoante o período do dia e caso se tratasse de um dia de serviço permanente. Nos dias normais, ao longo da manhã era comum a dispensa de prescrições médicas aos utentes idosos, ao invés do período da tarde em que

era maior a afluência de pessoas com afeções menores. Nos dias de serviço permanente, era recorrente a proveniência de pessoas do serviço de urgência e com afeções menores.

Durante os atendimentos era mandatário mencionar a indicação terapêutica dos medicamentos e produtos de saúde, a sua posologia assim como alertar para eventuais reações adversas ou cuidados a ter.

3.1.5 Sistema informático

O sistema informático usado nos processos de gestão e receção de encomendas era o SIFARMA 2000[®], enquanto no processo de atendimento era utilizado o novo módulo de atendimento do SIFARMA[®].

O SIFARMA 2000[®], utilizado por 90% das farmácias comunitárias em Portugal, é dotado de inúmeras ferramentas intuitivas e lógicas que auxiliam a tarefa do farmacêutico comunitário no exercício diário da profissão, tais como gestão de *stocks*, verificação dos prazos de validade, gestão de encomendas, consulta de informações científicas e logísticas do produto a dispensar, entre outras (3). O novo módulo de atendimento do SIFARMA 2000[®], além de possuir estas ferramentas, permite regressar à página inicial de dispensa dos medicamentos/produtos de saúde aquando da fase final do atendimento, a do pagamento, o que agilizava o processo de venda.

Uma das ferramentas deste sistema informático que foi-me bastante útil, em especial numa fase inicial de atendimento autónomo, foi o módulo “Informação Científica”, através do qual acedia a informações detalhadas relativas às indicações terapêuticas, posologias, contra-indicações e possíveis reações adversas dos medicamentos e produtos de saúde.

3.1.6 Serviços farmacêuticos prestados

Nas farmácias comunitárias podem ser prestados diversos serviços farmacêuticos e serviços de promoção da saúde e bem-estar aos utentes (4), (5). Na FM, eram prestados diariamente serviços de medição dos parâmetros bioquímicos, administração de vacinas e injetáveis e a PIM.

Os parâmetros bioquímicos avaliados incluíam o perfil lipídico, a glicémia e a pressão arterial, os quais permitiam acompanhar o estado de saúde dos utentes, ajudando a detetar casos de falta de adesão à terapêutica e/ou de terapêutica inadequada. Alguns utentes usavam estes momentos para esclarecerem dúvidas ou pedirem indicações sobre o seu estado de saúde.

Em relação à PIM, o serviço era prestado a uma instituição residencial para idosos, o Lar de Terceira Idade do Caramulo. Após o envio do regime terapêutico de cada utente pela

médica residente da instituição iniciávamos a PIM. O processo era duplamente verificado por pessoas distintas, certificando assim que o utente tinha acesso à sua medicação correta.

3.1.7 Plano de estudos do MICF

Os vários conteúdos programáticos lecionados ao longo do plano de estudos do MICF constituem os alicerces fundamentais para a criação de uma bagagem de conhecimentos e competências essenciais ao exercício da profissão de farmacêutico comunitário. Estes conhecimentos em diversas áreas curriculares mostraram-se bastante úteis no desempenho das minhas funções e na conquista de uma posição confiável perante os colegas de equipa e o utente durante a realização do estágio.

Assim, constato que o plano de estudos do MICF estabelece uma ponte entre a componente teórica e o exercício prático da profissão que está adequada à realidade do quotidiano de uma farmácia comunitária.

3.2 Pontos Fracos (*Weaknesses*)

3.2.1 Desconhecimento dos nomes comerciais

No momento da dispensa de prescrições médicas, era bastante comum os utentes solicitarem os MSRM pelo seu nome comercial em vez da sua DCI, o que mostrou ser uma limitação na identificação de qual o MSRM a dispensar, dada a minha dificuldade em associar ambas as designações.

Deste modo, de forma a contornar esta adversidade, verificava no sistema informático qual a DCI do MSRM referido pelo utente e confirmava no histórico medicamentoso se correspondia com o habitualmente dispensado.

Todavia, com o decorrer do estágio, em consequência das tarefas do *backoffice* e da realização crescente de atendimentos, os nomes comerciais tornaram-se cada vez mais familiares.

3.2.2 Falta de confiança no estagiário

A maioria dos membros da equipa técnica da FM exercem funções no local há bastante tempo, sendo rostos muito conhecidos e acarinhados pelos utentes, o que suscitou alguma resistência, numa fase inicial, por parte de alguns utentes em serem atendidos por mim. Este facto aliado à diversidade de produtos, ao contacto com utentes bastante diferentes entre si e à consciência da gravidade das consequências para o utente de eventuais erros cometidos foram algumas das razões da insegurança e receio numa fase inicial do estágio.

Contudo, sabendo que o modo como abordamos o utente é decisivo na forma como o atendimento se desenvolve, adotei uma atitude responsável, proativa e empática que se refletiu numa melhor compreensão por parte do utente e de uma satisfação mútua.

3.2.3 A COVID-19

Face ao estado de emergência vivido a nível mundial devido à COVID-19, o contacto com os utentes tinha de ser efetuado de acordo com as regras sanitárias impostas, o que impediu a prestação de alguns dos serviços farmacêuticos disponíveis, como a avaliação da glicémia e do perfil lipídico. Por conseguinte, foi impossível acompanhar alguns dos utentes que solicitavam estas medições de forma rotineira.

Por outro lado, de forma a limitar o risco de contágio, foi instituído o sistema de entregas ao domicílio em que o utente contactava a FM e explicava o serviço que necessitava, dispensa de prescrições médicas ou indicação farmacêutica. Embora fosse um sistema mais seguro tanto para os utentes como para a equipa técnica, a impossibilidade de avaliar pessoalmente o utente e a curta duração de alguns atendimentos telefónicos foram alguns dos obstáculos à eficiente prestação dos cuidados de saúde.

3.3 Oportunidades (*Opportunities*)

3.3.1 Formação *Kaizen*

A metodologia *Kaizen* consiste num conjunto de medidas e estratégias que visam a melhoria contínua de vários processos em diferentes áreas (6). Na FM, esta filosofia estava a ser implementada pela Dra. Leonor Quintal que através de formações e execução conjunta de alguns métodos dinamizadores, fomentava na equipa a determinação na melhoria contínua do desempenho individual e conjunto, bem como a modernização da FM, adequando-a às realidades atuais.

Na formação que tive oportunidade de assistir, a Dra. Leonor Quintal mencionou e descreveu alguns dos fatores com maior impacto não só na gestão eficiente da FM, como também na construção de uma imagem de confiança na mente dos utentes. Os principais aspetos referidos foram, a importância da organização do espaço, o poder do trabalho em equipa e da definição de objetivos, a necessidade de planear soluções ao invés de alimentar julgamentos e o dever de efetuar um atendimento que vá ao encontro das necessidades dos utentes.

3.3.2 Formação contínua

O farmacêutico, sendo um profissional de saúde, deve investir na sua formação contínua de modo a manter os seus conhecimentos atualizados e de expandir as suas competências. Perante o constante desenvolvimento e inovação do mercado competitivo dos produtos de saúde e bem-estar das diferentes áreas de intervenção do farmacêutico comunitário, este necessita de se manter atualizado acerca dos novos produtos e da sua relação com os concorrentes comerciais.

Deste modo, era frequente a participação da FM em eventos formativos em áreas como a dermofarmácia e cosmética, em particular da gama Bioderma® e Barral®, nutrição e dietética, da gama Arkopharma® e dos laboratórios Tilman®, e dos produtos de saúde animal. Os conhecimentos retidos eram bastante úteis aquando da indecisão de qual o produto mais indicado em determinadas situações.

3.3.3 Formações à equipa técnica

Durante o estágio foi-me proposto apresentar à equipa técnica uma breve descrição de um produto de saúde disponível na FM. A minha escolha recaiu no suplemento alimentar Cis-Control – STOP® da gama Arkopharma®, devido ter presenciado alguns utentes a solicitarem antimicrobianos para o tratamento de infeções urinárias em regime de automedicação. Sendo a venda de antimicrobianos sem receita médica proibida devido às consequências complexas do uso destes fármacos, a indicação de suplementos alimentares semelhantes ao apresentado era uma das alternativas possíveis.

Durante a apresentação, abordei os tópicos referentes à sua constituição, os mecanismos de ação dos seus principais constituintes (Arando vermelho, Uva ursina, D-manose e fermentos lácteos), a posologia e algumas precauções de utilização (7).

3.3.4 A PIM

Durante a PIM é necessário realizar várias tarefas em simultâneo, cumprir a prescrição médica, efetuar as vendas suspensas, consultar o histórico medicamentoso do utente e, se aplicável, alterar a organização das caixas dispensadoras. Em paralelo, era necessário encarar a prescrição médica a ser seguida com espírito crítico para possíveis inconformidades.

Assim, considero que a PIM foi uma oportunidade de enorme relevância dada a responsabilidade que envolve.

3.3.5 Dispensa de medicamentos hospitalares

A dispensa de medicamentos hospitalares pelas farmácias comunitárias garante aos utentes o acesso à sua medicação de forma fácil, cómoda e segura, em especial numa altura em que os hospitais eram considerados locais de elevado risco de transmissão do vírus SARS-CoV-2. Perante o cancelamento/adiamento de consultas em regime presencial e de alguns exames médicos, a dispensa dos medicamentos hospitalares na farmácia comunitária permitia um acompanhamento mais próximo e responsável da situação clínica do utente.

Aquando da chegada da medicação à FM o utente ou o adquirente (em casos em que o utente não tinha condições de se deslocar à FM) era de imediato contactado, e era iniciado o processo de dispensa, efetuado no módulo “Sifarma Clínico”.

3.4 Ameaças (Threats)

3.4.1 Estabelecimentos de venda de MNSRM, produtos de saúde e bem-estar

Segundo o que consta no Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto, além das farmácias comunitárias a venda de MNSRM e de outros produtos de saúde e bem-estar está autorizada em outros locais, o que originou em alguns casos o decréscimo de vendas destes produtos nas farmácias comunitárias (8). As campanhas promocionais atrativas juntamente com a política comercial destes estabelecimentos são dois fatores que, aliados à sua localização nas duas superfícies comerciais com maior afluência da população do concelho de Tondela, tornam o acesso e conseqüente compra dos produtos mais cómodo e económico.

Porém, devido às indicações farmacêuticas não serem efetuadas, na maioria das vezes, por farmacêuticos, existe um risco de uso inadequado de determinados produtos assim como de uma automedicação inadequada.

3.4.2 Medicamentos esgotados

Medicamentos esgotados são uma realidade preocupante no quotidiano de uma farmácia comunitária, pois comprometem a continuidade dos regimes terapêuticos que ao serem alterados ou descontinuados têm impacto na eficácia dos mesmos.

Esta situação gerava uma grande inquietação e intolerância por parte de alguns utentes que não aceitavam que a razão pela qual o MSRM se encontrava esgotado não dependia da FM, e deslocavam-se a outras farmácias que, por vezes, possuíam o MSRM em *stock*.

4. O farmacêutico comunitário e a indicação farmacêutica

Uma das funções de maior relevo do farmacêutico comunitário, bastante valorizada pelos utentes da FM, é o ato de indicação farmacêutica. Alguns dos utentes consideravam a FM como

a primeira linha de pedido de ajuda aquando de algum problema de saúde ou da presença de sintomas/sinais inespecíficos, assim como de alguma dúvida relacionada com o seu estado de saúde.

Durante o estágio, em particular durante o fim de semana e nas semanas de serviço permanente tive a oportunidade de efetuar atendimentos exclusivos de indicação farmacêutica, alguns dos quais face às circunstâncias envolventes ao utente marcaram o meu percurso na FM. Determinadas indicações farmacêuticas que realizei encontram-se descritas nos **Casos Clínicos**.

5. Casos Clínicos

• Caso Clínico 1

Caracterização Clínica

Utente do género feminino, 32 anos, grávida (1º trimestre) do segundo filho deslocou-se à FM apresentando queixas de náuseas, vómitos, mal-estar e de algumas tonturas associadas a cheiros intensos. Por ainda faltar algum tempo para a consulta médica e de não conseguir suportar mais aquela situação, solicitou algo que a aliviasse sem afetar o curso da gestação. Após ter escutado as suas queixas, questionei-a sobre há quanto tempo possuía aquela sintomatologia e se já tinha tomado algo para o alívio da mesma, ao que me respondeu que sentia-se assim há cerca de 2 dias, mas não tinha tomado nada por receio.

Indicação Farmacêutica

Indiquei o suplemento alimentar à base de gengibre, o Antimetil[®], cujas propriedades antieméticas e anti náuseas devem-se ao constituinte ativo gingerol (9). A posologia indicada foi de 2 comprimidos de manhã, ou, caso preferisse 1 comprimido de manhã e 1 comprimido antes do almoço.

De igual modo, recomendei algumas medidas não farmacológicas, tais como, realizar refeições leves e várias vezes ao dia, ingerir gradual e lentamente líquidos, evitar movimentos bruscos e evitar espaços fechados.

• Caso Clínico 2

Caracterização Clínica

Utente do género feminino, 80 anos, polimedicada, deslocou-se à FM para obter a sua medicação habitual. No final do atendimento mostrou-me uma embalagem vazia de Cilestoderme[®] 1 mg/g solicitando uma nova. Quando a questionei sobre a prescrição médica

e a frequência de aplicação da pomada respondeu-me que não tinha prescrição médica e aplicava-a cerca de 3 vezes ao dia durante os últimos 2 meses nas “feridas que tinha nas pernas”, queixando-se de “ardor insuportável e dor”. Dada a situação, perguntei se se importava que eu observa-se as suas pernas para conseguir ter uma melhor perceção, o que me permitiu constatar que as mesmas apresentavam-se com a pele muito seca, com vermelhidão e sinais de inflamação.

Indicação Farmacêutica

Numa fase inicial, expliquei à utente que aquela pomada era constituída por corticosteroides (Betametasona) e era um MSRM, o qual devia ser usado apenas em fases agudas de tratamento e a sua suspensão feita de forma gradual (10). Perante esta situação, considerei o Pandermil® 10 mg/g creme em conjunto com o Atoderm PP Baume® da gama Bioderma®.

O Pandermil® 10 mg/g creme é constituído por hidrocortisona, que está indicado no tratamento de dermatoses, manifestações inflamatórias, prurido e em casos de utilização de um corticoide (11). O Atoderm PP Baume® constituído pela vitamina PP estimula a reparação da barreira cutânea através da hidratação e conforto intenso que se manifesta logo após a aplicação e a longo prazo (12).

Assim, expliquei à utente o modo de utilização de ambos os produtos através do seguinte esquema:

1. Durante 4 dias consecutivos aplicar Pandermil® 10 mg/g creme 2 vezes ao dia (ao acordar e ao deitar) e aplicar Atoderm PP Baume® 1 vez por dia (a meio do dia).
2. Do 5º dia ao 7º dia, aplicar Pandermil® 10 mg/g creme apenas 1 vez por dia (ao deitar) e aplicar o creme Atoderm PP Baume® 2 vezes ao dia (a meio do dia e ao deitar).
3. Após o 7º dia, aplicar todos os dias o creme Atoderm PP Baume® 2 vezes por dia (ao acordar e ao deitar).

Realcei a necessidade da aplicação destes produtos na pele previamente limpa e seca, e a aplicação do Pandermil® 10 mg/g creme apenas nas áreas afetadas.

Recomendei também algumas medidas não farmacológicas, tais como, não usar roupas muito apertadas nas pernas, manter as pernas limpas e hidratadas e ingerir líquidos em quantidades adequadas.

- **Caso Clínico 3**

Caracterização Clínica

Utente do género feminino, 77 anos, deslocou-se à FM com queixas de prurido e dor na região anal devido às suas hemorroidas. Solicitou o MNSRM Daflon® 1000 mg que tinha sido aconselhado por uma vizinha.

De modo a obter mais informações acerca da situação da utente, questionei-a sobre o estado fisiológico das hemorroidas, há quanto tempo estava com aquela sintomatologia, quando tinha sido diagnosticada, se estava a perder sangue, qual era o tratamento habitual ou se já tinha feito alguma cirurgia. A utente respondeu que não tinha qualquer diagnóstico e que os sintomas tinham surgido após a toma, há cerca de 2 dias, do Zentel®. Após a sua toma, o número de defecações havia aumentado. Sendo a ocorrência de episódios diarreicos um dos efeitos secundários do Zentel®, constatei que em vez de se tratar de um caso de hemorroidas, estava perante uma situação de irritação e lesão da pele da região anal, que confirmei com o desenvolvimento do atendimento.

Indicação Farmacêutica

Numa fase inicial, expliquei à utente que os sintomas e sinais que possuía indicavam um efeito secundário da toma do Zentel® em vez de um estado ativo da doença hemorroidária.

Tendo em conta a situação, indiquei HALIBUT® Pomada. Sendo constituída à base de vitamina A e óxido de zinco tem uma ação adstringente e antisséptica e um efeito regenerador, cicatrizante e protetor da pele (13).

Indiquei a sua aplicação 2-3 vezes por dia, sobre a pele limpa e seca, e após a sua aplicação aguardar uns minutos antes de colocar alguma peça de roupa.

De forma complementar, consciencializei para a importância de ingerir bastantes líquidos, efetuar refeições ligeiras, devido às diarreias, e a necessidade de manter a região anal limpa e hidratada para uma melhor cicatrização e regeneração da pele.

Por último, alertei para a necessidade de se manter atenta à evolução do seu estado de saúde, e no caso de continuar com diarreias para se descolar novamente à FM.

- **Caso Clínico 4**

Caracterização Clínica

Utente do género feminino, 10 anos, deslocou-se à FM acompanhada pela sua mãe que relatou que a sua filha tinha muitas dificuldades em adormecer e em manter o sono durante a

noite. Menciona que a filha tem diabetes *mellitus* tipo I, possui uma bomba de insulina e tem dificuldades em ingerir comprimidos.

Indicação Farmacêutica

De forma a perceber melhor os motivos da dificuldade em adormecer dirigi as minhas questões principalmente à filha, questionando-a sobre um possível estado de ansiedade, nervosismo, medo ou preocupação. Respondeu-me que estava bem, “apenas cansada das aulas *online*”.

Desta forma, indiquei o suplemento alimentar Melamil[®], sendo à base de melatonina ajudava na dificuldade em adormecer assim como na manutenção de um sono mais regular e profundo (14). A posologia indicada foi de 4/5 gotas diretamente na língua cerca de 30 minutos antes de dormir durante 1 mês.

Recomendei também a prática da “higiene do sono”, evitar o uso o telemóvel ou da televisão antes de dormir, ter um ambiente no quarto acolhedor e relaxante sem muito ruído e com pouca luminosidade e definir um horário regular para ir dormir.

6. Considerações Finais

A realização do estágio em farmácia comunitária permitiu-me presenciar e executar as funções de um farmacêutico comunitário, possibilitando-me aprofundar e consolidar os conhecimentos adquiridos durante a formação académica, assim como a aquisição de novos e desenvolvimento de competências.

Com o trabalho diário na FM dei os meus primeiros passos no exercício da profissão, desenvolvi competências bastante úteis para o meu futuro profissional e consegui contradizer a ideia preconcebida por alguns utentes de que a farmácia comunitária é um simples local de venda de medicamentos, não valorizando todo o trabalho subjacente à dispensa dos mesmos.

O atendimento ao público foi sem dúvida a fase mais gratificante de todo o estágio, pois a interação com diferentes tipos de utentes e situações incentivaram a partilha de conhecimentos e o estudo complementar e mais aprofundado em determinadas áreas, o que me facultou a aprendizagem de procedimentos mais específicos.

Ao fazer uma análise retrospectiva do meu percurso enquanto estagiária na FM considero que alcancei os objetivos do estágio e detenho agora uma formação mais completa. Sinto-me bastante realizada com o meu crescimento pessoal e profissional, sendo que para tal, a ajuda e o acompanhamento da equipa técnica da FM foi fundamental, estando muito grata a todos eles.

7. Referências

- (1) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos**. 1998) 1–9.
- (2) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Farmácia Comunitária**. [Consultado a 14 abril de 2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/>
- (3) GLINTT - **Sifarma**. [Consultado a 14 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-quefazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
- (4) **Portaria nº 1429/2007, de 2 de novembro de 2007**. Diário da República nº211/2007 – Série I. Ministério da Saúde. Lisboa.
- (5) **Portaria nº 97/2018, de 9 de abril de 2018**. Primeira alteração à Portaria nº 1429/2007, de 2 de novembro, que define os serviços farmacêuticos que podem ser prestados pelas farmácias. Diário da República nº 69/2018 – Série I. Ministério da Saúde. Lisboa.
- (6) GLINTT - **Serviço de consultoria e gestão em farmácias**. [Consultado a 25 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/BusinessConsulting/Paginas/CGF.aspx>
- (7) ARKOPHARMA LABORATORIOS - **Cis-Control - STOP®**. [Consultado a 15 de março de 2021]. Disponível em: <https://www.arkopharma.com/pt-PT/cis-controlr-stop>
- (8) **Decreto Lei nº 134/2005, de 16 de Agosto de 2005**. Diário da República nº 156/2005 – Série I-A. Ministério da Saúde. Lisboa.
- (9) TILMAN - **ANTIMETIL®**. [Consultado a 16 de abril de 2021]. Disponível em: <https://tilmanportugal.com.pt/antimetil/>
- (10) INFARMED, I.P. - **Resumo das Características Médicas: Cilestoderme® 1 mg / g**. [Consultado a 4 de abril de 2021]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- (11) EDOL - **Pandermil®**. [Consultado a 4 de abril de 2021]. Disponível em: <https://edol.pt/produto/pandermil-creme-30g/>
- (12) BIODERMA - LABORATOIRE DERMATOLOGIQUE - **Atoderm PP Baume®**. [Consultado a 4 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.bioderma.pt/os-nossos-produtos/atoderm/pp-baume>

- (13) PRODUTOS HALIBUT - **Halibut**[®]. [Consultado a 17 de março de 2021]. Disponível em: <https://halibut.pt/produtos/halibut-pomada>
- (14) HUMANA BABY PORTUGAL - **Melamil**[®]. [Consultado a 26 de abril de 2021]. Disponível em: <https://www.humana.pt/produtos/suplementos-alimentares/ produto /melamil>

CAPÍTULO II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Laboratórios **BASI**



Lista de Abreviaturas

FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
IGV	Injetáveis de Grande Volume
IPV	Injetáveis de Pequeno Volume
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>

1. Introdução

O término do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) possibilita a realização de estágios em diferentes áreas das ciências farmacêuticas. O estágio em indústria farmacêutica é um dos possíveis estágios curriculares que viabiliza o conhecimento e o acompanhamento da realidade diária de uma indústria farmacêutica e do papel do farmacêutico na mesma.

De acordo com o Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, os deveres do farmacêutico em indústria farmacêutica prendem-se com a responsabilidade em realizar as suas funções de acordo com as Boas Práticas de Fabrico que culminam na garantia da qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos e outros produtos de saúde fabricados (1).

O meu estágio teve a duração de três meses e foi realizado no departamento da Produção na unidade industrial de produção de injetáveis, nos Laboratórios BASI, sob a orientação da Dra. Sónia Santos.

O presente relatório consiste numa fundamentada análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*) ao percurso enquanto estagiária nos Laboratórios BASI, assim como a exposição de alguns aspetos relativos ao processo de integração no contexto simulado do exercício prático da profissão.

2. Laboratórios BASI

Os Laboratórios BASI, sediados na zona industrial de Mortágua, contam com mais de cinquenta anos de atividade marcada pela flexibilidade, inovação, competitividade e eficiência, os quais são alguns dos pilares responsáveis por ser uma referência europeia (2). No seu portefólio de fabrico constam mais de duzentos e quarenta produtos farmacêuticos em dezassete áreas terapêuticas diferentes, tais como medicamentos, dispositivos médicos, suplementos e dermocosméticos (2).

O departamento da Produção engloba duas unidades industriais, a unidade de produção de injetáveis e a unidade de produção de líquidos e semi-sólidos. A unidade de produção de líquidos e semi-sólidos está autorizada ao fabrico das seguintes formas farmacêuticas, xaropes, soluções orais, suspensões orais, soluções cutâneas, géis, cremes, pomadas e enemas. A unidade de produção de injetáveis é uma estrutura recente, construída em 2017, que está autorizada ao fabrico de injetáveis de pequeno volume (IPV) e de injetáveis de grande volume (IGV).

3. Análise SWOT

3.1 Pontos Fortes (*Strengths*)

3.1.1 Integração na equipa

O funcionamento da unidade de produção de injetáveis implica o trabalho conjunto de várias equipas compostas por membros com formações e experiências profissionais bastante distintas. Os operadores detêm um conhecimento técnico e prático especializado nos procedimentos que efetuam. Os supervisores, responsáveis pelo turno respetivo, estão encarregues de organizar e delegar funções pelos membros das equipas, assim como de resolver os problemas que diariamente ocorrem. O suporte técnico é responsável pela análise da documentação necessária à realização dos procedimentos de produção e libertação de lotes. A responsável pelo fabrico possui um extenso e profundo conhecimento técnico-científico na área, sendo responsável por delegar funções, otimizar e agilizar os procedimentos e definir determinadas estratégias preventivas e corretivas perante a ocorrência de dificuldades.

Esta equipa, na qual fui integrada durante o estágio, preocupou-se de imediato em apresentar-me as instalações, incluir-me nos vários processos e partilhar comigo os seus conhecimentos e experiências. Este ambiente de empatia e interajuda desencadeou uma relação de confiança mútua que proporcionou-me a autonomia e a confiança necessárias para efetuar as minhas funções e evoluir a nível profissional.

3.1.2 Planeamento do estágio

O plano do estágio foi delineado pela Dra. Sónia Santos (Diretora do departamento de Produção) em conjunto com a Dra. Vanessa Corceiro (Responsável pelo fabrico na unidade de produção de injetáveis) de acordo com a sequência dos processos de produção.

Comecei por presenciar o procedimento de pesagem das matérias-primas, durante o qual contactei pela primeira vez com a documentação que acompanha todos os processos de produção até à libertação do lote do produto fabricado. De seguida, assisti ao processo de mistura das matérias-primas (preparação de IPV e/ou IGV), o que permitiu-me observar o modo de executar uma receita de produção, assim como de aprender o modo de funcionamento dos equipamentos onde são efetuadas as misturas. Posteriormente, acompanhei os processos de enchimento e fecho de ampolas no caso dos IPV, e de formação, enchimento e capsulagem de frascos, no caso dos IGV. Em simultâneo, observei os procedimentos de higienização das áreas classificadas, bem como da montagem e desmontagem de determinados equipamentos.

Em paralelo, estudava e analisava a documentação relativa às instruções de operações e equipamentos, procedendo, caso fosse necessário, à sua atualização e/ou criação com o objetivo de manter os procedimentos atualizados e perceptíveis pelos operadores.

3.1.3 Experiência prática

Embora alguns dos procedimentos já serem conhecidos dos conteúdos lecionados na área curricular de Tecnologia Farmacêutica durante o ciclo de estudos do MICF, o facto de estar perante uma escala industrial em que todos os pormenores e detalhes adquirem proporções de maior relevância e impacto em cada procedimento efetuado, foi necessária a familiarização com diversas terminologias, equipamentos e processos.

As minhas funções eram exercidas entre o “terreno”, onde acompanhava e auxiliava, sempre que necessário, os procedimentos das operações de produção e dos equipamentos, e o gabinete, onde analisava e redigia a documentação relativa às instruções de operações e equipamentos dos procedimentos observados.

Assistir pessoalmente aos procedimentos em conjunto com os operadores especializados nos mesmos permitiu-me não só aprender algumas técnicas e métodos específicos, mas também deparar-me com as principais dificuldades e obstáculos que surgem aquando da sua realização. Esta fase foi essencial para a minha integração no quotidiano da unidade de produção de injetáveis, visto ter-me possibilitado conhecer as funções de cada operador, tomar consciência da lógica do funcionamento da unidade, das normas e regras a serem seguidas e da necessidade de elaborar rapidamente estratégias de resolução de problemas.

As instruções de operações e de equipamentos são documentos que descrevem, de forma sequencial e com recurso a imagens reais, as várias etapas de realização de um determinado procedimento. De modo a garantir que todos os colaboradores compreendiam o seu conteúdo tinham de ser escritas de forma clara, sucinta, objetiva e perceptível. Estes documentos eram controlados e encontravam-se disponíveis numa das plataformas informáticas da empresa, assim como na sala onde era executado o procedimento respetivo.

Assim, a forte componente prática da realidade da unidade de produção de injetáveis permitiu-me uma aplicação e aquisição dinâmica de conhecimentos e competências.

3.1.4 Zona de produção

A zona de produção da unidade de injetáveis engloba duas linhas de produção, a linha de produção de IPV e a linha de produção de IGV, às quais estão associadas várias salas com diferentes classificações (2), (3). Nas salas classificadas são realizados os procedimentos de

fabrico e enchimento, enquanto nas salas limpas não classificadas são efetuados os procedimentos de embalagem e movimentação de materiais para / do armazém (2).

Nas áreas de classificação B eram realizados os procedimentos de enchimento assético de IPV, enquanto nas áreas classificadas com o nível C e D eram efetuados os procedimentos de pesagem das matérias-primas, de preparações de IPV e IGV e do enchimento de IGV. O acesso a estas áreas era permitido apenas aos operadores qualificados para tal e obrigava ao uso de fardamento e calçado de proteção apropriado. De modo a minimizar o risco de contaminações cruzadas, estes espaços estavam desenhados consoante a sequência de fabrico e usufruíam de um sistema de filtração do ar adequado com controlo do diferencial de pressão.

Durante o estágio, as minhas funções implicaram o acesso e a presença nas áreas de produção de classe C e D, entre as quais necessitava de trocar o tipo de fardamento e calçado de proteção. Na zona de embalagem era usado o fardamento branco de gola verde, calçado de proteção e uma touca. Para aceder às salas da produção, nos vestiários respetivos, vestia o fardamento branco de gola branca, cuja composição do tecido garantia uma menor libertação de fibras, trocava o calçado de proteção e em algumas salas era necessário o uso de luvas. Em relação às zonas de classe C era usado o fardamento azul, composto por um tecido fino e macio que não libertava fibras, meias até ao joelho, calçado de proteção, uma segunda touca e luvas.

3.1.5 Plano de estudos do MICF

No decorrer do estágio recorri várias vezes aos conteúdos teóricos e práticos lecionados na unidade curricular de Tecnologia Farmacêutica, tais como, calibração de balanças, controlo e correção do pH das preparações, técnica de fecho de ampolas, métodos de leitura do pH e condutividade, os fatores que influenciam as preparações, as fórmulas de cálculo de doseamentos e das quantidades a pesar das matérias-primas, assim como as normas a ter em conta durante a produção de medicamentos estéreis. De igual modo, a unidade curricular de Assuntos Regulamentares mostrou-se bastante útil na interpretação dos protocolos e procedimentos relativos às Boas Práticas de Fabrico e no cumprimento das exigências da autorização de comercialização.

Assim, considero que o plano de estudos do MICF faculta os fundamentos básicos e preparatórios para a realidade do departamento da produção de uma indústria farmacêutica.

3.2 Pontos Fracos (*Weaknesses*)

3.2.1 Áreas de trabalho não observadas

No decorrer do estágio experienciei inúmeras atividades e áreas relativas à unidade de produção de injetáveis que me fizeram tomar consciência da brevidade, precisão e rigor com que os processos têm de ser efetuados. Este facto aliado à escassez de tempo e de recursos humanos mostrou, por vezes, ser um obstáculo à observação e compreensão integral de determinados procedimentos e equipamentos.

Contudo, apesar de considerar um ponto fraco do meu estágio, tendo em conta a exigência e a quantidade de trabalho realizado neste departamento, era já uma situação esperada.

3.2.2 Plano de estudos do MICF

Com o decorrer do estágio constatei algumas lacunas no plano curricular do MICF relacionadas com a preparação do estudante para o exercício prático da profissão de farmacêutico na área da produção de uma indústria farmacêutica. Apesar dos conteúdos teóricos e práticos terem sido bastante úteis, os procedimentos de algumas operações e a organização e gestão de pessoas/processos foram os dois aspetos que se revelaram mais desafiantes.

A organização de execução dos procedimentos da produção era obtida através do delineamento de um planeamento que, face às circunstâncias, era muitas vezes alvo de alterações. Por conseguinte, suscitavam-me variadas dúvidas, principalmente na indicação dos procedimentos prioritários a realizar.

Por outro lado, as tarefas realizadas na produção requerem coordenação e cooperação entre os inúmeros operadores que, apesar de estarem inseridos em equipas e trabalharem para um objetivo comum, desempenham um trabalho individual que é avaliado como tal. Em consequência, a gestão das equipas, além de implicar um profundo conhecimento da área, exigia sabedoria e perspicácia na orientação das pessoas e agilização dos processos. Contudo, face aos diferentes perfis das pessoas, a determinação de certos métodos de coordenação e gestão de operadores tornava-se bastante complexa, o que gerava algumas dúvidas e discórdias.

Assim, constato que a inclusão de uma unidade curricular mais direcionada para a área da produção de uma indústria farmacêutica, assim como para a gestão e organização de uma indústria farmacêutica seria bastante vantajosa.

3.3 Oportunidades (*Opportunities*)

3.3.1 Contacto com profissionais de diferentes áreas

A indústria farmacêutica reúne pessoas com formações e experiências em diversas áreas profissionais, o que faz com que a partilha de conhecimentos e o trabalho em equipa seja uma constante no quotidiano deste ramo. Consequentemente, o contacto durante o estágio com pessoas com formações nas áreas da bioquímica, biotecnologia, microbiologia, engenharia química e alimentar, gestão industrial, economia, engenharia informática, entre outras, foi uma oportunidade e uma mais-valia, pois proporcionou-me uma aprendizagem multidisciplinar.

De igual modo, o acompanhamento dos operadores dos equipamentos e dos procedimentos da produção durante a realização das suas funções permitiu-me aprender determinadas práticas e estratégias específicas que são adquiridas apenas com experiência, algo que considero que enriqueceu bastante o meu percurso.

3.3.2 Contacto próximo com as funções da responsável pelo fabrico

O local onde exercia as minhas funções de análise e revisão da documentação relativa aos procedimentos de operações e de equipamentos da produção de injetáveis era o gabinete da responsável pelo fabrico. A oportunidade de acompanhar diariamente as suas funções, responsabilidades e métodos de trabalho permitiu, não só a partilha de conhecimentos técnico-científicos muito relevantes acerca da indústria farmacêutica, como também de métodos de gestão eficaz dos recursos humanos.

Foi durante este período que fui confrontada com os problemas mais frequentes na produção, do estudo que era feito para determinar as causas dos mesmos, das estratégias de resolução e das medidas implementadas para evitar que o mesmo problema ocorresse de novo. Em consequência, adquiri uma visão geral do funcionamento da unidade de produção de injetáveis e das funções de um farmacêutico na produção de uma indústria farmacêutica, o que me fez ganhar consciência da responsabilidade e exigência de cada decisão.

3.3.3 Formação contínua

É fundamental e mandatário que os operadores recebam, de forma contínua, formação específica e adaptada às suas funções, assegurando assim que todos possuem os conhecimentos atualizados acerca das normas e procedimentos. De modo a comprovar que os procedimentos estavam a ser efetuados de acordo com as formações assistidas, os operadores eram periodicamente avaliados aquando da realização dos mesmos.

Ao longo do estágio, assisti a algumas formações, em particular, de segurança e higiene no trabalho, das Boas Práticas de Fabrico, de manuseamento dos equipamentos, sobre os procedimentos de operações e das técnicas de higienização das diferentes áreas classificadas. Através destas, obtive uma perspetiva mais detalhada acerca da forma correta de efetuar as minhas funções e uma visão proativa e de espírito crítico face a eventuais medidas corretivas. As formações eram orientadas, numa primeira fase, para a exposição da componente teórica, e numa segunda fase, para a realização de um teste relativo ao conteúdo apresentado.

3.4 Ameaças (*Threats*)

3.4.1 Competitividade do mercado farmacêutico

Ao longo dos últimos anos, face à expansão e desenvolvimento do setor da indústria farmacêutica, aos desafios da crise económica e à implementação de determinadas políticas governamentais na área da saúde, o mercado farmacêutico tem-se tornado cada vez mais exigente e competitivo.

Com vista a ultrapassar estas adversidades e obstáculos que se erguem diariamente, é necessário adotar medidas internas assentes em objetivos concretos e otimizados que estimulem as capacidades de adaptação à mudança, de forma a garantirem o desenvolvimento da indústria, a produtividade e uma posição de referência no mercado farmacêutico.

3.4.2 Constante mudança

O mundo da indústria farmacêutica é envolvido por uma constante mudança em consequência não só da evolução do mercado, mas também em função das necessidades e interesses da saúde pública.

Assim, com o objetivo de corresponder às expectativas da saúde pública e promover a progressiva evolução no mercado é necessário realizar investimentos aos quais estão associados custos bastante elevados. O processo de aprovação destes investimentos envolve um estudo do mercado em que são avaliadas variáveis como a relação risco-benefício, o impacto na sociedade e as metas esperadas de recuperação do investimento. É crucial que a aposta nas áreas de mudança e inovação seja a mais oportuna, pois delas dependem o futuro de uma indústria farmacêutica.

4. Considerações Finais

A realização do estágio na área da Indústria Farmacêutica mostrou ser uma oportunidade bastante enriquecedora para a minha formação enquanto estudante e como futura farmacêutica. Ao longo do estágio, obtive o primeiro contacto com a realidade do quotidiano de uma Indústria Farmacêutica, em particular do departamento de produção de injetáveis.

A presença numa unidade industrial em que os processos de produção têm uma margem de erro mínima, a complexidade e agilização das funções a exercer, assim como o contacto e a relação com várias pessoas diferentes foram apenas alguns dos aspetos que obrigaram-me a desenvolver uma atitude proativa e confiante, assim como a realizar um estudo complementar de forma a superar as adversidades e inseguranças.

Analisando o meu percurso enquanto estagiária considero que alcancei os objetivos que o estágio me propôs, para os quais toda a equipa da unidade de produção de injetáveis dos Laboratórios BASI foi essencial, estando grata pelo apoio e integração.

Em suma, constato que possuo agora uma formação mais completa, consistente e direcionada para os meus objetivos futuros.

5. Referências

- (1) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. 1998) 1–9.
- (2) BASI LABORATÓRIOS - **Sobre os BASI**. [Consultado a 4 de agosto de 2021]. Disponível em: <https://www.basi.pt/sobre-basi/>
- (3) **Portaria n.º 42/92, de 23 de janeiro de 1992**. Diário da República n.º 19/1992 – Série I-B. Ministério da Saúde. Lisboa.

CAPÍTULO III

MONOGRAFIA

“Klebsiella pneumoniae – Virulência e Resistência”

Lista de Abreviaturas

ARGs	<i>Antibiotic Resistance Genes</i>
CGs	<i>Clonal Groups</i>
CPS	Cápsula Polissacarídica
ESBLs	<i>Extended-Spectrum β-Lactamases</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fe	Ferro
ICEs	<i>Integrative and Conjugative elements</i>
ITU	Infeção do Trato Urinário
LPS	Lipopolissacarídeo
MALDI-TOF	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight</i>
MDR	<i>Multidrug-Resistant</i>
MLST	<i>Multi-locus Sequence Typing</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBPs	<i>Penicillin-Binding Proteins</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
rRNA	RNA ribossômico
SNC	Sistema Nervoso Central
ST	<i>Sequence Type</i>
TGI	Trato Gastrointestinal
XDR	<i>Extremely Drug Resistant</i>

Resumo

Klebsiella pneumoniae é o agente etiológico de inúmeras infecções que afetam principalmente indivíduos imunocomprometidos e/ou com comorbidades associadas, sendo as unidades hospitalares e de prestação de cuidados de saúde os locais preferenciais para a disseminação deste agente patogénico oportunista.

A sua capacidade evolutiva a nível genómico é um dos fatores responsáveis pelos mecanismos subjacentes à aquisição e desenvolvimento de novas características de virulência, assim como dos processos de resistência a algumas classes de agentes antimicrobianos. Em consequência, surgiu a circulação de novas estirpes de *K. pneumoniae* dotadas de um fenótipo e genótipo mais virulento, cuja disseminação é mais frequente entre indivíduos saudáveis e jovens, como é o caso de Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Assim, o aumento do número de infecções com carácter mais invasivo aliado ao decréscimo da eficácia dos regimes terapêuticos instituídos reflete-se no aumento das taxas de mortalidade e morbidade associadas às infecções.

Face aos aspetos mencionados, diversos recursos têm sido mobilizados no sentido de se definirem estratégias que visam o controlo das vias de transmissão, de forma a prevenir e limitar a disseminação deste problema de saúde global. De igual modo, vários têm sido os estudos realizados com o objetivo de se desenvolverem novos fármacos antimicrobianos e outros métodos de tratamento promissores. A presente monografia pretende, deste modo, abordar a importância do conhecimento dos diversos mecanismos que destacam clinicamente *K. pneumoniae* como um agente patogénico emergente, assim como do impacto dos mesmos na evolução dos quadros clínicos dos doentes colonizados ou infetados.

Palavras-chave: *Klebsiella pneumoniae*; fatores de virulência; resistência antimicrobiana; infecções; Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*; diagnóstico.

Abstract

Klebsiella pneumoniae is the etiologic agent of numerous infections that primarily affect immunocompromised individuals and/or with associated comorbidities. Hospital and healthcare facilities are the main responsible for the spread of this opportunistic pathogen.

The evolutionary capacity at the genomic level is one of the factors responsible for the mechanisms underlying the acquisition and development of new virulence characteristics, as well as the processes of resistance to some classes of antimicrobial agents. This caused the circulation of new strains of *K. pneumoniae* endowed with a more virulent phenotype and genotype, whose dissemination is more frequent in healthy and young individuals, as is the case of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. There is an increase in the number of infections with a more invasive nature, together with a decrease in the effectiveness of the established therapeutic regimens, which is reflected in the increase in mortality and morbidity rates associated with the infections.

Several resources have been mobilized in order to define strategies aimed at controlling the transmission routes, in order to prevent and limit the spread of this global health problem. Studies have been carried out with the aim of developing new antimicrobial drugs and other promising treatment methods. This monograph aims to treat the importance of the different mechanisms that highlight *K. pneumoniae* as an emerging pathogen, as well as their impact on the evolution of the clinical conditions of colonized or infected patients.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; virulence factors; antimicrobial resistance; infections; Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*; diagnosis.

1. Introdução

A família *Enterobacteriaceae* é constituída por bactérias de Gram negativo, entre elas, *Klebsiella pneumoniae*, que são os agentes causadores das infeções de origem bacteriana mais comuns em seres humanos (1).

K. pneumoniae causa diferentes tipos de infeções em vários órgãos e tecidos, as quais são, na sua maioria adquiridas e transmitidas em ambiente hospitalar e em unidades de prestação de cuidados de saúde, afetando indivíduos imunocomprometidos ou com comorbilidades associadas, o que lhe confere o perfil de agente patogénico oportunista nosocomial (2). Detentora de um conjunto de características fenotípicas e genotípicas que, por um lado facilitam a sua adaptação às condições envolventes, por outro, através de elementos genéticos móveis permitem a aquisição de genes de virulência e resistência (2). Em consequência às características mencionadas, *K. pneumoniae* foi incluída no complexo denominado por ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) (3).

Surgiram assim novas estirpes bacterianas com maior capacidade de invasão, sobrevivência e crescimento no organismo hospedeiro, como Hypervirulent *K. pneumoniae* (2),(3),(4). Hypervirulent *K. pneumoniae* apresenta algumas diferenças em relação à *K. pneumoniae*, como o local associado à disseminação, o tipo de infeções que origina, o tipo de hospedeiros que infeta, entre outras (2),(4),(5).

Ao longo dos tempos, tem-se verificado o aumento do número de infeções causadas por *K. pneumoniae* assim como da gravidade das mesmas, o que determinou o reconhecimento do seu potencial infeccioso, gerando uma crescente preocupação entre os clínicos e cientistas (2). Desta forma, é urgente o desenvolvimento de fármacos antimicrobianos mais eficazes assim como o estudo de novos métodos de profilaxia e tratamento (6). De modo complementar, é importante delinear medidas e objetivos que visam o controlo da transmissão destas infeções, tanto em ambiente hospitalar como fora dele (6).

O objetivo da presente monografia prende-se com a análise e exposição dos vários fatores e mecanismos que conferem virulência e resistência a estas estirpes bacterianas, bem como a abordagem das conseqüentes infeções e terapêuticas.

2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae pertence à família *Enterobacteriaceae* e é considerada o principal membro do género *Klebsiella* (1). A sua primeira caracterização foi da autoria do cientista alemão *Carl Friedlander* no ano de 1882 (7),(8). *Friedlander*, através do estudo de isolados de

K. pneumoniae presentes em pulmões de doentes cuja causa de morte havia sido pneumonia, estabeleceu uma relação causal entre a infeção por *K. pneumoniae* e o posterior desenvolvimento de pneumonia, facto que se mantém comprovado até à atualidade (1),(8).

É uma bactéria de Gram negativo, encapsulada, com a forma de um bacilo, aeróbia – anaeróbia facultativa, incapaz de formar esporos e de se movimentar (1),(2). Segundo as suas características metabólicas, é capaz de fermentar a lactose, mas não produz a enzima citocromo-oxidase (1),(8). Em meios de cultura seletivos e não seletivos, o seu crescimento ocorre com facilidade, formando colónias mucosas que contribuem para a sua identificação (1),(8).

K. pneumoniae tem aptidão para infetar, sobreviver e colonizar vários tipos de nichos com diferentes características e localizações (2),(7). No seio da natureza pode ser encontrada em solos, águas e em algumas espécies de plantas e animais, em meio hospitalar é frequente a sua deteção em determinados dispositivos médicos assim como em algumas superfícies (1),(2), (7),(9). No ser humano, a sua localização preferencial é a mucosa do trato gastrointestinal (TGI), sendo também capaz de colonizar as mucosas e epitélios do trato respiratório, do trato urinário e da pele, que funcionam como acessos à corrente sanguínea, permitindo o alcance de outros órgãos e tecidos, de forma a garantir a sua disseminação no hospedeiro e originar infeções mais graves (2),(8),(10).

K. pneumoniae é o agente etiológico de vários tipos de infeções, tais como, pneumonia, que é a infeção mais comum, infeções do trato urinário (ITU), septicémias e abscessos hepáticos (2),(7),(8). Estas infeções afetam em especial indivíduos imunocomprometidos e/ou portadores de algum dispositivo médico (por exemplo, dispositivos intravasculares, endotraqueais e ventilação mecânica), e/ou com comorbilidades associadas, e neonatais (2),(7),(9). Este perfil comum entre as características dos hospedeiros aliado ao facto de as infeções serem, na sua maioria, adquiridas em ambiente hospitalar ou em unidades de prestação de cuidados de saúde, classifica *K. pneumoniae* como um agente patogénico oportunista, sendo considerado um dos principais agentes patogénicos nosocomiais em todo o mundo (7),(10).

3. *Klebsiella pneumoniae* – Variabilidade genómica

3.1 Classificação genómica

A população de *K. pneumoniae* é bastante diversificada, sendo composta por várias linhagens que apesar da diversidade que as caracteriza, encontram-se estruturalmente organizadas (7). De forma a classificá-las, foi aplicada a técnica de sequenciação molecular *Multi-locus Sequence Typing* (MLST) em 7 genes (*mdh*, *infB*, *tonB*, *gapA*, *phoE*, *pgi* e *rpoB*), através da qual definiram-se as *Sequence Type* (ST) (2),(7),(11). Por sua vez, a análise da sequenciação do genoma total permitiu a identificação dos inúmeros *Clonal Groups* (CGs) (4). Assim, tendo como base a classificação ST e dos CGs foram estabelecidas as relações filogenéticas entre as linhagens de *K. pneumoniae*, o que facilitou a identificação das mesmas (2),(4),(7).

Deste modo, o conhecimento genómico é crucial para a compreensão dos aspetos epidemiológicos, bem como dos mecanismos relacionados com a evolução clínica de *K. pneumoniae*, como os de virulência e de resistência (4),(7).

3.2 Definição genómica

O genoma de *K. pneumoniae* compreende cerca de 5000 a 6000 genes cujas características permitem a sua divisão em dois grupos de genes, os genes *core* e os genes acessórios (7). Os genes *core*, representam cerca de 2000 genes do genoma total e encontram-se em todos, ou quase todos, os membros de uma dada espécie (7),(8). Pelo contrário, os genes acessórios constituem a maioria do genoma e estão presentes em apenas alguns dos membros da espécie (7),(8). A porção do genoma constituída por este tipo de genes contribui de forma direta para a variabilidade genómica dos membros da espécie *K. pneumoniae* (7),(8).

Os genes acessórios permitem classificar os membros da espécie *K. pneumoniae* em oportunistas, *Multidrug-Resistant* (MDR) e em hipervirulentos, assim como distingui-los do ponto de vista filogenético das espécies *Klebsiella variicola* e *Klebsiella quasipneumoniae* (8). A importância dos genes acessórios prende-se com a sua função enquanto codificadores de determinados componentes e enzimas responsáveis pelos mecanismos de virulência e de resistência (7),(8),(12). A sua origem, aquisição e permuta intra e interespecies resulta dos mecanismos de conjugação, transdução e transformação, mediados por plasmídeos, fagos e elementos integrativos e conjugativos (*Integrative and Conjugative Elements* – ICEs) através do processo de transferência horizontal de genes (7),(8),(13).

Transferência horizontal de genes é um processo que além de atuar como um moderador positivo na adaptação de *K. pneumoniae* a diferentes condições fisiológicas e ambientais,

viabiliza também a aquisição de novo material genético responsável pelo aumento da incidência da virulência e resistência, assim como pelo aparecimento de novas estirpes bacterianas com características fenotípicas e genotípicas mais virulentas, como Hypervirulent *K. pneumoniae* (7),(13). A ocorrência deste processo é influenciada pelo contexto em que *K. pneumoniae* se encontra, como as alterações do meio envolvente, o contacto com outras bactérias e o uso de agentes antimicrobianos (7).

4. Mecanismos de defesa do organismo hospedeiro

O organismo humano é dotado de um conjunto de elementos e estratégias que atuam de forma contínua na prevenção e proteção contra a entrada de agentes estranhos, com o objetivo de manter as condições fisiológicas em homeostasia (2),(9),(14).

Aquando do momento da invasão do organismo humano, *K. pneumoniae* depara-se com inúmeras barreiras da primeira linha de defesa do sistema imunitário que dificultam a sua entrada, e posterior colonização no TGI, no trato urinário e no trato respiratório (2),(9),(14).

Os mecanismos de defesa no TGI incluem a produção de muco, os movimentos peristálticos, o *turnover* das células epiteliais, e a ação das enzimas digestivas e da biliar (2),(9). No trato respiratório, as defesas incluem o muco e os movimentos mucociliares, enquanto no trato urinário, *K. pneumoniae* depara-se com o fluxo urinário e o pH ácido da urina (2),(9). Além destas barreiras fisiológicas e físicas, também as barreiras celulares são ativadas, como os processos de fagocitose, recrutamento de neutrófilos, ativação do sistema complemento, entre outros, que têm como objetivo a morte da célula bacteriana (2),(9). Contudo, por vezes estas defesas revelam-se pouco eficazes, o que desencadeia a ativação da resposta imune adquirida (2),(9).

5. Virulência

K. pneumoniae possui na sua constituição determinados elementos que em conjunto com os adquiridos conferem-lhe proteção contra as defesas do sistema imunitário hospedeiro bem como face às possíveis alterações hostis do meio envolvente, contribuindo assim para o sucesso da invasão, sobrevivência e crescimento no hospedeiro (1),(2),(7),(10). Estes elementos são denominados por fatores de virulência (Figura 1) e compreendem elementos como a cápsula polissacarídica (CPS), o lipopolissacarídeo (LPS), os sideróforos, as fímbrias, entre outros, os quais podem ser codificados tanto pelos genes *core* como pelos genes acessórios (1),(2),(7),(8),(10).

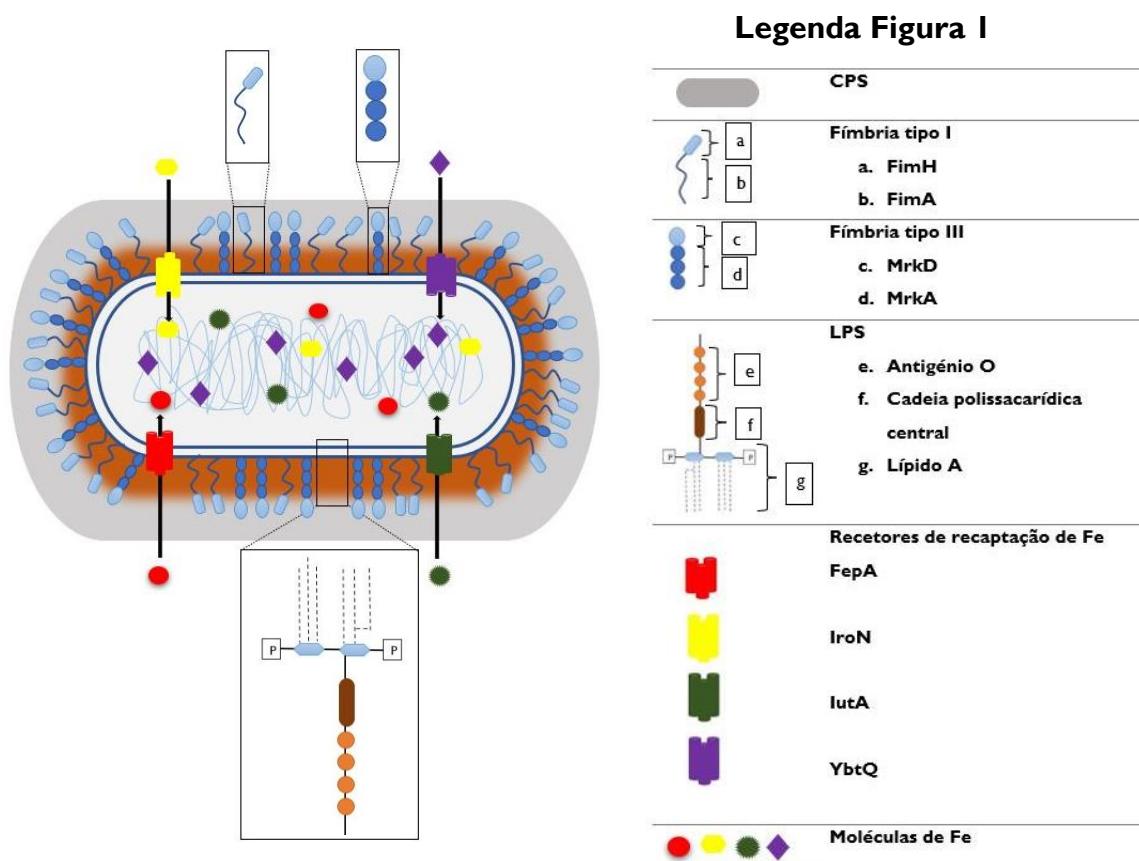


Figura I - Fatores de virulência de *K. pneumoniae*. Os fatores de virulência de *K. pneumoniae* melhor caracterizados incluem a CPS, o LPS, os sideróforos e as fímbrias do tipo I e III. (Adaptado de (2)).

A CPS é considerada o principal fator que contribui para a virulência de *K. pneumoniae*, protegendo-a dos processos fagocíticos no hospedeiro (1),(2),(14). Localizada no exterior da membrana externa, é definida do ponto de vista serológico pelos diferentes tipos de polissacarídeos capsulares, os antígenos K (1),(2),(8),(14). O LPS integra a membrana externa de *K. pneumoniae* e é composto pelo Lípido A, através do qual está ancorado na membrana externa, pelo Antígeno O que define o LPS a nível serológico, e pela cadeia polissacarídica central (1),(2),(8),(14). Em relação aos sideróforos, estes são moléculas de baixo peso molecular responsáveis pela absorção e sequestro de Ferro (Fe) do meio envolvente, dada a sua importância para a sobrevivência de *K. pneumoniae* no hospedeiro (2). *K. pneumoniae* é capaz de sintetizar quatro tipos de sideróforos, Enterobactina, Salmochelina, Aerobactina e Yersiniabactina que captam o Fe para o interior da bactéria através dos recetores de recaptção FepA, IroN, IutA e YbtQ, respetivamente (2). As fímbrias, elementos que contribuem para a adesão aos tecidos, órgãos, a outras bactérias e a superfícies, estão ancoradas na membrana externa de *K. pneumoniae*, e consoante as suas características podem ser do tipo I (formadas pelas subunidades FimA, constituinte maioritário, e FimH) ou do tipo

III (compostas pelas subunidades MrkA e MrkD) (2).

5.1 Fatores de Virulência

5.1.1 Cápsula polissacarídica

Uma das características fenotípicas que permite a identificação de *K. pneumoniae* é a observação, *in vitro*, das colônias mucosas que se formam em consequência da presença da CPS (1). Este tipo de colônias favorece o desenvolvimento de biofilmes em dispositivos médicos como cateteres e dispositivos de ventilação mecânica (10).

CPS é uma estrutura de caráter ácido composta por repetições de unidades de açúcar (polissacarídeos) e ácido urônico cuja gênese é assegurada pela família de genes *cps*, que regula a produção e formação da estrutura CPS (2),(8),(15). Existem diferentes tipos de CPS que foram identificados por métodos serológicos aos polissacarídeos capsulares, antigénios K, estando descritos cerca de 79 serotipos capsulares diferentes, os quais se relacionam com o tipo e severidade das infeções (1),(2),(8),(15),(16). Todavia, têm sido aplicadas novas técnicas moleculares de modo a obter descrições mais específicas dos antigénios K, tais como a sequenciação do gene *wzi* (16).

O seu principal contributo para a virulência de *K. pneumoniae* resulta da sua ação enquanto escudo protetor contra as defesas do sistema imunitário aquando da sua entrada no mesmo, facilitando a invasão e colonização de *K. pneumoniae* no hospedeiro (1),(2),(7). Protege dos processos de fagocitose, de opsonização, da ação dos peptídeos antimicrobianos, da atividade do sistema complemento, e salvaguarda também da ligação às células imunes do hospedeiro (1),(2),(7),(15).

Assim, visto o seu contributo decisivo para a virulência, a ausência da CPS ou a existência de má-formações condiciona a sobrevivência de *K. pneumoniae* no hospedeiro, tornando-a mais suscetível às defesas letais do mesmo (15).

5.1.2 Lipopolissacarídeo

LPS é uma estrutura localizada na membrana externa de *K. pneumoniae* que é composta pelo Antígeno O, pela cadeia polissacarídica central e pelo Lípido A, que são codificados pela família de genes *wb*, *waa* e *lpx*, respetivamente (1),(2). Atua como um antigénio, ativando as células imunes do sistema imunitário hospedeiro, o que origina a exacerbação da extensão da resposta imune (1),(2),(8),(15). O seu contributo como fator de virulência advém, por um lado, da atividade de toxina e da capacidade de modificação da estrutura do LPS pelo Lípido A, e por outro, da ação protetora do antigénio O contra a atividade do sistema complemento (1),(2).

A atividade de endotoxina do Lípido A é responsável por determinados processos como a ativação do sistema complemento, a libertação de citocinas e a ativação das reações da cascata inflamatória, que durante a infecção por *K. pneumoniae* originam efeitos sistêmicos como febre, inflamação, leucocitose, choque séptico, e morte (1). Por outro lado, é capaz de alterar a estrutura do LPS para uma conformação distinta da habitualmente reconhecida pelos recetores das células imunes do hospedeiro (2),(17). Desta forma, a sua deteção por parte das mesmas fica limitada, o que se reflete no decréscimo da intensidade e eficácia da resposta inflamatória desenvolvida contra *K. pneumoniae*, assim como na repressão da ação de determinados peptídeos antimicrobianos catiónicos (2),(8),(15),(17).

No que diz respeito ao antigénio O, a sua ligação ao componente C3b do sistema complemento impede que este exerça a sua função de opsonina e agente formador de poros, evitando assim a morte da célula bacteriana (2). A nível serológico estão identificados cerca de 9 tipos de antigénios O, sendo os serotipos O1, O2 e O3 os mais observados nas infeções por *K. pneumoniae* (1),(2),(8),(15),(18). Pode apresentar dois tipos de configurações distintas que influenciam a suscetibilidade à ação do sistema complemento (2). A configuração completa (“smooth LPS”) confere maior resistência à morte pelo sistema complemento, ao invés da configuração em cadeias truncadas ou ausentes (“rough LPS”) que torna *K. pneumoniae* mais vulnerável às defesas do hospedeiro, mesmo na presença da CPS (2).

5.1.3 Fímbrias

As fímbrias são os elementos responsáveis por uma das etapas mais determinantes na instalação e progresso da infecção, a de adesão de *K. pneumoniae* aos epitélios e mucosas do hospedeiro, assim como a determinados dispositivos médicos que estejam em contacto com as mesmas, como cateteres e dispositivos de ventilação mecânica (7),(19). Na membrana externa de *K. pneumoniae* encontram-se ancoradas as fímbrias do tipo I e as do tipo III que apresentam diferentes conformações (2),(7),(19). As fímbrias do tipo I têm a forma de apêndices finos, enquanto as do tipo III têm a forma de dupla hélice (2). É bastante frequente a associação de ambos os tipos de fímbrias às infeções urinárias associadas ao uso de cateteres urinários, dada a sua capacidade de adesão a estes dispositivos médicos (7),(19).

5.1.4 Biofilmes

O biofilme bacteriano providencia algumas das condições necessárias para o crescimento e sobrevivência de *K. pneumoniae* no hospedeiro e em determinados dispositivos médicos, contribuindo para o desenvolvimento de infeções urinárias e respiratórias associadas ao uso de cateteres urinários e dispositivos de ventilação mecânica, respetivamente (2),(14).

A matriz exopolissacarídica do biofilme além de constituir um obstáculo às defesas do sistema imunitário hospedeiro, protege da ação de agentes antimicrobianos, e dificulta a penetração eficaz de alguns produtos desinfetantes utilizados em ambiente hospitalar (10),(14). Para a sua formação contribuem vários elementos, contudo são as fímbrias do tipo III e os polissacarídeos capsulares que recebem maior destaque dado garantirem a estabilidade das ligações adesivas de *K. pneumoniae* e a adequada comunicação entre as bactérias (2),(7).

5.1.5 Sideróforos

O Fe é um dos elementos necessários para o crescimento de *K. pneumoniae*, e como tal, a sua sobrevivência no hospedeiro está, em parte, dependente da sua aquisição (2),(4),(8). A aquisição de Fe é mediada pelos sideróforos, visto serem moléculas com afinidade não só para com o Fe disponível no meio envolvente, mas também para com o Fe ligado à transferrina (2).

K. pneumoniae, durante o desenvolvimento da infeção pode secretar quatro tipos de sideróforos, Enterobactina, Yersiniabactina, Salmochelina e Aerobactina, que intervém de forma própria para a virulência (2),(7),(8). A expressão concomitante dos vários sideróforos viabiliza o êxito do processo de disseminação e infeção de *K. pneumoniae*, retraindo a resposta imune contra ela (2),(7),(8).

5.1.5.1 Enterobactina

Enterobactina é o sideróforo mais secretado por *K. pneumoniae*, é sintetizado no cromossoma bacteriano pela família de genes *entABCDEF*, e a codificação do seu recetor de recaptção pelo gene *fepA*, o qual é regulado de forma positiva durante o processo de infeção por *K. pneumoniae* (2),(7).

No entanto, aquando da infeção, a ação deste sideróforo é anulada pela proteína Lipocalina-2 que é libertada pelas células imunes do hospedeiro como os neutrófilos, e é também responsável pelo recrutamento de substâncias pró-inflamatórias para o local da infeção (2),(7),(8),(20). Lipocalina-2 ao neutralizar a ação da Enterobactina impede que esta adquira o Fe, colocando em causa a sobrevivência e o crescimento de *K. pneumoniae* no hospedeiro (7),(8),(20) Assim, as estirpes de *K. pneumoniae* que apenas sintetizam este sideróforo perdem parte da sua capacidade de virulência e são eliminadas de forma mais fácil (2),(8). Logo, é fundamental a produção de outros sideróforos resistentes à ação da Lipocalina-2 (2),(7),(8).

5.1.5.2 Salmochelina

O sideróforo Salmochelina resulta de uma alteração do sideróforo Enterobactina, correspondendo à forma c-glicosilada da molécula Enterobactina (2),(7),(8). Esta alteração garantiu a capacidade de virulência de *K. pneumoniae* visto impedir a ligação da Lipocalina-2 à Salmochelina, assim como da indução de um estado inflamatório (2),(7),(8),(20).

5.1.5.3 Yersiniabactina

O sideróforo Yersiniabactina é nativo do género *Yersinia*, porém através dos elementos genéticos móveis foi adquirido por *K. pneumoniae* (7),(21). A sua taxa de produção por Hypervirulent *K. pneumoniae* é mais elevada quando comparada por *K. pneumoniae*, 90% e 18%, respetivamente, contudo, é bastante expressa por *K. pneumoniae* quando em conjunto com Enterobactina no trato respiratório (2).

Mostra-se resistente à ação da Lipocalina-2, e é frequente a sua expressão durante infeções pulmonares, contudo perante a presença da transferrina na corrente sanguínea é incapaz de adquirir Fe, o que limita a disseminação de *K. pneumoniae* além dos pulmões (2),(21).

5.1.5.4 Aerobactina

A produção do sideróforo Aerobactina por *K. pneumoniae* não é muito frequente, porém Hypervirulent *K. pneumoniae* apresenta uma taxa de produção entre 93% e 100%, sendo assim um fator associado à virulência da estirpe Hypervirulent *K. pneumoniae* (2).

5.1.6 Outros fatores de virulência

O estudo contínuo dos mecanismos de virulência de *K. pneumoniae* tem possibilitado a descoberta do contributo para a virulência de outros constituintes bacterianos, como de determinadas proteínas da membrana externa, como a OmpA, algumas porinas como a OmpK35 e OmpK36, bem como de bombas de efluxo como a AcrAB (2),(7),(8). No entanto, o contributo e os mecanismos pelos quais o exercem ainda requerem estudos mais profundos (2).

6. *K. pneumoniae* e a resistência aos antimicrobianos

6.1 MDR, Extremely Drug Resistant e mecanismos de disseminação

K. pneumoniae é um dos agentes patogénicos nosocomiais mais prevalentes que tem manifestado uma resistência crescente às diversas terapêuticas antimicrobianas instituídas, o que lhe confere a designação de MDR e limita a eficácia das terapêuticas antimicrobianas disponíveis, originando infeções com elevadas taxas de mortalidade e morbidade associadas

(6),(22). Um dos principais intervenientes para esta situação é o resistoma, que é o conjunto dos genes que codificam os mecanismos de resistência a antimicrobianos (10),(22). Estes genes são identificados como *Antibiotic Resistance Genes* (ARGs) e podem estar presentes no cromossoma bacteriano, ou serem adquiridos pelos elementos genéticos móveis (22). O conjunto de genes de resistência adquiridos através de elementos genéticos móveis constitui o mobiloma (22).

A pressão seletiva decorrente do uso de antimicrobianos aliada aos mecanismos de disseminação multifatorial como a aquisição e acumulação de novos ARGs, bem como a ocorrência de mutações cromossómicas são fatores que se mostram cruciais para o desenvolvimento do perfil de resistência antimicrobiana de *K. pneumoniae* (Figura 2) (7),(10),(22). De igual modo, a aquisição de múltiplos genes de resistência por intermédio do mobiloma, resulta no aumento da dimensão e da constituição do resistoma, concedendo à *K. pneumoniae* o perfil de agente patogénico *Extremely Drug Resistant* (XDR), tornando-se cada vez mais difícil o controlo da disseminação das resistências (8),(10),(22).

A transmissão e disseminação da resistência de *K. pneumoniae* MDR e XDR acontece de forma rápida e facilitada tanto em ambiente hospitalar como fora dele através de diferentes vias (Figura 2) (10),(22),(23). Entre elas, o contacto direto entre os pacientes e os profissionais de saúde e auxiliares; a capacidade de *K. pneumoniae* sobreviver nas superfícies hospitalares e em dispositivos médicos; o tempo de hospitalização, que quanto mais longo for maior é a probabilidade de desenvolvimento de infeção, sendo também um elo de ligação entre a disseminação em ambiente hospitalar e fora dele; a colonização assintomática no TGI que demonstrou ser um fator de risco para o posterior desenvolvimento da infeção, assim como da transmissão interpessoal; a colonização ubíqua no meio ambiente; as viagens de trabalho assim como as turísticas a locais endémicos desta bactéria representam um risco elevado de transmissão desta infeção; a transmissão entre seres humanos e animais, que pode resultar da partilha de algumas bactérias entre ambos assim como pela pressão seletiva resultante do uso de antimicrobianos nos regimes alimentares dos animais (6),(22),(23).

Em consequência às evidências descritas, *K. pneumoniae* manifesta resistência às principais classes antimicrobianas usadas no seu tratamento, as quais são os β - lactâmicos, aminoglicosídeos, quinolonas, polimixinas e gliciliclinas (6),(7),(8),(14),(22),(23).

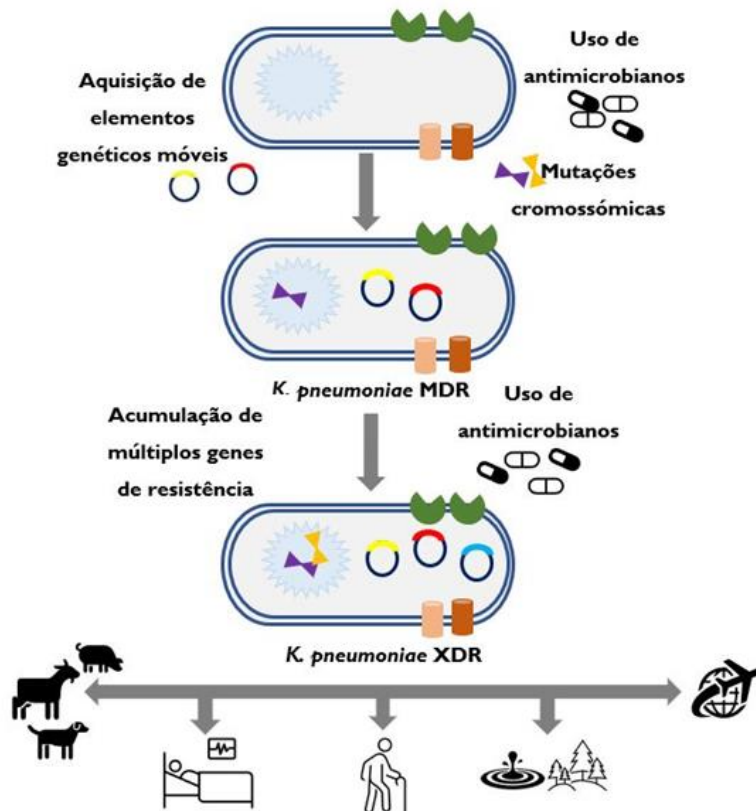


Figura 2 - Fatores que contribuem para o desenvolvimento da resistência aos agentes antimicrobianos e mecanismos de disseminação da resistência. O desenvolvimento das características de MDR e XDR de *K. pneumoniae* resulta do contributo de vários fatores. Estas podem ser transmitidas e disseminadas em ambiente hospitalar e fora dele através de diferentes vias, tais como, o contacto interpessoal, o contacto com superfícies e dispositivos hospitalares, o contacto com a natureza e animais, realização de viagens, e pela colonização no TGI. Adaptado de: (22).

6.2 Resistência aos β -lactâmicos

Os β -lactâmicos são a classe de antimicrobianos mais usada e prescrita a nível clínico, cujo mecanismo de ação consiste na inibição da síntese de um dos componentes da parede celular, o peptidoglicano (14). Este mecanismo é conseguido através da ligação do β -lactâmico às “proteínas de ligação à penicilina” (*Penicillin-Binding Proteins* – PBPs) presentes no folheto exterior da membrana citoplasmática, da qual resulta a inibição da síntese do peptidoglicano e a ativação das autolisinas que degradam a parede celular, causando a morte da célula bacteriana (14),(22). Perante a utilização destes agentes farmacológicos, *K. pneumoniae* desenvolveu estratégias que a permitiram desenvolver resistência à ação dos mesmos, tais como, através da diminuição da concentração do agente antimicrobiano no local alvo, da diminuição da ligação entre o agente antimicrobiano e as PBPs, e da hidrólise do agente antimicrobiano pelas enzimas β -lactamases (10),(14),(22).

A diminuição da concentração do agente no local alvo na membrana citoplasmática é um mecanismo de resistência conseguido por um lado pela alteração da configuração das porinas, que dificulta a entrada das moléculas antimicrobianas, e por outro através das bombas de efluxo, que restringem a entrada das moléculas antimicrobianas na célula bacteriana (10), (14),(22).

6.2.1 β -lactamases

As enzimas β -lactamases constituem o principal mecanismo responsável pela resistência aos β -lactâmicos, e são as responsáveis pela hidrólise do anel β -lactâmico, inibindo a ação dos β -lactâmicos (14),(22),(24). Podem ser produzidos diferentes tipos de β -lactamases que diferem entre si no seu espectro de ação, consoante o qual conferem resistência a diferentes β -lactâmicos (14),(24).

No caso de *K. pneumoniae*, a primeira β -lactamase identificada foi a SHV-I, que devido a ser codificada no cromossoma pelo gene *core bla_{SHV-I}* confere resistência intrínseca à ampicilina (7),(22),(23).

6.2.2 Extended – Spectrum β -lactamases

A captação por elementos genéticos móveis das β -lactamases e a ocorrência de mutações pontuais nos genes produtores das mesmas são dois fatores que promovem o aparecimento das enzimas *Extended-Spectrum β -Lactamases* (ESBLs) (7),(22),(23). São geralmente mediadas por plasmídeos, o que facilita a sua transmissão entre bactérias promovendo assim a disseminação deste mecanismo de resistência (7),(23).

O primeiro gene codificador de ESBLs detetado em *K. pneumoniae* foi o gene *bla_{SHV-2}* que deriva do gene *bla_{SHV-1}* (22).

As ESBLs exibem um espectro hidrolítico mais alargado que lhes confere resistência às cefalosporinas de 3^a geração e aos monobactâmicos (8),(22).

6.2.3 Cefalosporinases

As β -lactamases do tipo AmpC, também designadas por cefalosporinases são codificadas por genes presentes nos plasmídeos de *K. pneumoniae* e conferem maior resistência às penicilinas, aos inibidores das β -lactamases, à 3^a geração de cefalosporinas, assim como a alguns carbapenemos quando em conjunto com a ação das bombas de efluxo e/ou com a ocorrência de alterações nas porinas (8),(14),(22).

6.2.4 Carbapenemases

Para o tratamento das infecções causadas por *K. pneumoniae* produtora de ESBLs, os carbapenemos são a terapêutica escolhida (8). Em consequência a esta pressão seletiva, surgiram as carbapenemases, β -lactamases capazes de hidrolisar todos os β -lactâmicos e os carbapenemos de última linha (22),(23). O mecanismo de resistência aos carbapenemos mais preocupante deve-se à ação das carbapenemases do tipo KPC visto serem capazes de hidrolisar todas as classes de cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenemos, limitando as opções terapêuticas eficazes (8),(24),(25).

Por outro lado, a resistência a esta classe de antimicrobianos também pode resultar de alterações nas porinas e/ou da produção aumentada de bombas de efluxo (8). Nos quadros clínicos de agentes patogénicos resistentes aos carbapenemos, as alternativas terapêuticas resumem-se a alguns aminoglicosídeos, quinolonas, polimixinas e gliciliclinas (22).

6.3 Resistência aos aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são uma classe de antimicrobianos bactericidas que se ligam de forma irreversível às proteínas da subunidade ribossómica 30S, impedindo a síntese proteica (10),(14). Apesar da sua utilização ter sido substituída pelas cefalosporinas de 3ª geração, carbapenemos e fluorquinolonas, o seu tempo de uso foi o suficiente para que *K. pneumoniae* desenvolva-se resistência (10),(22). Um dos principais mecanismos de resistência desenvolvidos consiste na alteração, em diferentes locais, da molécula do aminoglicosídeo mediante modificações enzimáticas que causam a sua inativação (22).

Os mecanismos de resistência mediados pelos plasmídeos resultam da produção da enzima 16S rRNA metilase, que impede a ligação do aminoglicosídeo ao seu alvo, o RNA ribossómico (rRNA) 16S, inibindo assim a sua ação (10),(14),(22).

A nível cromossómico, a alteração da permeabilidade celular aos aminoglicosídeos consequente das modificações nas porinas e nas bombas de efluxo manifesta-se com diferentes extensões, enquanto as modificações na bomba de efluxo AcrAB-TolC tornam *K. pneumoniae* mais suscetível à ação da tobramicina e da gentamicina, a perda da porina KpnO favorece a resistência à tobramicina, estreptomicina e espectinomicina (10),(22).

6.4 Resistência às quinolonas

O mecanismo de ação das quinolonas baseia-se na sua ligação às topoisomerasas bacterianas, impedindo que as mesmas desempenhem as suas funções de forma correta nos processos de replicação do DNA bacteriano (10),(14),(22).

Um dos mecanismos de resistência desenvolvido consiste na ocorrência de mutações cromossômicas nos alvos de ligação das quinolonas, ou seja, nas subunidades *gyrA* e *gyrB* da topoisomerase II, e nas subunidades *parC* e *parE* da topoisomerase do tipo IV (10),(22). As alterações na permeabilidade celular de *K. pneumoniae* consequentes do aumento da expressão da bomba de efluxo AcrAB, da partilha da bomba de efluxo OqxAB, e da perda da porina OmpK36 demonstraram também contribuir para a resistência (10),(22). Além destes mecanismos, foi também revelado o contributo do grupo de genes *qnr*, que codificam proteínas que protegem as topoisomerasas do tipo II e do tipo IV, impedindo a ligação das quinolonas a estas, inibindo assim a sua ação (10),(22).

6.5 Resistência às polimixinas

As polimixinas atuam na integridade da membrana externa, alterando-a através da modificação da carga iónica membranar por intermédio do deslocamento dos catiões Ca^{2+} e Mg^{2+} , o que permite a sua ligação direta ao LPS, causando a lise da célula bacteriana (10),(22),(26).

O uso clínico desta classe de antimicrobianos em seres humanos é restrito devido à neurotoxicidade e toxicidade renal a ela associada, contudo face às crescentes resistências aos carbapenemos foi necessário retomar o uso da colistina, o que por sua vez ocasionou o aparecimento de resistência simultânea aos carbapenemos e à colistina (8),(22),(26).

Um dos mecanismos de resistência consiste na alteração do LPS, através de mecanismos cromossômicos de forma a diminuir a sua carga aniónica, dificultando a ligação das polimixinas (10),(22). Uma vez que a CPS envolve a membrana externa, consegue proteger algumas moléculas catiónicas presentes na membrana externa, diminuindo a ligação das polimixinas (10),(22). De outra forma, também a produção aumentada da bomba de efluxo AcrAB-TolC contribui para o desenvolvimento de resistência (10),(22).

6.6 Resistência à tigeciclina

Tigeciclina, pertence à classe das gliciliclinas e tem sido usada desde 2005 contra infeções por *K. pneumoniae*, dado ser eficaz mesmo contra estirpes produtoras de ESBLs e em casos de resistências às tetraciclinas (10),(22). Porém, após a sua introdução clínica, a suscetibilidade a este agente antimicrobiano tem vindo a diminuir (10),(22).

As vias subjacentes a esta resistência são codificadas a nível cromossómico e consistem nas alterações dos alvos, ou seja, das subunidades ribossómicas bacterianas 30S e 16S, assim como através de alterações na permeabilidade celular por intermédio do aumento da

produção das bombas de efluxo AcrAB-TolC e OqxAB, e pela diminuição da transcrição do gene codificador da porina OmpK35 (10),(22),(27).

7. Dados estatísticos em Portugal e medidas de prevenção da resistência a antimicrobianos

Face às consequências preocupantes e alarmantes da crescente virulência e resistência que culminam na escassez de opções terapêuticas eficazes e viáveis, vários têm sido os recursos mobilizados no sentido de se definirem medidas de controlo e prevenção deste problema de saúde que se manifesta a nível global.

Uma dessas estratégias, delineada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) consistiu na redação de um documento no qual estão mencionadas, por prioridade, as bactérias que manifestam resistência aos antimicrobianos (28). Este documento visa o incentivo ao estudo e desenvolvimento de novos antimicrobianos (28). No referido documento, *K. pneumoniae* ocupa o primeiro lugar, que diz respeito às bactérias consideradas “críticas”, para as quais as opções terapêuticas são cada vez mais escassas e ineficazes e o desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos é urgente (28).

De facto, os dados reportados pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge do estudo realizado entre 2015 e 2019 referentes à análise da evolução (em percentagem, (%)) da resistência às classes de antimicrobianos, 3^a geração de cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima), aos carbapenemos (imipenemo, meropenemo), fluorquinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina, ofloxacina), aminoglicosídeos (gentamicina, netilmicina, tobramicina) e resistência combinada às classes mencionadas, evidenciada por *K. pneumoniae*, demonstrou uma tendência crescente destas resistências, como se pode verificar na Figura 3 (29).

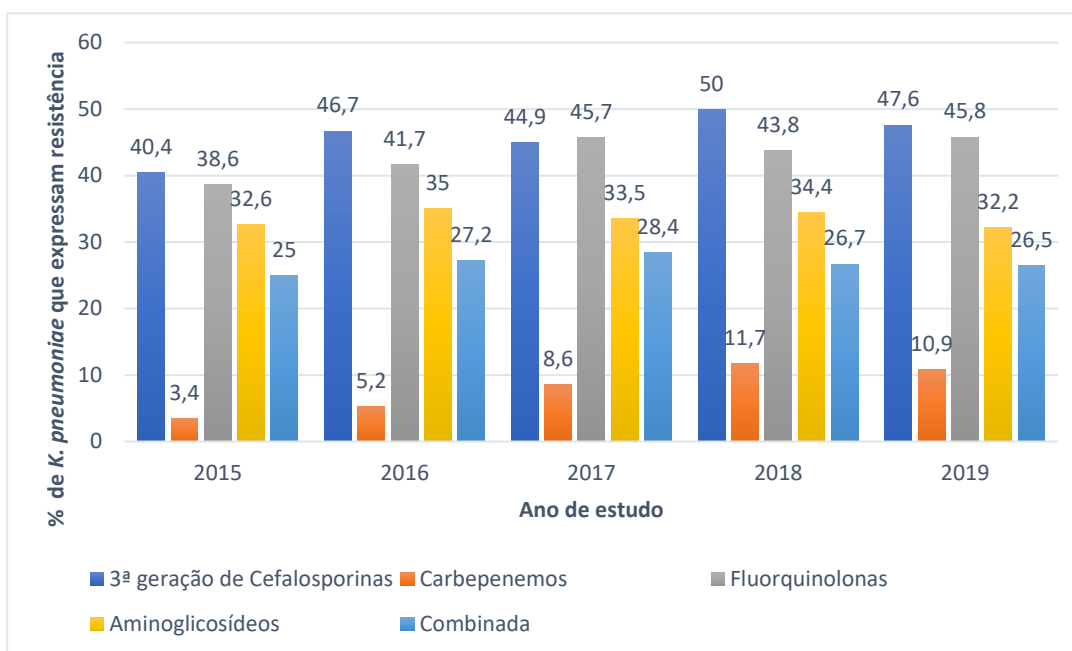


Figura 3 – Registo da evolução da resistência por *K. pneumoniae* a determinadas classes antimicrobianas, entre 2015 e 2019. O eixo das abcissas corresponde aos anos respetivos do registo dos dados. O eixo das ordenadas corresponde à percentagem (%) de isolados de *K. pneumoniae* resistentes às classes de antimicrobianas estudadas neste estudo. Os dados inseridos no gráfico são referentes ao estudo realizado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

Por conseguinte, e de acordo com os objetivos e medidas que constam no “Plano Nacional de Combate à Resistência aos Antimicrobianos 2019–2023” uma das metas a alcançar até ao ano de 2023 é que a resistência aos carbapenemos atinja valores inferiores a 15% (30). Para tal, é necessária a implementação e o cumprimento das medidas descritas no plano mencionado e nas *Guidelines* Europeias que visam o controlo da disseminação de *K. pneumoniae*, tais como, implementação de programas educativos sobre a forma correta de higienização das mãos; das precauções a ter aquando do contacto entre doentes e profissionais de saúde em ambiente hospitalar, sendo recomendado o uso de luvas e fatos descartáveis; a instalação de doentes colonizados ou infetados por estirpes de *K. pneumoniae* MDR em quartos isolados; limpeza e desinfeção do meio ambiente (30),(31). Outra recomendação consiste na vigilância microbiológica que pode ser instituída através da criação de uma base de dados com a identificação do paciente, ou grupos de pacientes colonizados ou infetados por estirpes de *K. pneumoniae* que além das informações clínicas, estariam programadas para a geração de alarmes de forma a implementar precocemente as medidas de controlo recomendadas (6),(31).

8. Novos antimicrobianos

A determinação de um regime terapêutico antimicrobiano para as infecções causadas por *K. pneumoniae*, em particular para as infecções por *K. pneumoniae* MDR, é sempre um desafio para os clínicos, devido às particularidades de cada paciente, do tipo de infecção, da sua localização, do seu estadió e das complicações associadas (6). Assim, os regimes terapêuticos implementados podem ser sujeitos a ajustes consoante a evolução do quadro clínico dos pacientes, visando resultados mais eficazes (6). Um desses ajustes consiste no uso combinado de antimicrobianos (Tabela I), que apesar de ter obtido resultados encorajadores em algumas situações, ainda não estão esclarecidos quais os fármacos que devem ser combinados e em que fase da infecção (6). Além disto, o uso combinado acarreta alguns riscos como infecção por *Clostridium difficile* e nefrotoxicidade (6).

De outra forma, têm sido desenvolvidos novos agentes antimicrobianos destinados ao tratamento de infecções por *K. pneumoniae* MDR (Tabela I) (6).

Tabela I – Aplicação de novos agentes antimicrobianos nas várias infecções causadas por *K. pneumoniae* MDR (6).

Agente antimicrobiano	Classe terapêutica	Tipo de infecções
Ceftazidima - Avibactam	Cefalosporina de 3ª geração - Inibidor de β -lactamases	<ul style="list-style-type: none">➤ Infecções intra-abdominais➤ Pneumonia adquirida em hospitais/ associada a ventilação mecânica➤ ITU agravada
Meropenemo - Vaborbactam	Carbapenemo - Inibidor de β -lactamase	<ul style="list-style-type: none">➤ ITU agravada
Imipenemo - Relebactam		<ul style="list-style-type: none">➤ ITU agravada➤ Infecção abdominal agravada
Plazomicina	Aminoglicosídeo	<ul style="list-style-type: none">➤ Septicémia➤ Pneumonia➤ ITU agravada
Cefiderocol	Cefalosporina siderófora	<ul style="list-style-type: none">➤ Septicémia➤ Pneumonia adquirida em hospitais➤ ITU agravada
Eravaciclina	Tetraciclina	<ul style="list-style-type: none">➤ Infecção abdominal agravada➤ ITU agravada
Nacubactam	Inibidor de β -lactamases	<ul style="list-style-type: none">➤ Septicémia
ETX2514		<ul style="list-style-type: none">➤ ITU agravada
Aztreonam - Avibactam	Monobactâmico - Inibidor de β -lactamases	<ul style="list-style-type: none">➤ Pneumonia adquirida em hospitais/ associada a ventilação mecânica

9. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*

9.1 Caracterização

Entre 1980 e 1990 na região de Taiwan na Ásia o registo de determinadas características observadas em alguns quadros clínicos infecciosos cujo agente etiológico apontado havia sido *K. pneumoniae*, suscitou a curiosidade e a apreensão dos clínicos, dada as suas diferenças em relação às infeções por *K. pneumoniae* (Tabela II) (8),(32),(33). Os clínicos estavam assim perante os primeiros casos de manifestação da nova estirpe de *K. pneumoniae*, Hypervirulent *K. pneumoniae*, que rapidamente emergiu a nível global (4),(8),(32).

Uma das características que facilitam a identificação de Hypervirulent *K. pneumoniae* é o seu fenótipo hiper mucoviscoso que pode ser comprovado através da realização do *String test* (34). O resultado positivo é obtido quando ao arrastar as colónias bacterianas com o auxílio de uma ança ou de um fio direito há a formação de um filamento de carácter viscoso de comprimento igual ou superior a 5 milímetros (34). No entanto, esta característica não é suficiente para a identificação deste agente patogénico como responsável pela infeção, é necessária a identificação e definição de outros fatores para a obtenção do correto diagnóstico (4),(5).

Hypervirulent *K. pneumoniae* apesar de ser capaz de infetar indivíduos imunocomprometidos e/ou com comorbilidades associadas, são os indivíduos saudáveis e jovens o seu principal alvo, sendo a sua disseminação mais frequente entre a população (4),(5),(32),(35). Origina infeções de carácter invasivo que atingem vários órgãos e tecidos, principalmente através da corrente sanguínea, sendo as mais observadas, abscessos piogénicos hepáticos, abscessos não hepáticos, pneumonias, endoftalmites, meningites e fascite necrosante (4),(5),(32),(33),(35).

Tabela II- Diferenças entre Hypervirulent *K. pneumoniae* e *K. pneumoniae* (4),(5),(32),(33).

Condições	Estirpe bacteriana	
	<i>K. pneumoniae</i>	Hypervirulent <i>K. pneumoniae</i>
Local de transmissão e disseminação	Hospitais Unidades de prestação de cuidados de saúde	População
Tipo de hospedeiro	Imunocomprometidos e/ou com comorbilidades associadas	Principalmente jovens e saudáveis
Tipo de infecções	Pneumonia ITU Septicémia	Abcessos piogénicos hepáticos Pneumonias ITU Septicémias Endoftalmites Meningites Abcessos cerebrais Fascite necrosante
Grupo étnico	Sem relação	Continente asiático
Número de infecções	Geralmente infecção única	Múltiplos locais de infecção

9.2 Crescimento e Virulência

Hypervirulent *K. pneumoniae* possui um fenótipo e genótipo mais virulento quando comparado com *K. pneumoniae*, que conferem uma proteção mais eficaz contra as defesas do sistema imunitário hospedeiro (4),(5),(8),(32). As propriedades responsáveis por esta capacidade de hipervirulência resultam de mecanismos como a obtenção de genes de virulência através de elementos genéticos móveis, em especial plasmídeos, e podem ser usadas para a distinção entre as estirpes (4),(32).

Alguns dos fatores de virulência são, a produção da “hipercápsula”, produção de sideróforos e da colibactina (4),(5),(8),(32),(33).

9.2.1 “Hipercápsula”

Na sua constituição, Hypervirulent *K. pneumoniae* possui uma “hipercápsula” que além de conferir o fenótipo hipermucoso, que por si só já contribui para o aumento da virulência,

confere uma proteção mais eficaz e completa contra os processos fagocíticos e de morte celular pelos neutrófilos e macrófagos, da ação do complemento e da atividade de alguns peptídeos antimicrobianos (4),(5),(8),(32). A presença deste elemento diminui a capacidade defensiva do sistema imunitário hospedeiro devido a estratégias como, a diminuição das espécies reativas de oxigênio libertadas pelos neutrófilos e diminuição da ligação dos macrófagos e de outras células do sistema imunitário às bactérias (32). Segundo a classificação serológica dos polissacarídeos capsulares, os antígenos K1 e K2 são os mais associados à Hypervirulent *K. pneumoniae* (4),(5),(32).

9.2.2 Plasmídeo com genes de virulência

Hypervirulent *K. pneumoniae* possui na sua constituição dois plasmídeos com genes de virulência, o plasmídeo pK2044 e o pLVPK, semelhantes entre si que podem ser usados para a detecção clínica desta estirpe bacteriana (4),(5),(32). Estes plasmídeos são responsáveis pelo transporte de determinados genes de virulência como, *iuc*, *iro*, *rmpA*, *rmpA2*, *peg-344* que codificam alguns dos elementos essenciais para a hipervirulência (4),(5),(32). Por conseguinte, a perda ou má-formações em algum destes plasmídeos resulta no decréscimo da capacidade de virulência (4),(5).

9.2.2.1 *rmpA* e *rmpA2*

Os genes *rmpA* e *rmpA2* regulam a produção da CPS, contribuindo para o aumento da sua produção, resultando na formação de uma “hipercápsula” que exerce as funções da CPS de forma mais eficiente, tal como mencionado anteriormente, conferindo assim uma proteção mais eficaz à Hypervirulent *K. pneumoniae* contra as defesas do hospedeiro (4),(5),(32),(37).

Por outro lado, favorece a formação de biofilmes tanto em tecidos e órgãos como em dispositivos médicos e superfícies, devido ao seu contributo para o fenótipo hiper mucoviscoso (4),(5),(32),(37).

9.2.2.2 *iuc*

O gene *iuc* codifica o sideróforo Aerobactina que é o sideróforo com maior expressão na estirpe Hypervirulent *K. pneumoniae* (2),(5),(38), cuja função de aquisição de Fe é essencial para a sua sobrevivência no hospedeiro (2),(38).

9.2.3 ICEs

Além dos plasmídeos com genes de virulência, também os ICEs desempenham um papel fundamental na aquisição de diversos genes de virulência, como os genes de síntese do

sideróforo Yersiniabactina, os genes de síntese do sideróforo Aerobactina (ICEKp1), o gene *rmpA* (ICEKp1) e os genes de síntese da colibactina (ICEKp10) (4),(5),(39).

A integração destes elementos em Hypervirulent *K. pneumoniae* ocorre em determinados locais do RNA de transferência (5).

9.2.4 Colibactina

Colibactina resulta do metabolismo secundário de determinadas enzimas como as sintetases de peptídeos não ribossômicos (4),(5),(7),(32). É responsável por causar danos no DNA das células hospedeiras, através da interrupção do ciclo celular das mesmas, o que culmina na morte da célula hospedeira (4),(5),(7),(32). Em consequência, Hypervirulent *K. pneumoniae* consegue invadir o hospedeiro de forma mais fácil, porém, o mecanismo exato subjacente ao seu contributo para a virulência ainda não está totalmente esclarecido (4).

9.3 Colonização intestinal e disseminação de Hypervirulent *K. pneumoniae*

A colonização por Hypervirulent *K. pneumoniae* no TGI é, por um lado uma das principais fontes de disseminação e transmissão desta bactéria tanto em ambiente hospitalar como entre a população, pois facilita a contaminação de águas e/ ou alimentos e a transmissão interpessoal (4),(5),(8). Por outro lado, permite também a disseminação para outros órgãos e tecidos (4),(8).

No âmbito de estabelecer uma associação entre a colonização intestinal e o posterior desenvolvimento da infeção foram realizados estudos que se basearam na análise da microbiota intestinal de pacientes oriundos de regiões endémicas desta bactéria, como Taiwan e Coreia (4). A discussão dos resultados obtidos demonstrou que a colonização intestinal representa um risco bastante acrescido para o posterior desenvolvimento de infeção (4).

9.4 Convergência da hipervirulência com a resistência aos antimicrobianos

Apesar da elevada virulência de Hypervirulent *K. pneumoniae*, a sua capacidade de resistência aos antimicrobianos não é significativa, sendo suscetível às diferentes opções terapêuticas disponíveis (4),(8). Contudo, alguns dos membros da estirpe Hypervirulent *K. pneumoniae* desenvolveram características de resistência aos antimicrobianos através da aquisição de genes de resistência por intermédio de plasmídeos e/ou ICEs, assim como pela ocorrência de mutações em genes cromossómicos (5). Por outro lado, a aquisição do plasmídeo com genes de virulência de Hypervirulent *K. pneumoniae* por estripes de *K. pneumoniae* MDR e XDR demonstrou ser um processo promotor das propriedades de

resistência (5). Estas bactérias mostraram-se resistentes a várias classes de antimicrobianos (4),(5),(8).

A coapresentação de um fenótipo de hipervirulência e resistente aos antimicrobianos é uma situação bastante preocupante, pois implica a redução drástica das opções terapêuticas viáveis, e aumenta as taxas de mortalidade e morbidade associadas às infecções (8).

9.5 Infecções e métodos de tratamento

As infecções causadas por Hypervirulent *K. pneumoniae* podem-se instalar em múltiplos locais no organismo humano, como o olho, os pulmões e o Sistema Nervoso Central (SNC) (4),(5). Os sinais e sintomas reportados não são específicos das infecções por este agente patogénico e variam consoante o local em que se desenvolveu a infecção, sendo os mais comuns febre, dor abdominal, arrepios, vômitos e náuseas (5). No caso das infecções oculares é frequente queixas de dor na região ocular, vermelhidão na região envolvente e visão turva, e no caso de infecções no SNC é comum a visão turva e estados de confusão (5).

Dada a complexidade e rápido agravamento dos quadros clínicos destas infecções é crucial a implementação o mais precoce possível de um regime antimicrobiano o mais adequado e eficaz possível (4),(5),(32). A terapêutica antimicrobiana implementada varia consoante o local de desenvolvimento e as manifestações da infecção (4),(5).

Nas infecções desenvolvidas na região abdominal, como é o caso dos abscessos piogénicos hepáticos, os abscessos esplénicos, e, menos frequente, as afeções renais, a terapêutica antibacteriana consiste em agentes β -lactâmicos, alguns em associação com inibidores das β -lactamases, fluorquinolonas e aminoglicosídeos (4),(5). Contudo, os carbapenemos apenas devem ser usados nas situações em que existe a suspeita que as estirpes colonizadoras são produtoras de ESBLs, e os aminoglicosídeos apenas devem ser considerados em terapia combinada (4),(5). As opções terapêuticas descritas são também consideradas para o tratamento de pneumonias, enfisemas e abscessos pulmonares (4),(5).

Em relação às infecções oculares, como as endoftalmites, o regime de tratamento consiste na combinação de terapêuticas intravenosas, geralmente cefalosporinas, com terapêuticas intravítreas como cefazolina, ceftazidima, aminoglicosídeos e imipenemo (4),(5),(40). De forma complementar, podem ser usados esteroides de uso intraocular (4),(5),(40).

Nas infecções desenvolvidas no SNC, como as meningites e os abscessos cerebrais, as opções terapêuticas escolhidas são a ceftriaxona e o meropenemo (4),(5).

10. Métodos de diagnóstico

Embora já exista um conhecimento científico bastante fundamentado acerca das características de Hypervirulent *K. pneumoniae*, os métodos de diagnóstico microbiológico ainda possuem algumas lacunas que impedem a distinção integral entre os isolados de *K. pneumoniae* e os de Hypervirulent *K. pneumoniae* (5). Por outro lado, em estados infecciosos de indivíduos imunocomprometidos e/ou com comorbilidades associadas, o diagnóstico ainda se torna mais dificultado devido às inúmeras opções de bactérias patogênicas que possam estar a colonizar o hospedeiro (5). Contudo, face às características invasivas das infecções, e à dificuldade de tratamento, bem como para fins de monitorização clínica, a realização de um diagnóstico o mais precoce possível seria de extrema importância e utilidade (4).

Além da identificação da estirpe colonizadora, o teste ou exame de diagnóstico indicava a necessidade da realização de testes complementares que permitem a confirmação do diagnóstico inicial bem como a detecção de outros locais de infecção (5). Uma dessas situações prende-se com as endoftalmites, em que a infecção ocular pode não ser detetada na fase inicial, mas a rápida disseminação da infecção causa danos nos tecidos oculares que podem resultar na perda de visão (5),(40).

Dois métodos de diagnóstico têm sido estudados, a identificação microbiológica e a identificação radiográfica (5).

10.1 Identificação microbiológica

Atualmente, ainda não existe nenhum teste de identificação de estirpes de Hypervirulent *K. pneumoniae* aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), contudo a sua elaboração é possível (5). O fundamento deste teste seria a determinação e análise dos elementos responsáveis pelas diferenças fenotípicas e genotípicas entre as estirpes (5). Assim, deve ser considerada a realização de um *String test*, a avaliação da produção dos sideróforos e a identificação dos biomarcadores, *iuc*, *rmpA*, *rmpA2*, *peg-344*, *iroB* (5). As técnicas auxiliares usadas neste tipo de identificação são a técnica *Polymerase Chain Reaction* (PCR) e *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight* (MALDI-TOF) (5),(41),(42).

10.2 Identificação radiográfica

As infecções resultantes de Hypervirulent *K. pneumoniae* podem alojar-se em diferentes locais, cuja localização pode ser conhecida pelos sinais e sintomas, ou ser desconhecida (5). Deste modo, a realização de exames radiográficos como tomografia computadorizada ou ressonância magnética, mostra-se muito útil, pois proporcionam aos clínicos uma visão abrangente da extensão do quadro infeccioso, permitindo um controlo e tratamento da mesma

mais rápido e eficaz (4),(5). Estes exames são fundamentais quando a infeção está presente em tecidos ou órgãos em que a definição do esquema bacteriano tem de ser constantemente avaliada, como é o caso das infeções no SNC, e nos tecidos oculares (4),(5).

II. Novos métodos de tratamento

II.1 Transplante da microbiota intestinal

A técnica do transplante da microbiota intestinal é uma técnica recente, que foi usada pela primeira vez em infeções por *Clostridium difficile* (6),(43). Dados os seus resultados favoráveis, e visto que a microbiota intestinal é o local preferencial da colonização de *K. pneumoniae* e Hypervirulent *K. pneumoniae*, alguns investigadores sugeriram a aplicação desta técnica a doentes colonizados e / ou infetados com estirpes de *K. pneumoniae* MDR (6). Assim, os estudos efetuados demonstraram uma redução bastante significativa dos níveis de colonização logo após o primeiro tratamento, sendo este decréscimo mais acentuado nos casos em que não havia sido administrado nenhum antimicrobiano (6),(43). Os efeitos adversos manifestados pelos indivíduos não foram muito extensos, incluíram vômitos e diarreias temporárias, contudo para indivíduos imunocomprometidos esta via não parece ser a mais indicada (6).

II.2 Imunoterapia

A imunoterapia tem sido encarada como um método promissor para o tratamento e profilaxia das infeções por *K. pneumoniae* e Hypervirulent *K. pneumoniae* (2),(4),(5). Esta abordagem pode ser aplicada através de duas vertentes, da imunidade ativa ou da imunidade passiva (15),(44).

A imunidade passiva consiste na utilização de anticorpos específicos, nomeadamente os anticorpos monoclonais (mAB) dirigidos aos antígenos bacterianos, como os polissacarídeos capsulares e o antígeno O (15). Apesar de a proteção ser de carácter temporário, esta abordagem demonstrou resultados eficazes contra os antígenos da CPS e do antígeno O (15), (44). Em contraste, a imunidade ativa, obtida através da vacinação do hospedeiro com antígenos bacterianos específicos, como os polissacarídeos capsulares, permite que o sistema imunitário hospedeiro desenvolva mecanismos de proteção que lhe conferem uma proteção mais duradoura (15),(44).

Ainda não existe nenhuma vacina aprovada pela FDA nem para o tratamento nem para a profilaxia das infeções por *K. pneumoniae* e Hypervirulent *K. pneumoniae* (15),(44). Este facto deve-se às dificuldades do seu desenvolvimento, não só devido à diversidade e complexidade dos alvos antígenos polissacarídeos capsulares, mas também porque as respostas de anticorpos induzidas pelos polissacarídeos são independentes das células T, o que restringe a

memória imunológica (44). Todavia, no caso da estirpe Hypervirulent *K. pneumoniae*, visto que os polissacarídeos capsulares resumem-se ao K1 e K2, a produção de uma vacina seria mais viável (15),(44). Esta seria uma vacina glicoconjugada bivalente, produzida através da técnica de bioconjugação, usada como profilaxia destas infeções, sendo que dado ser glicoconjugada estimula a memória imune das células T (44).

12. Conclusão

K. pneumoniae é considerada um dos principais agentes patogénicos nosocomiais que tem ganho notabilidade clínica devido às suas características de virulência e resistência, as quais são, na sua maioria, adquiridas em resultado à sua capacidade de evolução genómica (1),(2),(7),(8). Esta capacidade tem-se mostrado fundamental para o sucesso dos processos de adaptação, sobrevivência e crescimento no hospedeiro, sendo o principal responsável pelo surgimento de estirpes que expressam um fenótipo e um genótipo mais virulento e resistente, como é o caso da estirpe Hypervirulent *K. pneumoniae* (2),(4),(5),(7),(8),(13).

As diferenças mais salientes entre *K. pneumoniae* e Hypervirulent *K. pneumoniae* prendem-se com o tipo de infeções que causam, o local mais propício de disseminação e o organismo hospedeiro (2),(8),(33). As infeções por *K. pneumoniae* ocorrem, na sua maioria em hospitais e unidades de prestação de cuidados de saúde, afetando indivíduos imunocomprometidos e/ou com comorbilidades associadas, enquanto as infeções por Hypervirulent *K. pneumoniae* afetam sobretudo indivíduos saudáveis e jovens, sendo transmitida entre a população (2),(5),(8),(33).

O crescente desenvolvimento dos mecanismos de virulência e de resistência a diferentes classes de antimicrobianas tem gerado uma grande preocupação entre os clínicos e investigadores, visto dificultarem o controlo das vias de disseminação bem como para a escassez de terapêuticas antimicrobianas eficazes (2),(7),(8),(22). Em consequência, as taxas de mortalidade e morbidade associadas às infeções têm sofrido um aumento (7),(8),(10).

Como perspectivas futuras, é necessário o empenho contínuo no sentido de se definirem e cumprirem estratégias que garantam um controlo mais eficiente da disseminação destas estirpes bacterianas, assim como a reunião das condições necessárias para o desenvolvimento de novos antimicrobianos e novos métodos de tratamento e profilaxia das infeções (6),(7),(30).

Em suma, face às propriedades que os agentes patogénicos apresentados possuem, assim como às características das infeções que causam, o seu estudo é do interesse e de enorme relevância científica.

13. Referências

- (1) MURRAY, P.R. – **Basic Medical Microbiology**. 1ª Ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2018. ISBN 978-0-323-47676-8.
- (2) PACZOSA, Michelle K.; MECSAS, Joan - Klebsiella pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. . ISSN 1092-2172. 80:3 (2016) 629–661. doi: 10.1128/membr.00078-15.
- (3) DAVIN-REGLI, Anne; LAVIGNE, Jean Philippe; PAGÈS, Jean Marie - Enterobacter spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**. . ISSN 10986618. 32:4 (2019) 1–32. doi: 10.1128/CMR.00002-19.
- (4) CHOBY, J. E.; HOWARD-ANDERSON, J.; WEISS, D. S. - Hypervirulent Klebsiella pneumoniae – clinical and molecular perspectives. **Journal of Internal Medicine**. . ISSN 13652796. 287:3 (2020) 283–300. doi: 10.1111/joim.13007.
- (5) RUSSO, Thomas A.; MARR, Candace M. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae. **Clinical Microbiology Reviews**. 32-3 (2019), 1-42. doi: 10.1128/CMR.00001-19.
- (6) BASSETTI, Matteo *et al.* - Multidrug-resistant klebsiella pneumoniae: Challenges for treatment, prevention and infection control. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**. ISSN 17448336. 16:10 (2018) 749–761. doi: 10.1080/14787210.2018.1522249.
- (7) WYRES, Kelly L.; LAM, Margaret M. C.; HOLT, Kathryn E. - Population genomics of Klebsiella pneumoniae. **Nature Reviews Microbiology**. . ISSN 17401534. 18:6 (2020) 344–359. doi: 10.1038/s41579-019-0315-1.
- (8) MARTIN, Rebekah M.; BACHMAN, Michael A. - Colonization, infection, and the accessory genome of Klebsiella pneumoniae. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 22352988. 8:JAN (2018) 1–15. doi: 10.3389/fcimb.2018.00004.
- (9) BENGOCHEA, José A.; SA PESSOA, Joana - Klebsiella pneumoniae infection biology: Living to counteract host defences. **FEMS Microbiology Reviews**. ISSN 15746976. 43:2 (2019) 123–144. doi: 10.1093/femsre/fuy043.
- (10) WANG, Guoying *et al.* - The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of klebsiella pneumoniae. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. ISSN 16604601. 17:17 (2020) 1–17. doi: 10.3390/ijerph17176278.
- (11) DIANCOURT, Laure *et al.* - Multilocus sequence typing of Klebsiella pneumoniae nosocomial isolates. **Journal of Clinical Microbiology**. ISSN 00951137. 43:8 (2005) 4178–4182. doi: 10.1128/JCM.43.8.4178-4182.2005.

- (12) WYRES, Kelly L. *et al.* - Distinct evolutionary dynamics of horizontal gene transfer in drug resistant and virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*. **bioRxiv**. 2018) 1–25. doi: 10.1101/414235.
- (13) LERMINIAUX, Nicole A.; CAMERON, Andrew D. S. - Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. **Canadian Journal of Microbiology**. ISSN 14803275. 65:1 (2019) 34–44. doi: 10.1139/cjm-2018-0275.
- (14) MURRAY, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. – **Medical Microbiology**. 8^a Ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2016. ISBN 978-0-323-29956-5.
- (15) OPOKU-TEMENG, Clement; KOBAYASHI, Scott D.; DELEO, Frank R. - *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide as a target for therapeutics and vaccines. **Computational and Structural Biotechnology Journal**. ISSN 20010370. 17:2019) 1360–1366. doi: 10.1016/j.csbj.2019.09.011.
- (16) PAN, Yi Jiun *et al.* - Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella* spp. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 5:October 2014 (2015) 1–10. doi: 10.1038/srep15573.
- (17) LLOBET, Enrique *et al.* - Deciphering tissue-induced *Klebsiella pneumoniae* lipid a structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 10916490. 112:46 (2015) E6369–E6378. doi: 10.1073/pnas.1508820112.
- (18) SHANKAR-SINHA, Sunita *et al.* - The *Klebsiella pneumoniae* O Antigen Contributes to Bacteremia and Lethality during Murine Pneumonia. **Infection and Immunity**. ISSN 00199567. 72:3 (2004) 1423–1430. doi: 10.1128/IAI.72.3.1423-1430.2004.
- (19) SCHROLL, Casper *et al.* - Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. **BMC Microbiology**. ISSN 14712180. 10:2010). doi: 10.1186/1471-2180-10-179.
- (20) CHAN, Yvonne R. *et al.* - Lipocalin 2 Is Required for Pulmonary Host Defense against *Klebsiella* Infection . **The Journal of Immunology**. ISSN 0022-1767. 182:8 (2009) 4947–4956. doi: 10.4049/jimmunol.0803282.
- (21) BACHMAN, Michael A. *et al.* - *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. **Infection and Immunity**. ISSN 00199567. 79:8 (2011) 3309–3316. doi: 10.1128/IAI.05114-11.
- (22) NAVON-VENEZIA, Shiri; KONDRATYEVA, Kira; CARATTOLI, Alessandra - *Klebsiella pneumoniae*: A major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**. ISSN 15746976. 41:3 (2017) 252–275. doi: 10.1093/femsre/fux013.

- (23) WYRES, Kelly L.; HOLT, Kathryn E. - *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. **Current Opinion in Microbiology**. ISSN 18790364. 45:2018) 131–139. doi: 10.1016/j.mib.2018.04.004.
- (24) CABRAL, A.C.L.A. - **Klebsiella pneumoniae: mecanismos de resistência aos beta-lactâmicos**. Novas Edições Acadêmicas, 2014. ISBN 978-3-639-68504-6.
- (25) BI, Dexi *et al.* - Mapping the resistance-associated mobilome of a carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain reveals insights into factors shaping these regions and facilitates generation of a «resistance-disarmed» model organism. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 14602091. 70:10 (2015) 2770–2774. doi: 10.1093/jac/dkv204.
- (26) CHENG, Yi Hsiang *et al.* - Colistin resistance mechanisms in *Klebsiella pneumoniae* strains from Taiwan. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. ISSN 10986596. 59:5 (2015) 2909–2913. doi: 10.1128/AAC.04763-14.
- (27) IVERMORE, David M. - Tigecycline: What is it, and where should it be used? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 03057453. 56:4 (2005) 611–614. doi: 10.1093/jac/dki291.
- (28) WHO. Global Priority List of Antibiotic-resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. Geneva: **World Health Organization**. (2017).
- (29) MINISTRY, Ears-Net Federal – Austria, (2019).
- (30) DGS - Plano Nacional de Combate à Resistência aos Antimicrobianos 2019-2023. **Direção Geral de Saúde**. . ISSN 1098-6596. 53:9 (2019) 1689–1699.
- (31) TACCONELLI, E. *et al.* - **ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients**. ISBN 9789241597906.
- (32) LEE, Chang Ro *et al.* - Antimicrobial resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, hypervirulence-associated determinants, and resistance mechanisms. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 22352988. 7:NOV (2017). doi: 10.3389/fcimb.2017.00483.
- (33) RUSSO, Thomas A, *et al.* Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. **Journal of Clinical Microbiology**. 56:9 (2018) 1-12. doi:10.1128/JCM.00776-18.
- (34) SHON, Alyssa S.; BAJWA, Rajinder P. S.; RUSSO, Thomas A. - Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: A new and dangerous breed. **Virulence**. ISSN 21505608. 4:2 (2013) 107–118. doi: 10.4161/viru.22718.

- (35) GU, Danxia *et al.* - A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. **The Lancet Infectious Diseases**. ISSN 14744457. 18:1 (2018) 37–46. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30489-9.
- (36) STRUVE, Carsten *et al.* - Mapping the evolution of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **mBio**. . ISSN 21507511. 6:4 (2015) 1–12. doi: 10.1128/mBio.00630-15.
- (37) CHENG, H. Y. *et al.* - RmpA regulation of capsular polysaccharide biosynthesis in *Klebsiella pneumoniae* CG43. **Journal of Bacteriology**. ISSN 00219193. 192:12 (2010) 3144–3158. doi: 10.1128/JB.00031-10.
- (38) RUSSO, Thomas A. *et al.* - Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. **Infection and Immunity**. ISSN 10985522. 82:6 (2014) 2356–2367. doi: 10.1128/IAI.01667-13.
- (39) LIN, Tzu Lung *et al.* - Characterization of integrative and conjugative element ICEKpI-associated genomic heterogeneity in a *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from a primary liver abscess. **Journal of Bacteriology**. ISSN 00219193. 190:2 (2008) 515–526. doi: 10.1128/JB.01219-07.
- (40) XU, Min *et al.* - Endogenous endophthalmitis caused by a multidrug-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain belonging to a novel single locus variant of ST23: First case report in China. **BMC Infectious Diseases**. ISSN 14712334. 18:1 (2018) 1–6. doi: 10.1186/s12879-018-3543-5.
- (41) YU, Fangyou *et al.* - Multiplex PCR Analysis for Rapid Detection of *Klebsiella*. **Journal of Clinical Microbiology**. 56:9 (2018) 1–7. doi: 10.1128/JCM.00731-18.
- (42) HUANG, Yonglu *et al.* - Rapid detection of KI hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* by MALDI-TOF MS. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664302X. 6:DEC (2015) 1–7. doi: 10.3389/fmicb.2015.01435.
- (43) LAGIER, J. C. *et al.* - Faecal microbiota transplantation for stool decolonization of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Hospital Infection**. ISSN 15322939. 90:2 (2015) 173–174. doi: 10.1016/j.jhin.2015.02.013.
- (44) FELDMAN, Mario F. *et al.* - A promising bioconjugate vaccine against hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 10916490. 116:37 (2019) 18655–18663. doi: 10.1073/pnas.1907833116.