



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Sara Sofia Gaspar Marques

Relatórios de Estágio orientados pela Dra. Ana Sofia Ribeiro Correia e pela Doutora Marília João Rocha e Monografia intitulada “Sistema CRISPR-Cas e o seu impacto na resistência aos antibióticos” orientada pela Professora Doutora Sara Margarida dos Santos Domingues referente à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Fevereiro de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Sara Sofia Gaspar Marques

Relatórios de Estágio orientados pela Dra. Ana Sofia Ribeiro Correia e pela Doutora Marília João Rocha e Monografia intitulada “Sistema CRISPR-Cas e o seu impacto na resistência aos antibióticos” orientada pela Professora Doutora Sara Margarida dos Santos Domingues referente à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Fevereiro de 2023

Eu, Sara Sofia Gaspar Marques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017256996, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Sistema CRISPR-Cas e o seu impacto na resistência aos antibióticos” 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, 3 de fevereiro de 2023.

Sara Sofia Gaspar Marques

(Sara Sofia Gaspar Marques)

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, paciência e confiança transmitida

Ao meu irmão, por apesar de todas as diferenças ser um verdadeiro exemplo a seguir

Aos meus avós, pela sabedoria, perseverança, força e orgulho demonstrados

Às minhas avós, por todo o amor e carinho

A Ansião e aos amigos que me proporcionou, pelas memórias únicas e presença constante

*À Rita e à Maria, por tornarem as épocas de exames mais suportáveis e todos os momentos
inesquecíveis*

Às minhas afilhadas, pela amizade, alegria e orgulho que me proporcionaram

Aos meus padrinhos, por todos os conselhos, paciência e disponibilidade

À Vanessa, por toda a ajuda e profissionalismo

À equipa da Farmácia Torres & Correia, pela oportunidade, ajuda e empenho na minha formação

*À equipa da Farmácia Hospitalar do CHUC, em especial à Doutora Marília, por todas as
aprendizagens, disponibilidade e compreensão*

*À Professora Doutora Sara Domingues, pela orientação, atenção e ajuda proporcionadas ao longo
da realização da presente monografia*

*À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, ao seu corpo docente e não docente, pelo
seu papel fundamental na minha formação*

A Coimbra, por se ter tornado na minha segunda casa.

Obrigada!

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Análise SWOT	8
2.1. Pontos Fortes.....	8
2.1.1. Equipa técnica.....	8
2.1.2. Ortopedia.....	9
2.1.3. Serviços prestados pela farmácia	9
2.1.4. Equipamento de medição de parâmetros bioquímicos.....	10
2.1.5. Robô e <i>Cash Guard</i> (máquina de pagamento automático)	11
2.1.6. Número de estagiários.....	11
2.1.7. Período sazonal do estágio.....	12
2.1.8. Localização	12
2.2. Pontos Fracos	13
2.2.1. Preparação de medicamentos manipulados.....	13
2.2.2. Medicamentos homeopáticos	13
2.3. Oportunidades.....	14
2.3.1. Formação externa	14
2.4. Ameaças	14
2.4.1. Pandemia COVID-19	14
2.4.2. Não realização de estágio de verão	15
3. Casos Práticos.....	15
4. Considerações Finais	19
5. Referências Bibliográficas.....	20
6. Anexos.....	21

Parte II – Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Lista de Abreviaturas.....	25
1. Introdução.....	26
2. Análise SWOT	27
2.1. Pontos Fortes.....	27
2.1.1. Passagem pelos diversos setores	27
2.1.2. Caderno de práticas tuteladas para estágio a realizar no CHUC	29
2.1.3. Trabalho final	30
2.1.4. Contacto com outro tipo de medicamentos e terapias mais inovadoras	30
2.1.5. Contacto com outro tipo de condições e equipamentos de trabalho.....	30
2.1.6. A equipa e o contacto com os restantes profissionais de saúde.....	31
2.2. Pontos Fracos	32

2.2.1. Duração do estágio	32
2.2.2. Título observacional.....	32
2.2.3. Acesso ao SGICM	32
2.3. Oportunidades.....	33
2.3.1. Formação externa	33
2.4. Ameaças	34
2.4.1. Sobrecarga dos serviços de FH.....	34
2.4.2. Pandemia COVID-19 e período de férias.....	34
3. Considerações Finais.....	34
4. Referências Bibliográficas.....	35
5. Anexos.....	36
Parte III – Monografia - "Sistema CRISPR-Cas e o seu impacto na resistência aos antibióticos"	
Lista de Abreviaturas	49
Resumo	50
Abstract.....	51
1. Introdução	52
2. Resistência aos antibióticos	53
2.1. Breve contextualização histórica.....	53
2.2. A emergência e disseminação da resistência bacteriana.....	54
2.3. Mecanismos de resistência.....	55
2.4. Impacto, progressos e principais desafios associados à resistência bacteriana	57
3. Sistema CRISPR-CAS	60
3.1. A descoberta do sistema CRISPR-Cas e o seu mecanismo de ação.....	60
3.2. O papel do sistema CRISPR-Cas nos procariotas.....	64
3.3. O sistema CRISPR-Cas e a sua possível aplicação no tratamento das infeções bacterianas.....	66
3.4. Vantagens, limitações e desafios à sua utilização	69
4. Conclusão	73
5. Referências Bibliográficas	74

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Torres & Correia

Sob orientação da Dra. Ana Sofia Ribeiro Correia

Lista de Abreviaturas

FFUC Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FTC Farmácia Torres & Correia

HDL *High Density Lipoprotein*

LDL *Low Density Lipoprotein*

MAPA Monitorização Ambulatória da Pressão Arterial

MICF Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

SWOT *Strengths, Weakness, Opportunities, Threats*

UC Unidades Curriculares

I. INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Nacional de Estatística, em 2019, 69,2% dos farmacêuticos exerciam a nível da farmácia comunitária¹, o que representa uma grande parte dos farmacêuticos e demonstra a importância da realização do estágio curricular em farmácia comunitária para nós, futuros farmacêuticos.

Para além disto, o estágio em farmácia comunitária permite-nos contactar com o doente, com as patologias e seus sintomas, e com uma vasta e diversificada quantidade de medicamentos, o que, indiscutivelmente, nos prepara de forma prática para o mercado de trabalho e, mais especificamente, para a realidade quotidiana do farmacêutico comunitário.

A farmácia comunitária, como tive oportunidade de verificar, representa um importante papel na vida das pessoas e a nível da saúde pública em geral, proporcionando um espaço seguro e mais íntimo não só para os doentes terem oportunidade de comunicar os seus sinais e sintomas, como também de questionar e colmatar as suas dúvidas, permitindo assim um atendimento devidamente personalizado e individualizado.

Assim, tive oportunidade de estagiar na Farmácia Torres & Correia (FTC), ao longo de 4 meses, o que me permitiu conhecer a perspetiva do farmacêutico comunitário, assistindo e participando na maioria das tarefas realizadas a nível da farmácia comunitária desde a receção e entrada de encomendas ao atendimento e prestação de outros serviços.

Posto isto, como forma de avaliação e reflexão pessoal da minha aprendizagem ao longo do estágio na FTC, realizo o presente relatório recorrendo a uma análise SWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats) e rematando com diversos casos práticos onde me foi permitido relacionar os conhecimentos teóricos apreendidos na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) com a prática na farmácia comunitária.

2. ANÁLISE SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Equipa técnica

A FTC dispõe de uma equipa com cerca de 12 profissionais, dinâmica e multidisciplinada, composta por farmacêuticos, técnicos e técnicos auxiliares de farmácia.

Se há algo que tenho necessidade de destacar como ponto forte do meu estágio é a equipa na qual estive integrada ao longo de 4 meses, uma vez que, não só me proporcionou uma ótima adaptação e, conseqüentemente, um estágio agradável, como também me

incentivou a ultrapassar as minhas inseguranças e transmitiu todo o conhecimento que tive oportunidade de desenvolver.

Toda a equipa se demonstrou totalmente disponível e empenhada no esclarecimento das minhas dúvidas e em tornar o meu estágio o mais enriquecedor possível, para além disso, manifestou minuciosidade no exercício profissional e preocupação na transmissão de certos valores para, futuramente, me tornar uma melhor farmacêutica comunitária e exercer a profissão o melhor e da forma mais gratificante possível.

2.1.2. Ortopedia

A Farmácia Torres & Correia divide-se em dois espaços distintos, um destinado essencialmente a Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) e a Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) e outro, onde os doentes se podem dirigir quando procuram algo mais relacionado com ortopedia e outros dispositivos médicos.

A secção de ortopedia da FTC é profundamente desenvolvida, dispondo de uma grande variedade deste tipo de produtos, desde os dispositivos médicos mais comuns como as meias de compressão e os pulsos elásticos, até dispositivos que excepcionalmente se encontram à venda nas farmácias comunitárias como as camas de hospital e todos os outros produtos inerentes ao seu uso.

Posto isto, considero o elevado grau de desenvolvimento da área ortopédica da FTC, um ponto forte para o meu estágio, uma vez que me deu oportunidade de contactar com os mais diversos dispositivos médicos, contactando com praticamente todas as suas classes², e com múltiplas patologias e condições relacionadas com o seu uso. Consequentemente, permitiu-me conhecer o modo de funcionamento dos diferentes dispositivos médicos, os cuidados a ter, as respetivas contra-indicações e as indicações para o seu uso, adicionalmente, tive ainda oportunidade de relacionar conhecimentos adquiridos na unidade curricular Dispositivos Médicos com as mais variadas condições clínicas que iam surgindo na farmácia.

2.1.3. Serviços prestados pela farmácia

Para além dos serviços habituais, a FTC garante a prestação de muitos outros serviços, tais como, a realização de ecografias 4D, consultas de nutrição, serviço de medicação individualizada, exames de audição, consultas de podologia, administração de injetáveis e ainda a realização da MAPA (Monitorização Ambulatória da Pressão Arterial).

A diversidade de serviços prestados permitiu-me contactar com outros profissionais de saúde e aprofundar os meus conhecimentos nas respetivas áreas, deste modo,

proporcionou-me uma aprendizagem dinâmica e intuitiva dos fundamentos teóricos, um conhecimento pormenorizado de certos produtos e ainda a possibilidade de participação ativa em campanhas promocionais, incentivando de alguma forma a minha própria vertente comercial. Assim sendo, acredito que a prestação dos diversos serviços referidos acima, me permitiu realizar um aconselhamento melhor, mais informado e, por consequência, mais confiante, no momento de dispensa de produtos de venda livre, essencialmente.

2.1.4 Equipamento de medição de parâmetros bioquímicos

Um dos serviços prestados pela FTC é a realização de testes bioquímicos como a medição do colesterol total, da glicémia e do ácido úrico, de forma a auxiliar o doente na monitorização dos seus níveis séricos.

Ao contrário da maioria das farmácias comunitárias, a FTC possui um equipamento específico (Figura 1) que permite a medição de muitos outros parâmetros bioquímicos para além dos mais comuns, nomeadamente, do colesterol LDL, HDL e dos triglicéridos, do risco cardiovascular, da hemoglobina glicada, do ácido láctico, entre outros.



Figura 1. Equipamento para medição de parâmetros bioquímicos

O equipamento baseia-se na Lei de Lambert-Beer³ estabelecendo uma relação entre a absorvância e a concentração de uma determinada substância e, portanto, o processo de medição de parâmetros bioquímicos no referido equipamento é bastante semelhante aos vários procedimentos realizados aquando das aulas laboratoriais de múltiplas unidades curriculares (UC) do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

Deste modo, ao longo do decorrer do meu estágio, não só tive oportunidade de relembrar e reforçar o conhecimento adquirido em várias UC do MICEF, como também de pôr, efetivamente, em prática esse conhecimento e inseri-lo na realidade quotidiana de um farmacêutico comunitário.

2.1.5. Robô e *Cash Guard* (máquina de pagamento automático)

A entidade patronal da FTC sempre procurou tornar a farmácia o mais eficiente possível e, para isso, apostou na modernização e automação de vários processos inerentes ao atendimento e à organização da farmácia.

Como tal, a FTC possui um robô que, apresenta diversas vantagens, tanto a nível do *Back-office*, onde armazena e organiza milhares de medicamentos, como para o local de atendimento ao público dispensando de forma breve os medicamentos devidamente requisitados pelos colaboradores. Para além do robô, a farmácia dispõe de uma máquina de pagamento automático (*CashGuard*), onde cada colaborador coloca o dinheiro associado ao respetivo número identificativo, que efetua os devidos trocos e permite assim, a rastreabilidade e a contabilização da caixa ao final do dia.

Desta forma, considero a existência do robô e da *Cash Guard* um ponto forte para a minha aprendizagem, pois, acredito que me poupou imenso tempo ao longo dos 4 meses de estágio, o que me permitiu melhorar e desenvolver outras capacidades que, caso contrário, não teria tido oportunidade, dada a curta duração do estágio curricular. Adicionalmente, sinto que melhorou substancialmente a qualidade e a eficácia dos meus atendimentos, especialmente no início do estágio, por evitar a perda de contacto com o doente e me transmitir uma maior sensação de segurança e confiança na dispensa dos medicamentos.

2.1.6. Número de estagiários

A FTC demonstrou vontade e prontidão em participar ativamente na formação de futuros farmacêuticos, especialmente, provenientes da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, instituição responsável pela formação de grande parte da equipa.

Para além disso, a FTC manifestou, desde logo, preocupação com o número de estagiários a acolher, não só para garantir o devido acompanhamento dos estagiários, mas também, de forma a não sobrecarregar a farmácia e os profissionais que nela exercem.

Posto isto, durante grande parte do meu estágio, fui a única estagiária da FTC, como tal, senti-me bastante bem acompanhada recebendo todo o apoio e atenção por parte dos

colaboradores. Caso contrário, penso que se tornaria difícil para os colaboradores a coordenação entre o devido acompanhamento aos estagiários e a elevada afluência à farmácia.

2.1.7. Período sazonal do estágio

O meu estágio teve início em meados de janeiro e término a 29 de abril de 2022 e, portanto, incluiu todo o Inverno, um período de especial atenção devido ao risco de infeções respiratórias, e o início da Primavera, uma estação especialmente marcada pelas crises alérgicas.

Posto isto, considero a realização do estágio neste período em específico um ponto forte, uma vez que, me deu oportunidade de contactar com os mais diversos casos, especialmente, de infeções respiratórias que, por si só exigem um aconselhamento informado e personalizado devido, não só, à grande variedade de sinais e sintomas que podem apresentar, como também, à elevada quantidade de produtos e opções terapêuticas que existem no mercado. Assim, tive oportunidade de participar em atendimentos extremamente completos, de constatar o papel do farmacêutico comunitário e, como a mesma patologia pode ter aconselhamentos completamente distintos, e de aprofundar o meu conhecimento em vários medicamentos, principalmente, os MNSRM.

2.1.8. Localização

A FTC localiza-se no centro de Pombal, uma cidade com cerca de 16 800 habitantes⁴ na área urbana, pertencente à região centro de Portugal.

Apesar de se tratar de uma cidade, Pombal é relativamente pequeno e demograficamente pouco denso quando comparado com Coimbra ou outras grandes cidades. Como tal, a própria cidade e as pessoas que lá residem transmitem uma certa sensação de proximidade, algo que vivenciei ao longo dos 4 meses de estágio curricular.

Desta forma, tive oportunidade de atender e de contactar com os doentes num ambiente mais íntimo, criando inclusive uma relação com eles e assistindo à sua evolução no decorrer do estágio. Por outro lado, também experienciei um ambiente agitado e intenso, principalmente nos dias de mercado municipal, o que me permitiu desenvolver e aperfeiçoar as minhas capacidades de desenrasque e eficiência.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Preparação de medicamentos manipulados

A nível de pontos fracos, começo por referir o facto de não ter tido oportunidade de contactar com a preparação de medicamentos manipulados ao longo do estágio em farmácia comunitária.

A FTC não dispunha desse serviço e, como tal, não me foi possível aplicar as boas práticas de farmácia comunitária no processo de manipulação de medicamentos⁵ e experienciar tudo o que estas implicam, como as instalações e equipamentos necessários, a documentação e registos inerentes, e os procedimentos, gerais e específicos de cada produto, para a garantia de qualidade. Para além disso, ao não proceder à preparação propriamente dita de medicamentos manipulados, não desenvolvi os conhecimentos adquiridos especificamente nas aulas práticas-laboratoriais nas UC do MICEF, não contactando com os diversos tipos de formulações e suas especificidades, com as várias matérias-primas e com todo o material necessário às respetivas preparações.

2.2.2. Medicamentos homeopáticos

A homeopatia surgiu como uma forma de terapia complementar há cerca de 200 anos e foi introduzida pelo alemão Samuel Hahnemann. Baseia-se em princípios completamente distintos da medicina convencional, dedicando-se apenas ao tratamento dos sintomas, não considerando a fisiopatologia da doença e não apresentando um mecanismo de ação devidamente comprovado. Posto isto, a homeopatia tem-se revelado um tema controverso entre a comunidade científica e tem-se verificado um certo dilema quanto à atitude do farmacêutico na venda deste tipo de medicamentos nas farmácias de oficina⁶.

Ainda assim, a homeopatia continua a ser solicitada por inúmeras pessoas que procuram alternativas à medicina tradicional e o farmacêutico deve ser capaz de fornecer aos respetivos consumidores todas as informações relevantes, tanto sobre este tipo de produtos como de qualquer outro à venda nas farmácias comunitárias, sempre com a máxima honestidade, integridade e profissionalismo⁶.

Deste modo, considero a ausência de contacto com os medicamentos homeopáticos ao longo do meu estágio um ponto fraco apenas pelo facto de não ter aprofundado conceitos sobre os mesmos e de não me ter preparado para a melhor forma de atender e aconselhar os consumidores deste tipo de terapia. Além disso, apesar de a FTC não possuir estes medicamentos, tenho noção que outras farmácias apresentam em grande número e que ainda

há muitas pessoas a procurar e a acreditar na eficácia destes produtos e, como tal, o farmacêutico deve estar devidamente informado e preparado para responder a estas situações, da mesma forma que está para todos os outros tipos de terapia.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Formação externa

O constante desenvolvimento da área da saúde e, conseqüentemente, o surgimento sucessivo de novos produtos no mercado, obrigam o farmacêutico a manter-se atualizado, necessitando de formação contínua, de forma a melhorar e aperfeiçoar as suas capacidades técnicas e científicas, permitindo assim um melhor exercício da sua profissão.

Assim, no decurso dos 4 meses de estágio na FTC, tive oportunidade de assistir e participar em diversas formações de fonte externa sobre os mais variados temas e produtos o que, contribuiu para a melhoria de qualidade da minha instrução, favorecendo um melhor entendimento dos vários temas e, portanto, um aconselhamento aos utentes mais informado e personalizado.

2.4. Ameaças

2.4.1. Pandemia COVID-19

O meu estágio na FTC decorreu entre o mês de janeiro e o mês de abril de 2022 e, como tal, envolveu uma altura de testagem obrigatória no acesso a diversos estabelecimentos e eventos, assim como para a realização de viagens.

Assim sendo, presenciei períodos de enorme afluência às farmácias, especialmente no início de estágio, o que sinto que acabou por me prejudicar no sentido em que era completamente impossível, nesta de altura de maior necessidade de apoio, receber todo o suporte necessário por parte dos meus colegas, apesar do seu esforço incontestável. Para além disso, acabei por passar grande parte do meu estágio a tratar de processos relacionados com a testagem, desde marcações a registos, o que evidentemente me retirou tempo a outro tipo de aprendizagens.

2.4.2. Não realização de estágio de verão

Ao longo dos 5 anos de formação na FFUC, é dada a oportunidade aos estudantes de realizar estágios de verão, o que indiscutivelmente proporciona imensas vantagens, desde a preparação para o mercado de trabalho até à aproximação a instituições e empresas.

No meu caso não me foi possível ter essa experiência, o que considero uma ameaça para o meu estágio, pois, muitos dos conhecimentos que adquiri ao longo dos 4 meses, poderia ter adquirido previamente o que, tendo em conta a curta duração do estágio, me proporcionaria mais tempo para apreender novos conceitos e alcançar outras capacidades.

3. CASOS PRÁTICOS

Caso Prático I

Utente do sexo masculino, 77 anos, polimedicado, diabético insulino-dependente com crise de pé diabético, dirigiu-se à farmácia, acompanhado pela esposa, para aviar receitas e medir a pressão arterial.

Posto isto, é-lhe dispensada toda a medicação e quando o senhor se dirige à máquina para a medição da pressão arterial sente-se mal. Com a ajuda da equipa, o senhor senta-se numa cadeira e é-lhe dado um copo de água. No entanto, o senhor diz que se sente melhor e volta a dirigir-se à máquina. Mais uma vez, sente-se mal e é novamente socorrido.

Procedemos à medição da pressão arterial (80/44 mmHg) e da glicémia (56 mg/dL) e é-lhe imediatamente recomendado dirigir-se ao hospital.

O senhor continua a referir que se sente melhor e que tem consulta no dia seguinte enquanto se despede e agradece a toda a equipa. À saída da farmácia, o senhor volta a sentir-se mal e procede-se então à chamada para o INEM (Instituto Nacional de Emergência Médica) mesmo contra a vontade do senhor.

Tendo em conta o sucedido, começou-se a discutir possíveis causas e a analisar a medicação prescrita e anteriormente dispensada ao senhor. Entre a medicação cedida, estava NovoMix[®] que contém insulina aspártico solúvel / insulina aspártico cristalizada com protamina⁷ e Micardis[®] 80 mg cujo princípio ativo é o telmisartan, um antagonista do recetor da angiotensina II⁸.

Na altura, questionou-se ao utente e à sua esposa quem procedia à administração da insulina, ao qual nos responderam que era o senhor que o costumava fazer, no entanto, este

demonstrava sinais de confusão e, portanto, o senhor pode ter inconscientemente administrado uma dose superior de insulina, o que pode ter levado à hipoglicémia.

Para além disso, também apresentava a pressão arterial muito baixa e tal, pode se dever à dose elevada do Micardis® que, por sua vez, tinha sido aumentada recentemente pelo médico, segundo a esposa do utente.

Em jeito de conclusão, este caso não só demonstrou ser uma situação prática dos principais efeitos secundários dos anti-hipertensores e da insulina, como também, me colocou à prova e me obrigou a reagir em situações de stress e de aflição, comprovando assim a importância da farmácia comunitária enquanto cuidado primário da saúde pública.

Caso Prático II

Utente do sexo masculino desloca-se à farmácia, solicitando algo para a sua mãe (idosa), pois, esta apresenta uma temperatura corporal de 37°C, tosse e dor de garganta.

Assim sendo, é lhe questionado se a sua mãe é diabética ou asmática, ao qual responde que ela não sofre de nenhuma das patologias. Para além disso, é lhe questionado há quanto tempo a mãe sofre desta sintomatologia e se a tosse sentida é seca ou produtiva, questões às quais ele não sabe responder.

Posto isto, é lhe aconselhado colocar água do mar para o auxílio da higiene nasal diária e é lhe dispensado o Grintuss®, um dispositivo médico à base de mel que atua tanto a nível da tosse seca como da tosse produtiva⁹, umas pastilhas Drill® que contêm um antisséptico (clorohexidina) e um anestésico local (tetracaína), ajudando no alívio da dor e dos primeiros sintomas de infeção ligeira¹⁰ e, por fim, Ben-u-ron® 500 mg para uso em caso de febre.

Por último, o utente foi alertado que se, após o início do tratamento, os sintomas persistirem ou agravarem mais de 3 dias deve consultar um médico.

Caso Prático III

Utente do sexo feminino, idosa, dirige-se à farmácia acompanhada pela sua nora. A senhora é diabética e sofre de dislipidemia.

A senhora refere que está a tomar Flagyl® 250 mg (metronidazol), Cipamox® 1000 mg (amoxicilina) e claritromicina 500 mg, o que pode indicar infeção por *Helicobacter Pylori*, e queixa-se da boca inchada e prurido a nível vaginal e retal. Para além disto, sente perturbações a nível intestinal.

Posto isto, é lhe dito que poderia estar a sofrer uma reação alérgica à penicilina e que seria melhor consultar o seu médico e que, para além disso, poderia estar a desenvolver uma candidíase.

Apesar da senhora, inicialmente, referir que não tinha sido vista por um médico após o início da medicação, verificou-se, pelo seu histórico na farmácia, que ela já se tinha dirigido ao seu médico e que, por sua vez, este tinha desvalorizado os lábios inchados e prescrito o fluconazol 50 mg.

A esta altura já era notória a confusão no discurso da utente e, mais uma vez, analisando o seu histórico e conversando com a mesma, percebemos que a senhora também já estava a administrar o Gyno-Pevaryl® 10mg/g mas a nível retal.

Assim sendo, foi lhe explicado que o Gyno-Pevaryl® é para ser usado a nível vaginal e aconselhado o Atyflor® saquetas, para ajudar a repor a microflora intestinal, e uma solução lavante da Saforelle®, para o auxílio da sua higiene diária e alívio do prurido.

Concluindo, este caso não só envolve vários conceitos e diversas patologias, como demonstra a importância do acesso ao histórico dos utentes na farmácia, pois, caso contrário, não nos teria sido possível compreender que a utente já se tinha dirigido ao médico com esta sintomatologia e que já estava a ser medicada para a candidíase.

Caso Prático IV

Utente do sexo feminino, dirigiu-se à farmácia a queixar-se com diarreia e solicita algo para a aliviar.

Posto isto, é lhe questionado se viajou recentemente e se apresenta outros sintomas como febre, dor abdominal ou presença de sangue, pus ou muco nas fezes, questões às quais a utente responde que não. Para além disto, é lhe questionado há quanto tempo sofre desta sintomatologia e qual a frequência das dejeções. A senhora responde que há cerca de 2 dias e que não está certa quanto à frequência das dejeções, mas refere que já se deslocou muitas vezes à casa de banho.

Tendo em conta a sintomatologia da utente, é lhe aconselhado o Imodium® Rapid (cloridrato de loperamida) para o alívio rápido da diarreia e, simultaneamente, é lhe explicada a respetiva posologia (toma inicial de 2 comprimidos, seguida de 1 comprimido após cada dejeção líquida). Posteriormente, aconselhei a consultar o médico e a interromper o tratamento, caso a utente não sentisse melhorias após 48 horas¹¹.

Para além do Imodium® Rapid, aconselhei a ingestão de muita água e a utilização do Redrate®, uma solução para rehidratação oral, de modo a assegurar a reposição de líquidos e eletrólitos.

Caso Prático V

Utente do sexo feminino desloca-se à farmácia, acompanhada pelo marido, e queixa-se de sintomas de infeção urinária, solicitando algo que a alivie. A senhora refere que sente ardor ao urinar e que se tem dirigido muitas vezes à casa de banho.

Tendo em conta a sintomatologia referida, questionei a utente quanto à presença de sangue na urina e quanto à presença de qualquer outro sintoma para além dos referidos, questões às quais a utente responde negativamente.

Posto isto, procedi ao aconselhamento do Advancis® Uritabs, um suplemento alimentar composto por extratos de plantas como o arando vermelho e a uva-ursina, assim como à explicação da respetiva posologia tendo em conta a situação (2 comprimidos após o pequeno-almoço e o jantar)¹².

A uva-ursina, apesar de não apresentar uma atividade antibacteriana comparável aos antibióticos, possui propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, devendo o seu principal efeito à arbutina. Já o arando vermelho, tem como principal constituinte as proantocianidinas que inibem a aderência das bactérias às paredes do trato urinário, apresentando eficácia na prevenção das infeções urinárias. Assim, esta associação, não só promove o alívio dos sintomas provocados pelas infeções do trato urinário não complicadas, como também previne recidivas.

Para além disto, aconselho à utente um gel de higiene íntima para o auxílio da sua higiene diária e, ainda, medidas não farmacológicas como o aumento da ingestão de água e a não utilização de roupa interior sintética. Por fim, reforço que caso os sintomas persistam ou agravem será melhor consultar o seu médico.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Findado o período de estágio e ao redigir o presente relatório, é para mim evidente o quão enriquecedor foi a realização do estágio curricular na FTC.

Poder experienciar a realidade quotidiana do farmacêutico comunitário proporcionou-me, não só uma melhor perceção das suas funções e da sua importância na manutenção da saúde pública, como também uma aplicação diária e em contexto real dos conhecimentos previamente adquiridos na FFUC. Para além disto, desenvolvi novos conceitos e vivenciei inúmeras experiências que, incontestavelmente, me permitiram evoluir tanto a nível profissional como pessoal.

Como tal, considero a realização do estágio curricular e tudo o que é inerente a ele, essencial para a nossa formação, pois, insere-nos no ambiente de trabalho e promove o trabalho em equipa, a autonomia individual e a capacidade de concluir novos desafios de dia para dia.

Por fim, pretendo reforçar a qualidade da equipa da FTC, equipa esta que me integrou totalmente e que tornou o meu estágio tão elucidativo e interessante como dinâmico e entusiasmante.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA - **Estatísticas da Saúde - 2019**. ISBN 9789892505602.
2. INFARMED, I. P. - **Dispositivos médicos na farmácia** - [Acedido a 7 de junho de 2022]. Disponível na Internet: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/dispositivos-medicos/aquisicao-e-utilizacao/dispositivos_medicos_farmacia/
3. CALLEGARI 1930 - **CLINI5** - [Acedido a 7 junho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.callegari1930.com/en/general-health-screening/clin5/>
4. INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA - **Plataforma de divulgação dos Censos 2021 – Resultados Provisórios** - [Acedido a 10 junho de 2022]. Disponível na Internet: https://www.ine.pt/scripts/db_censos_2021.html/
5. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - Boas práticas de farmácia comunitária - Norma específica sobre manipulação de medicamentos. (2018) 1–9.
6. CĂLINA, Daniela Cornelia et al. - The pharmacists and homeopathy. **Current health sciences journal**. ISSN 2067-0656. 40:1 (2014) 57–9. doi: 10.12865/CHSJ.40.01.10.
7. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento: NovoMix®** - [Acedido a 13 de outubro de 2022]. Disponível na Internet: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/novomix-epar-product-information_pt.pdf/
8. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento: Micardis®** - [Acedido a 13 de outubro de 2022]. Disponível na Internet: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/micardis-epar-product-information_pt.pdf/
9. **Grintuss Xarope Adulto | Aboca** - [Acedido a 13 de outubro de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.grintuss.pt/grintuss/grintuss-adult-xarope/>
10. **DRILL PASTILHAS | Drill** - [Acedido a 13 de outubro de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.drill.pt/dor-de-garganta/drill-pastilhas/>
11. INFARMED, I. P. - **Resumo das Características do Medicamento: Imodium® Rapid** - [Acedido a 13 de outubro de 2022]. Disponível na Internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml/>
12. **Advancis Uritabs - Cuidados Femininos | Advancis** - [Acedido a 13 de outubro]. Disponível na Internet: <https://www.advancispharma.com/pt/cuidados-femininos /uritabs/>

6. ANEXOS

Anexo I. Ficha para registo de teste rápido de antígeno (TRAg) para SARS-CoV-2 de uso profissional em farmácia de oficina

 REPÚBLICA PORTUGUESA <small>SAÚDE</small>	 SNS <small>SERVIÇO NACIONAL DE SAÚDE</small>
Testes Rápidos de Antígeno (TRAg) para SARS-CoV-2 de Uso Profissional Farmácia de oficina (Deve ser impresso em modelo A5)	
Utente:	
Nome: _____	
N.º de Utente (NNU): _____	
Data de Nascimento: ____/____/____	
Farmácia:	
Código da farmácia: _____	
Identificação do Teste Rápido de Antígeno (TRAg):	
Número de Notificação Laboratorial no SINAVElab: _____	
Declaração do Utente:	
<p>Declaro sob compromisso de honra que não realizei, no corrente mês, mais de 2 (dois) Testes de Rápidos de Antígeno (TRAg) comparticipados pelo SNS</p> <p style="text-align: center;">_____/_____/_____ (Data)</p> <p style="text-align: center;">_____ (Assinatura do utente)</p>	

Anexo 2. Ficha de consentimento informado e declaração de compromisso para a realização do teste rápido de antigénio (TRAg) para SARS-CoV-2 na FTC



CONSENTIMENTO INFORMADO E DECLARAÇÃO DE COMPROMISSO

nascido(a) dia _____, portador(a) do CC / outro documento
identificativo n.º _____ emitido por (país) _____, do
cartão de Utente de Saúde n.º _____ / outro documento que valide o sistema
de _____ saúde, residente na _____
_____, com código
postal _____, cito na freguesia _____, com o
contacto telefónico _____.

DECLARO que

É minha vontade realizar o **Teste Rápido de Antigénio**, na **Farmácia Torres & Correia**, que servirá para detectar qualitativamente proteínas específicas do SARS-CoV-2.

Compreendi a informação que me foi disponibilizada, tendo percebido tudo o que me foi explicado, em concreto o tipo de teste e método de recolha da amostra biológica com zaragatoa nasofaríngea, os objetivos do teste e das ações que terei que realizar em caso de um resultado positivo.

Fui informado que o resultado do teste será comunicado, através da entrega pela farmácia por uma das seguintes formas:

- Registo escrito
- E-mail _____

A comunicação será enviada no prazo máximo de 12 horas, no caso de os procedimentos de recolha serem eficazes e ocorrerem como previsto. No caso da necessidade de repetição dos procedimentos, serei informado pela Farmácia através de contacto telefónico, com confirmação por SMS ou e-mail e, nessa altura, poderei propor uma nova data para realização do teste.

Fui ainda informado pelo Farmacêutico que um resultado positivo poderá significar infecção pelo vírus SARS-CoV-2 e, ainda, que um resultado não detetável poderá não excluir a existência de infecção.

Estou ciente de que deverei cumprir todos os cuidados e orientações que me forem dados pelo Farmacêutico antes e depois do procedimento associado ao teste no qual consinto.

Foi-me ainda dito que posso solicitar ao Farmacêutico, todas as informações adicionais de que necessite, a qualquer momento, e que só deverei tomar a minha decisão que aqui expresso se estiver totalmente esclarecido e capaz de decidir de forma livre, ponderada, informada e consciente.

Contactos: 236218730



Também me foi dada oportunidade para fazer todas as perguntas sobre o teste, obtive respostas esclarecedoras e tive tempo de reflexão suficiente para tomar a decisão.

Tomei igualmente conhecimento de que poderei revogar a qualquer momento, até ao início do procedimento, a realização do teste.

Tomei nota que a Farmácia adota todos os procedimentos na recolha e no tratamento dos meus dados pessoais, conforme a legislação de proteção de dados em vigor.

Assim, AUTORIZO a realização do Teste Rápido de Antígeno, bem como dos procedimentos ou intervenções relacionadas, a fim de tornar possível uma boa execução do mesmo.

Mais RECONHEÇO que a realização do teste só é possível na **Farmácia Torres & Correia Lda.**

Porque CONSINTO que o resultado seja comunicado pela mesma às Autoridades de Saúde, nomeadamente ao Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (SINAVE) e ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), e ao médico prescriptor

Assumo o COMPROMISSO de, no caso de um resultado positivo, adotar as medidas de segurança que me são impostas, em concreto, a colocação correta da máscara de proteção, a garantia do distanciamento social de 2 metros, o recolhimento obrigatório, e a identificação de todas as pessoas com as quais contactei às autoridades públicas de saúde.

Na presente data foi-me entregue o documento informativo iSaúde – Testes COVID-19.

Assinatura:

Data _____

Contactos: 236218730

PARTE II

Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Centro Hospitalar Universitário de Coimbra

Sob orientação da Doutora Marília João Rocha

Lista de Abreviaturas

CHUC Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

FH Farmácia Hospitalar

GAL Gestão, Aprovisionamento e Logística

MICF Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SGICM Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento

SNS Sistema Nacional de Saúde

UC Unidades Curriculares

UMIV Unidade de Misturas Intravenosas

UPC Unidade de Preparação de Citotóxicos

I. INTRODUÇÃO

A Farmácia Hospitalar (FH) é um serviço de saúde, que abrange todos os processos envolvidos na seleção, preparação, armazenamento, manipulação e distribuição de medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde numa determinada instituição de saúde, representando um papel fundamental no bom funcionamento da mesma¹. Para tal, a FH encontra-se dividida em diversos setores com os profissionais de saúde convenientemente distribuídos e com as suas funções devidamente estabelecidas, criando-se assim um circuito do medicamento meticolosamente definido e totalmente rastreável.

Os Farmacêuticos Hospitalares, para além de serem responsáveis por todo o circuito do medicamento e pela sua utilização correta e racional em meio hospitalar, desempenham muitas outras funções, desde o aconselhamento devidamente informado e personalizado aos doentes e seus cuidadores, até ao fornecimento de informação e contribuição para o conhecimento dos restantes profissionais de saúde, proporcionando assim uma maior segurança, qualidade e eficácia no uso do medicamento¹.

Posto isto, tive oportunidade de contactar com a realidade do farmacêutico hospitalar e, conseqüentemente, com todas as suas competências e desafios ao longo do meu estágio curricular nos serviços de FH do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC). No decorrer de cerca de dois meses de estágio, foi-me permitido conhecer os diferentes setores, a sua constituição e respetivas funções, o seu papel no circuito do medicamento e, em alguns casos, a legislação vigente e os procedimentos a ter. Para além disso, o estágio em FH possibilitou-me a convivência e o contacto com uma equipa verdadeiramente multidisciplinar e com patologias, e seus sinais e sintomas, bem como com medicamentos e tipos de tratamentos, que não me seria possível de outra forma.

Assim, procedo à realização do presente relatório de estágio recorrendo a uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*) como forma de avaliação e reflexão pessoal do meu desempenho e aprendizagem ao longo do estágio curricular no CHUC.

2. ANÁLISE SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Passagem pelos diversos setores

Ao longo dos dois meses de estágio, percorri vários setores dos serviços de FH do CHUC, iniciando no setor de Gestão, Aprovisionamento e Logística (GAL), passando duas semanas pelos Cuidados Farmacêuticos e outras duas na Unidade de Preparação de Citotóxicos (UPC) e ambulatório no Edifício de São Jerónimo. De seguida, tive oportunidade de conhecer a Unidade de Misturas Intravenosas (UMIV) e a Unidade de preparação de medicamentos não estéreis e, por fim, de contactar com o setor de Ensaio Clínicos.

De acordo com a calendarização fornecida no início do estágio, comecei por apresentar-me no setor de GAL onde tive oportunidade de conhecer a organização geral da unidade e de contactar com a legislação em vigor e procedimentos inerentes. Para além disso, assisti e participei no atendimento de estupefacientes, na avaliação de processos de medicamentos em curso e elaboração dos seus relatórios preliminares e finais e também na realização de pedidos de aquisição de medicamentos e respetiva avaliação da quantidade a pedir tendo em conta a informação técnico-científica, os indicadores de consumo e a quantidade existente em stock no armazém. No último dia, dirigi-me ao piso -4, ao armazém central, e foi aí que presenciei a receção de encomendas e todos os procedimentos e documentos inerentes, o controlo dos prazos de validade e respetiva importância para o aumento da segurança e para a diminuição da despesa e todos os métodos de organização de armazenamento de medicamentos excedentes e, principalmente, dos medicamentos de frio. Concluindo, a passagem neste setor permitiu-me perceber parte da logística necessária ao bom funcionamento dos serviços farmacêuticos do CHUC, de modo a não ocorrer falta de medicamentos, a assegurar o bom estado dos mesmos e a evitar as inutilizações, permitindo assim uma diminuição da despesa do hospital e, portanto, da despesa pública.

De seguida, dirigi-me ao setor dos Cuidados Farmacêuticos, um setor de enorme importância, pois, para além de exigir o contacto com os doentes e, portanto, um certo conhecimento e consciência no atendimento aos mesmos, também assegura a monitorização e controlo continuado da medicação dos doentes contribuindo para um melhor e mais racional uso do medicamento. Nesta unidade tive oportunidade de conhecer a sua organização geral, os respetivos horários de funcionamento, o seu papel no circuito do medicamento e, mais especificamente, de assistir à validação de prescrições médicas, à avaliação e elaboração de justificações clínicas e a atendimentos aos doentes no ambulatório, no piso -1. Posto isto, ao

longo das duas semanas no setor, aprofundi os meus conhecimentos sobre determinadas patologias e certos medicamentos, contactei com tipos de tratamentos e protocolos que anteriormente desconhecia, aprendi a avaliar prescrições médicas e a relacioná-las com as patologias, parâmetros bioquímicos, peso corporal, farmacocinética e efeitos adversos dos medicamentos e, por fim, observei e coloquei em prática certos conhecimentos adquiridos no atendimento ao doente.

As duas semanas seguintes foram passadas num dos setores da farmacotecnia que se localiza no Edifício de São Jerónimo, mais propriamente o hospital de dia de oncologia, onde são realizadas tanto as consultas médicas e farmacêuticas, como a administração de tratamentos do foro oncológico. A minha passagem pelo Edifício de São Jerónimo dividiu-se em duas fases, uma na UPC, cerca de uma semana, e outra no ambulatório do hospital de dia, onde se realizavam as consultas farmacêuticas e o atendimento aos doentes. Na UPC, tive oportunidade de conhecer a organização geral da unidade, os diversos serviços clínicos presentes na unidade, as várias etapas de preparação de citotóxicos, os protocolos e os medicamentos preparados, e os cuidados e normas a ter para a manutenção da higiene dos espaços e respetivas condições de assepsia. Já no ambulatório, presenciei atendimentos aos doentes e todos os processos inerentes, o que me permitiu aprofundar e relacionar os conhecimentos adquiridos previamente, de forma mais intuitiva e apelativa, com a prática clínica. Para além disso, contactei diretamente com os medicamentos oncológicos e, conseqüentemente, com as suas indicações terapêuticas, efeitos adversos, contraindicações e condições de conservação. Assim, a meu ver, a passagem pelo Edifício de São Jerónimo tornou-se deveras enriquecedora no sentido em que me proporcionou uma experiência e uma realidade completamente inédita e me permitiu o contacto com terapias de igual forma inovadoras.

Praticamente no fim do meu estágio, foi na UMIV e na Unidade de preparação de medicamentos não estéreis que tive oportunidade de estar durante uma semana onde, mais uma vez, conheci a organização e disposição das unidades de modo a assegurar o correto circuito de preparação do medicamento e as devidas condições de esterilidade, no caso da UMIV. Do mesmo modo, experienciei o papel do farmacêutico nas unidades e, como tal, verifiquei individualizações realizadas pelos técnicos e procedi à libertação de lotes, de forma tutelada. Tudo isto, permitiu-me contactar com os medicamentos preparados em cada uma das unidades, conhecendo assim as suas indicações clínicas, condições de conservação, prazos de validade, formas farmacêuticas, vias de administração e respetiva população-alvo, uma vez que muitos deles são preparados especificamente para os serviços de pediatria.

Por fim, acabei o meu estágio no setor de Ensaio Clínicos, um setor um pouco diferente dos restantes, uma vez que, possui o seu próprio circuito do medicamento, neste caso medicamento experimental, e os seus próprios procedimentos e normas. Nesta unidade, tive oportunidade de conhecer mais detalhadamente a legislação que regula a prática de ensaios clínicos, assim como as diretrizes sobre as boas práticas clínicas². Para além disso, durante a minha permanência neste setor, procedi à leitura e avaliação de vários protocolos de estudo, conhecendo assim os diferentes medicamentos experimentais, tipos de ensaios e a própria estrutura a ser seguida na elaboração de um protocolo, presenciei atendimentos aos doentes, participei na receção de encomendas e assisti a visitas de início e de seleção. Posto isto, a passagem por este setor foi para mim essencial para conhecer a realidade dos ensaios clínicos, o papel do farmacêutico nos mesmos e todas as normas e procedimentos inerentes a eles.

Em suma, considerei pertinente a realização deste breve resumo da aprendizagem adquirida ao longo do percurso pelos diversos setores de forma a enaltecer a importância e relevância para o meu estágio do contacto com as diferentes unidades. Apesar das suas desvantagens, como a curta duração em cada um dos setores, considero a passagem pelos diferentes setores um ponto forte para o meu estágio, pois, julgo que de outra forma não seria possível adquirir uma aprendizagem tão rica e diversificada e ter uma noção tão ampla e precisa do circuito do medicamento e da organização dos serviços de FH do CHUC.

2.1.2. Caderno de práticas tuteladas para estágio a realizar no CHUC

Uma das atividades propostas para realização ao longo do período de estágio no CHUC é o caderno de estagiário. Um documento que visa orientar de alguma forma, tanto o estagiário como os tutores das diferentes unidades, para os objetivos e conteúdos a desenvolver durante o estágio. Este caderno divide-se em duas partes correspondendo a primeira parte aos conteúdos programáticos a desempenhar e a registar em cada um dos setores e a segunda parte às fichas de atividades a executar pelo estagiário ao longo do seu percurso.

Posto isto, a realização do caderno de estagiário no decorrer do meu estágio permitiu-me, não só, ter desde logo noção do esperado de cada setor, proporcionando assim oportunidade de me avaliar pessoalmente e às atividades exercidas nas unidades, como também de aplicar na prática, efetuando as atividades propostas, os conhecimentos e competências adquiridos em cada uma das unidades dos serviços de FH do CHUC.

2.1.3. Trabalho final

Outra das atividades propostas pela tutoria de estágios, foi a realização de um trabalho a apresentar no final do estágio cujo tema, no meu caso, consistiu no papel do farmacêutico hospitalar na antibioterapia (ver Anexo 1).

Como tal, ao longo do desenvolvimento do trabalho, tive oportunidade de relacionar as atividades exercidas e conhecimentos adquiridos na prática de um farmacêutico hospitalar com o conteúdo do mesmo e, para além disso, de aprofundar noções sobre a antibioterapia e de compreender a importância da comunicação com os outros profissionais de saúde, contribuindo assim para um melhor uso do medicamento e para o sucesso do tratamento.

2.1.4. Contacto com outro tipo de medicamentos e terapias mais inovadoras

Ao contrário do estágio em farmácia comunitária, em que contactei com fármacos repetidamente abordados nas unidades curriculares (UC) ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), o estágio em FH tornou-se mais desafiante nesse aspeto, pois, certa parte dos medicamentos eram me completamente desconhecidos. Se por um lado foi desafiante, por outro foi extremamente enriquecedor no sentido em que certamente não haveria melhor modo de aprender e aprofundar os meus conhecimentos em certas terapias, tratando-se de uma forma de aprendizagem definitivamente mais intuitiva e incentivadora.

Como tal, tive oportunidade de contactar com outro tipo de medicamentos, como os devidamente legislados para cedência em FH tanto no ambulatório do piso -I como no do Edifício de São Jerónimo (ver Anexo 2), e com outro tipo de terapias e protocolos como os citotóxicos, soros autólogos, anticorpos monoclonais, entre outros que, apesar de não me serem totalmente desconhecidos, não se encontravam devidamente consolidados. Portanto, ao longo do meu percurso, especialmente pela unidade de Ensaios Clínicos, UPC e UMIV, não só aprofundei conhecimentos anteriormente adquiridos por exemplo na UC de Biotecnologia Farmacêutica, como também conheci toda uma nova realidade a nível de terapias mais recentes, inteirando-me dos seus efeitos adversos, parâmetros bioquímicos a ter em conta, formas de reconstituição, cuidados de manuseamento e suas indicações, algo que muito dificilmente teria oportunidade de vivenciar noutra forma de estágio curricular.

2.1.5. Contacto com outro tipo de condições e equipamentos de trabalho

Em certas unidades dos serviços de FH do CHUC, como a UMIV e a UPC, tive oportunidade de contactar com outras condições e equipamentos de trabalho, condições estas que asseguram a devida assepsia das preparações.

Na UPC, passei por todas as fases de preparação de citotóxicos desde a validação, passando pela individualização, até à zona de manipulação e, como tal, não só compreendi o papel do farmacêutico em cada uma das zonas, como também, verifiquei as diferenças de cuidados e inclusive vestuário ao longo do percurso do medicamento. Como se encontra explícito no Manual de preparação de citotóxicos³, todas as zonas da UPC devem ser devidamente pensadas e as normas rigorosamente cumpridas, tudo se apresenta devidamente estipulado, desde as funções do pessoal, procedimentos, equipamentos, instalações até ao equipamento de proteção e higienização dos espaços, de modo a garantir as condições de assepsia necessárias à preparação de citotóxicos e à própria proteção do pessoal que interage de alguma forma com este tipo de medicamentos.

Já na UMIV, não me foi permitido entrar nas câmaras de preparação e, portanto, não contactei de tão perto com as diferenças de condições de trabalho, contudo, tanto certa parte do vestuário como as condições de higienização mantinham-se.

Posto isto, a passagem nestas unidades permitiu-me conhecer todas as normas, cuidados a ter, instalações e equipamentos de modo a garantir as condições de assepsia. Ao entrar na zona de manipulação de citotóxicos, equipei-me cumprindo todas as regras e procedimentos estipulados e, não só aprendi todo o processo como também, entendi de facto o rigor das normas. Como tal, considero todo este contacto com outras condições de trabalho um ponto forte para o meu estágio, pois, desenvolvi capacidades e conhecimentos que de outra forma não me seria possível, para além de que tive oportunidade de pôr em prática e de interagir com noções apreendidas na UC de Gestão e Garantia de Qualidade, como por exemplo, as diferenças de pressão entre cada zona de preparação e a importância da normalização e da implementação de procedimentos.

2.1.6. A equipa e o contacto com os restantes profissionais de saúde

No decorrer dos dois meses de estágio, não só contactei com outros medicamentos e com diferentes condições de trabalho como referi anteriormente, como também, interagi com os vários profissionais de saúde, algo de igual forma interessante e enriquecedor. Primeiramente, é crucial referir a convivência com os farmacêuticos que, de certa forma, se mostraram sempre disponíveis para todas minhas dúvidas e que foram efetivamente os responsáveis por toda a minha aprendizagem ao longo do estágio. No entanto, também gostaria de salientar a importância da interação com os restantes profissionais de saúde como os técnicos, médicos e até enfermeiros, pois, considero-a fundamental para o bom funcionamento de todos os serviços e para a manutenção da harmonia necessária para um melhor desempenho de um hospital tão grande como o CHUC.

Assim, considero o contacto e a comunicação entre farmacêuticos e com os restantes profissionais de saúde vantajoso para o meu estágio, pois, tive oportunidade de aprender e conhecer outras perspetivas e de entender de facto o papel de cada um no circuito do medicamento e na promoção da saúde e bem-estar do doente.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Duração do estágio

A nível de pontos fracos, começo por destacar a duração do estágio correspondendo a cerca de dois meses, a um mínimo de 280 horas.

Pois bem, assim como considero a duração do estágio de farmácia comunitária, cerca de 4 meses, insuficiente, também não posso deixar de o referir relativamente ao estágio em FH. É muito pouco tempo para todas as capacidades necessárias e relevantes a adquirir ao longo do estágio. Para além disso, sendo o estágio dividido em várias fases, nos diversos setores, torna-se ainda mais difícil de pôr em prática os conhecimentos apreendidos, visto que a aprendizagem é todo um processo e que, em tão pouco tempo em cada setor, é impossível prepararem-nos efetivamente para prática e quotidiano de um farmacêutico hospitalar, tornando-se assim um estágio muito mais observacional.

2.2.2. Título observacional

Como referi anteriormente, penso que a duração do estágio e o tempo em cada setor se encontra diretamente relacionado com o facto do estágio ser principalmente de título observacional, uma vez que, não nos devem propor certas tarefas para o qual não estamos devidamente preparados, até porque a função do farmacêutico é de enorme responsabilidade e os nossos erros podem ter grandes repercussões. No entanto, não posso deixar de o destacar como ponto fraco porque, efetivamente e a título pessoal, considero que é ao colocar em prática que realmente se aprende e sinto que, se em certas alturas seria realmente muito complicado de aplicar de facto os conhecimentos adquiridos, noutras seria possível caso existisse disponibilidade, meios e tempo para tal.

2.2.3. Acesso ao Sistema de Gestão Integrado do Circuito do Medicamento (SGICM)

O SGICM é o sistema de informação e gestão dos serviços de FH utilizado no CHUC e apresenta diversas vantagens como a interligação dos diversos serviços contribuindo assim para a promoção do bem-estar do doente.

Ao longo do meu percurso, tive oportunidade de ir contactando com o SGICM nos diversos setores e de perceber as diferentes funcionalidades e a sua relevância para a manutenção do circuito do medicamento e, conseqüentemente, para um melhor funcionamento do hospital.

No entanto, não me foi permitido realmente explorar o programa devido às diversas razões mencionadas acima, como a falta de tempo e disponibilidade por parte dos farmacêuticos, pois, os serviços de FH encontram-se efetivamente sobrecarregados. Para além disso, e a título de sugestão para melhoria futura, considero que a criação de credenciais de acesso ao SGICM para uso exclusivo dos estagiários seria de facto uma mais-valia, visto que, permitiria aos estagiários a exploração profunda do programa e libertaria de alguma forma os farmacêuticos tutores, inclusive na realização do caderno de estagiário.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Formação externa

No decurso dos dois meses estágio, tive oportunidade de assistir e inclusive realizar formações de fonte externa em certas unidades dos serviços de FH. No setor de GAL, compareci a uma pequena formação sobre Gases Medicinais dada pela Linde, o novo fornecedor de oxigénio. A formação tinha como objetivo dar a conhecer o modo de funcionamento e as especificidades das novas garrafas de oxigénio e discutir os procedimentos de receção, manuseamento e devolução do produto. Como tal, a formação, e posterior discussão, permitiu-me não só alargar o meu conhecimento em Gases Medicinais, como também, conhecer e entender a complexidade dos processos de troca de fornecedores e a importância de a dar a conhecer a todo o pessoal relevante, de forma, a evitar desperdícios, falta de produto ou outras complicações. Já no setor de Ensaios Clínicos, realizei um pequeno curso, o ICH Boas práticas clínicas E6 (R2), o que me permitiu não só perceber melhor toda a dinâmica do setor como compreender os procedimentos e as responsabilidades de cada interveniente de um ensaio clínico.

Assim sendo, a participação nestas pequenas formações, contribuiu para a melhoria de qualidade da minha instrução, favorecendo um maior entendimento e envolvimento nos respetivos serviços.

2.4. Ameaças

2.4.1. Sobrecarga dos serviços de FH

Atualmente, o Sistema Nacional de Saúde (SNS) parece estar a passar um período complicado a nível de falta de profissionais de saúde, o que é transversal a todo o sistema inclusive no caso dos farmacêuticos hospitalares.

Indiscutivelmente, isto representa uma grande preocupação para a população e para a saúde pública em geral e não referindo todas as repercussões que podem surgir, pretendo destacar a menor qualidade de formação, e consequente falta de incentivo, dos possíveis futuros profissionais do SNS.

Assim, considero que a sobrecarga dos serviços de FH constituiu uma ameaça para o meu estágio, pois, sinto que a falta de meios, de condições de trabalho e indisponibilidade por parte dos farmacêuticos prejudicou consideravelmente a minha formação ao longo dos dois meses de estágio.

2.4.2. Pandemia COVID-19 e período de férias

O meu estágio decorreu entre os meses de maio e junho de 2022 e, como tal, não só envolveu uma altura atribulada a nível de COVID-19 no CHUC, como também, incluiu o início do período de férias.

Posto isto, e adicionando a influência da sobrecarga dos serviços farmacêuticos referida acima, torna-se evidente a falta de pessoal presenciada nos serviços e, consequentemente, o enorme impacto que tudo isto vai gerar na qualidade da formação dos estagiários.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao redigir o presente relatório, é para mim notório o quão enriquecedor foi a realização do estágio curricular em FH no CHUC.

Apesar de todas as adversidades, os dois meses de estágio proporcionaram-me uma imensidão de novas experiências e de novos conhecimentos. De destacar, a perceção do papel do farmacêutico hospitalar e a participação nas suas funções nos diferentes setores, o contacto com circuito do medicamento e a importância da sua manutenção e, por fim, a convivência com os profissionais de saúde que se tornou de igual forma impulsionador.

Para além disso, e em jeito de conclusão, o estágio em FH no CHUC permitiu-me presenciar a realidade de trabalho no setor público e, em comparação com o estágio em FC, proporcionou-me uma perceção completamente distinta e uma noção dos desafios de exercer em cada um dos setores, público e privado.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - CONSELHO DO COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR - Manual de boas práticas de farmácia hospitalar. (2020) 93.
2. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA) - Guideline for good clinical practice E6(R2). **Committee for Human Medicinal Products**. (2016) 1–68.
3. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - CONSELHO DO COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR - Manual de preparação de citotóxicos. (2013) 82.
4. BROU, Maria Helena Lamas *et al.* - Manual da farmácia hospitalar. **Ministério da Saúde**. ISSN 1098-6596. (2005) 69.

5. ANEXOS

Anexo I. Trabalho final: Papel do farmacêutico em antibioterapia

PAPEL DO FARMACÊUTICO NO STEWARDSHIP ANTIBIOTERAPIA

Ana Raquel Lopes Calvo | Rita Lopes Rebelo | Sara Sofia Gaspar Marques

Junho 2022



PAPEL DO FARMACÊUTICO NO STEWARDSHIP ANTIBIOTERAPIA

01 Indicação terapêutica na prescrição médica

- Alertar o profissional de saúde quando o antibiótico prescrito não tem indicação
 - Discutir a indicação terapêutica com o profissional de saúde
 - Promover a educação de toda a equipa no sentido da importância da indicação da utilização do antibiótico na prescrição médica
-

02 Duração do antibiótico

- Alertar o médico caso a antibioterapia exceda a duração recomendada
 - Discutir com o médico a duração da terapêutica, no momento da alta hospitalar
-

03 Sobreposição de cobertura aneróbia

- Alertar o médico caso os antibióticos prescritos tenham espectro de atividade sobreponível
 - Discutir o caso com o médico e considerar descontinuação de um dos antibióticos de forma a evitar a duplicação
-

04 Prescrição de Fluoroquinolonas

- Rever as indicações terapêuticas e averiguar necessidade
 - Discutir com os profissionais de saúde alternativas terapêuticas
 - Rever os padrões de suscetibilidade às fluoroquinolonas
 - Contribuir para a educação dos profissionais de saúde para os efeitos adversos associados ao uso dos antibióticos.
-

05 Bacteriúria assintomática

- Avaliar e discutir a existência de sinais e sintomas de infeção no trato urinário
- Alertar para a prescindibilidade da antibioterapia nos casos de bacteriúria assintomática

06 Reavaliação terapêutica

- Avaliar os resultados microbiológicos
- Sugerir descontinuação, alteração ou ajuste do antibiótico, caso necessário

07 Indicação devidamente documentada

- Verificar que o antibiótico prescrito tem uma indicação devidamente documentada
- Fornecer toda a documentação necessária aos restantes profissionais de saúde e alertar para a necessidade da mesma

08 Acompanhamento farmacoterapêutico

- Garantir o uso racional do antibiótico
- Identificar interações medicamentos e possíveis incompatibilidades
- Identificar reações adversas
- Garantir o devido ajuste de dose em doentes com função renal comprometida

09 Verificação de reações alérgicas à penicilina

- Obter informações detalhadas relativamente à reação alérgica
- Rever a utilização de outros antibióticos
- Abordar/estudar a possibilidade de o doente tomar determinados beta lactâmicos com a devida segurança

10 Papel do estagiário no Stewardship

- Garantir a correta seleção e utilização dos antibióticos
- Planeamento de estratégias para prevenir o desenvolvimento de resistências
- Garantir a contínua atualização de conhecimento de toda a equipa

Anexo 2. Legislação vigente na cedência de medicação hospitalar

Patologia Especial	Dispensa em Farmácia Hospitalar	Condições de prescrição	Legislação
<p>ARTRITE REUMATÓIDE, ESPONDILITE ANQUILOSANTE, ARTRITE PSORIÁTICA, ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL, POLIARTICULAR E PSORÍASE EM PLACAS</p>	<p>Âmbito</p> <p>Medicamentos referidos no anexo da Portaria n.º 48/2016, de 22 de março na sua atual redação: Etanercept (AR, AP, EA, AIJ, PP), Adalimumab (AR, AP, EA, AUP, PP), Infliximab (AR, AP, EA, PP), Ustekinumab (PP, AP); Golumumab (AR, EA, AP, AUP, PP), Secudinumab (PP, AP, EA), Risancizumab (PP), Ixecizumab (PP), Tildracizumab (PP), Guselcumab (PP), Tofacitinib 11 mg (AR), Tofacitinib 5 mg (AR, AP), Brodalumab (PP), Baricitinib (AR), Upadacitinib (AR), Tocilizumab (AR), Certolizumab pegol (AR, AP, EA), Anacina (AR), Abatacept (AR)</p> <p>Procedimento de registo mínimo</p>	<p>Condições de prescrição</p> <p>Os medicamentos constantes do anexo à presente Portaria podem apenas ser prescritos em consultas especializadas no diagnóstico e tratamento da artrite reumatóide, espondilite anquilosante, artrite psoriática, artrite idiopática juvenil poliarticular e psoríase em placas, devendo o médico prescriptor mencionar expressamente o regime excecional aqui previsto.</p> <p>Entende-se por consulta especializada aquela que disponha dos meios técnicos e humanos adequados ao acompanhamento do doente desde o início do tratamento e, especialmente, em caso de reação adversa ao medicamento, devendo a mesma funcionar diariamente, de forma organizada, com horário definido, e dispor de uma equipa com, pelo menos, dois médicos, um dos quais coordena</p> <p>O centro prescriptor terá de estar registado no site da Direção- Geral da Saúde.</p> <p>Medicamentos prescritos em serviços de medicina interna, pneumologia ou pediatria dos hospitais centrais ou em hospitais pediátricos</p>	<p>Portaria n.º 48/2016, de 22 de março, atualizada no Anexo I pela Deliberação n.º 070/CD/2020, de 3 de setembro</p> <p>Portaria n.º 99/2022 de 21 de fevereiro</p>
<p>FIBROSE QUÍSTICA</p>	<p>(c) Medicamentos prescritos e dispensados em serviços de medicina interna, pneumologia ou pediatria dos hospitais classificados no grupo III da Portaria n.º 82/2014, de 10 de abril</p> <p>Lista de medicamentos aprovados no CHUC (doentes adultos)</p>	<p>Prescrição exclusiva em consultas de nefrologia e/ou centros de diálise hospitalares, públicos ou privados, devendo na receita constar a menção expressa «Doente renal crónico» ou da presente Portaria;</p>	<p>Despacho 24/89, de 2/2; Portaria n.º 1474/2004, de 21/12; Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de junho que revoga a Portaria n.º 924-A/2010 de 17 de Setembro</p>
<p>DOENTES INSUFICIENTES RENAIS CRÓNICOS E TRANSPLANTADOS RENAIS</p>	<p>Medicamentos incluídos no anexo da Portaria n.º 255/2018, de 07 de setembro</p> <p>Lista de medicamentos aprovados no CHUC</p>	<p>Prescrição exclusiva em consultas de nefrologia e/ou centros de diálise hospitalares, públicos ou privados, devendo na receita constar a menção expressa «Doente renal crónico» ou da presente Portaria;</p>	<p>Portaria n.º 255/2018, de 7 de setembro</p>
<p>DOENTES INSUFICIENTES RENAIS CRÓNICOS</p>	<p>Medicamentos contendo ferro para administração intravenosa; Medicamentos (DC): epoetina alfa; epoetina beta; epoetina zeta; darbepoetina alfa; Metoxipolietilenoiglicol-epoetina beta.</p>	<p>Prescrição feita por especialista de nefrologia e destinada a IRC em diálise (seguidos em Unidades hospitalares ou Centros de diálise extra-hospitalares) ou em fase pré-dialítica (seguidos em Consulta Externa de Nefrologia). A primeira requisição de eritropoetina deve ser acompanhada de relatório clínico justificativo do tratamento do doente (Despacho n.º 9825/98, 13/05)</p>	<p>Despacho n.º 10/96, de 16/05; Despacho n.º 9825/98, 13/05, alterado pelo Despacho n.º 6370/2002, de 07/03, Despacho n.º 22569/2008, de 22/08, Despacho n.º 29793/2008, de 11/11 e Despacho n.º 5821/2011, de 25/03</p>

<p>PROFILAXIA DA REJEIÇÃO AGUDA DE TRANSPLANTE RENAL ALOGÉNICO</p>	<p>Ácido micofenólico, micofenolato de mofetil sirolimus, tacrolimus, everolimus</p>	<p>Prescrição por médicos especialistas, nos serviços de nefrologia (unidades de transplante renal), devendo o médico prescriptor fazer na receita menção expressa do presente despacho</p>	<p>Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06</p>
<p>PROFILAXIA DA REJEIÇÃO AGUDA DO TRANSPLANTE CARDÍACO ALOGÉNICO</p>	<p>Micofenolato de mofetil, tacrolimus, everolimus</p>	<p>Prescrição por médicos especialistas, nos serviços de cardiologia (unidades de transplante cardíaco), devendo o médico prescriptor fazer na receita menção expressa do presente despacho.</p>	<p>Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06</p>
<p>PROFILAXIA DA REJEIÇÃO AGUDA DE TRANSPLANTE HEPÁTICO ALOGÉNICO</p>	<p>Micofenolato de Mofetil, tacrolimus</p>	<p>Prescrição por médicos especialistas, nos serviços de transplante hepático, devendo o médico prescriptor fazer na receita menção expressa do presente despacho.</p>	<p>Despacho n.º 6818/2004, de 10/03, alterado pelo Despacho n.º 3069/2005, de 24/01, Despacho n.º 15827/2006, de 23/06, Despacho n.º 19964/2008, de 15/07, Despacho n.º 8598/2009, de 26/03, Despacho n.º 14122/2009, de 12/06, Despacho n.º 19697/2009, de 21/08, Despacho n.º 5727/2010, de 23/03, Despacho n.º 5823/2011, de 25/03, Despacho n.º 772/2012, de 12/01, Declaração de retificação n.º 347/2012, de 03/02 e Despacho n.º 8345/2012, de 12/06</p>

<p>Infeção VIH/SIDA PROFILAXIA PÓS-EXPOSIÇÃO</p>	<p>Medicamentos antiretrovíricos com indicação para o tratamento da infeção pelo VIH, nos termos e condições referidas no Despacho nº 6716/2012</p>	<p>A prescrição (e dispensa) depende cumulativamente de:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Prescrição por médicos especialistas das unidades hospitalares do SNS; b) As pessoas com VIH/sida estarem notificadas (Centro de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmissíveis do Instituto Nacional Ricardo Jorge) de acordo com sistema de notificação obrigatória em vigor; c) Prescrição eletrónica e dispensa registada através do SI.VIDA; d) Existência de registos dos cuidados prestados no Sistema SI.VIDA de acordo com os requisitos da DGS. <p>A prescrição dos medicamentos deve obedecer às recomendações/normas de orientação clínica emanadas pela DGS, sob proposta do Programa Nacional para a Infeção VIH/Sida.</p>	<p>Despacho nº 6716/2012 de 17/05 Norma 29/2017 da DGS; Despacho 280/96, alterado pelo Despacho 5772/05</p>
<p>- DEFICIÊNCIA DA HORMONA DE CRESCIMENTO NA CRIANÇA; - SÍNDROMA DE TURNER; - PERTURBAÇÕES DO CRESCIMENTO; - SÍNDROME DE PRADER-WILLI; - TERAPÉUTICA DE SUBSTITUIÇÃO EM ADULTOS</p>	<p>Medicamentos contendo hormona de crescimento abrangidos pelo presente regime excecional de comparticipação, após a emissão de parecer favorável da Comissão Nacional para a Normalização da Hormona do Crescimento (CNNHC), podem ser utilizados em doentes com as seguintes patologias:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Deficiência de somatotropina na criança; b) Síndrome de Turner; c) Estatura baixa em crianças que nasceram pequenas para a idade gestacional (SGA — small for gestational age) e que não conseguiram uma recuperação da estatura até aos 4 anos ou mais de idade; d) Síndrome de Prader -Willi; e) Terapêutica de substituição em adultos com pronunciada deficiência isolada em somatotropina com início na idade pediátrica; f) Crianças com estatura baixa grave associada a Doença Renal Crónica (DRC); g) Crianças com estatura baixa grave associada a mutação do gene SHOX h) Adultos com deficiência grave de somatotropina no contexto de insuficiência Ante -hipofisária Múltipla. 	<p>Prescrição por médicos especialistas em endocrinologia ou pediatria, em estabelecimentos do SNS, devendo a prescrição mencionar o presente regime excecional de comparticipação</p>	<p>Despacho n.º 12455/2010, de 22/07</p>

ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA)	Riluzol	Prescrição por médicos especialistas, nos respetivos serviços especializados dos hospitais, nomeadamente serviços de neurologia, devendo da receita médica constar referência expressa a este despacho.	Despacho n.º 8599/2009, de 19/03, alterado pelo Despacho n.º 14094/2012, de 16/10
SINDROMA DE LENNOX-GASTAUT	Taloxa® (felbamato)	Prescrição por especialistas em neurologia ou pediatria, devendo da receita médica constar referência expressa ao presente despacho.	Despacho 13 622/99, de 26/5
PARAPLEGIAS ESPÁSTICAS FAMILIARES E ATAXIAS CEREBELOSAS HEREDITÁRIAS, nomeadamente a doença de Machado-Joseph	Medicação antiespástica, anti-depressiva, indutora do sono e vitamínica, desde que prescrita em consultas de neurologia dos hospitais da rede oficial e dispensada pelos mesmos hospitais	Prescrição em consultas de neurologia dos hospitais da rede oficial, devendo o médico confirmar por escrito, na receita, que se trata de um doente abrangido por este despacho.	Despacho n.º 19 972/99 (2.ª série), de 20/9
Profilaxia de Pré-exposição da Infecção por VIH no Adulto	Emtricitabina+tenofovir	A prescrição de profilaxia de pré-exposição, deve ser realizada por médicos que integram a rede de referenciação hospitalar para a infeção por VIH	Norma da DGS 025/2017
DOENTES COM HEPATITE C	Boceprevir; Peginterferão alfa 2- α ; Peginterferão alfa 2-b; Ribavirina; Sofosbuvir; Ledipasvir + Sofosbuvir; Dasabuvir; Ombitasvir + Paritaprevir + Ritonavir.	A prescrição deve ser feita por médico pertencente a hospital do Serviço Nacional de Saúde que, na sua orgânica, inclua serviço ou consulta especializada no tratamento de doentes com esta patologia.	Portaria n.º 158/2014, de 13/02, alterada pela Portaria n.º 114-A/2015, de 17/02, Portaria n.º 216-A/2015, de 14/04 e pela Portaria n.º 146-B/2016, de 12 de maio.
ESCLEROSE MÚLTIPLA (EM)	Acetato de glatirámero; Fumarato de dimetil; Interferão -beta 1 α ; Interferão -beta 1b; Peginterferão beta -1 α ; Teriflunomida; Cladribina; Alemtuzumab	Medicamentos prescritos por médicos neurologistas nos respetivos serviços especializados dos hospitais integrados no Serviço Nacional de Saúde (SNS), nomeadamente, serviços de neurologia, devendo na receita médica constar a referência expressa à presente Portaria.	Portaria n.º 330/2016 de 20 de dezembro, atualizada pela Portaria n.º 302/2018 de 26 de novembro
DOENTES ACROMEGÁLICOS	Análogos da somatostatina: Lanreotida; Octreotido (Tratamento de doentes que apresentaram resposta inadequada à cirurgia e ou radioterapia e nos quais um tratamento médico apropriado com análogos da somatostatina não normalizou as concentrações de IGIF-I ou não foi tolerado); Pegvisomant e Pasireotido	Prescrição por médicos especialistas em endocrinologia nas instituições e serviços do Serviço Nacional de Saúde (SNS), devendo ser mencionado o regime excecional previsto na presente portaria.	Portaria n.º 321/2017, de 25 de outubro, alterada pela Deliberação n.º 29/CD/2018, de 13 de março
DOENÇA DE CROHN (DC) OU COLITE ULCEROSA (CU)	Infliximab (DC+CU); Adalimumab (DC+CU); Golimumab (CU); Vedolizumab (DC+CU); ustecinumab (DC+CU) e tofacitinib (CU)	Prescrição por médicos especialistas em gastroenterologia dos estabelecimentos do Serviço Nacional de Saúde (SNS), devendo estes fazer na receita menção expressa à presente portaria	Portaria n.º 351/2017, de 15 de novembro, na sua redação atual

<p>ICTIOSE</p>	<p>Produtos tópicos para o tratamento da icctiose: formulações tópicas contendo ureia, formulações tópicas contendo ácido salicílico, formulações tópicas contendo ácido glicólico, cremes gordos e óleos. Adalimumab</p>	<p>Prescrição por médicos dermatologistas, devendo a receita médica conter menção expressa à mesma Portaria</p>	<p>Portaria n.º 36/2018, de 26 de janeiro</p>
<p>HIDRADENITE SUPURATIVA (HIDROSADENITE SUPURATIVA OU ACNE INVERSA)</p>	<p>Adalimumab</p>	<p>Prescrição por médicos dermatologistas em consultas especializadas no diagnóstico e tratamento da hidradenite supurativa (hidrosadenite supurativa ou acne inversa) devendo o médico prescriptor mencionar expressamente o regime excecional aqui previsto. Prescritos pelos Hospitais de Referência para Doenças Hereditárias do Metabolismo com Unidades de Doenças Metabólicas, definidos pelo Despacho n.º 25822/2005, de 23 de novembro (consultas especializadas no diagnóstico e tratamento das patologias, quem dispõem igualmente de condições para o efetivo acompanhamento do doente).</p>	<p>Portaria n.º 38/2017, de 26 de janeiro</p>
<p>HIPERFENILANINEMIA</p>	<p>Cloridrato de sapropterina</p>	<p>Medicamentos prescritos pelas unidades oficiais de cuidados de saúde em situações de internamento ou em regime ambulatorio.</p>	<p>Portaria n.º 3/2022, de 03 de janeiro (é revogado o Despacho n.º 1261/2014, de 11 de janeiro, publicado no Diário da República, 2.ª série, n.º 18, de 27 de janeiro de 2014) Despacho n.º 25822/2005, de 23 de novembro, publicado no Diário da República, 2.ª série, n.º 239, de 15 de dezembro de 2005, alterado pelo Despacho n.º 4326/2008, de 23 de janeiro Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de junho que revoga a Portaria n.º 924-A/2010 de 17 de Setembro Despacho n.º 11 387-A/2003, de 23 de Maio</p>
<p>HEMOFILIA</p>	<p>(a) Anti-hemofílicos</p>	<p>Medicamentos prescritos pelas unidades oficiais de cuidados de saúde em situações de internamento ou em regime ambulatorio.</p>	<p>Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de junho que revoga a Portaria n.º 924-A/2010 de 17 de Setembro Despacho n.º 11 387-A/2003, de 23 de Maio</p>
<p>MEDICAMENTOS DO GRUPO 1 – MEDICAMENTOS ANTI-INFECIOSOS</p>	<p>(a) Medicamentos prescritos e dispensados pelos estabelecimentos e serviços integrados no Serviço Nacional de Saúde em situações de internamento ou em regime ambulatorio: 1.1.12 – Antituberculosos (a). 1.1.13 – Antileproticos (a). (a) Medicamentos prescritos e dispensados pelos estabelecimentos e serviços integrados no Serviço Nacional de Saúde em situações de internamento ou em regime ambulatorio: 16.1 – Citotóxicos (a); 16.1.1 – Alquilantes (a); 16.1.2 – Citotóxicos relacionados com alquilantes (a); 16.1.3 – Antimetabolitos (a); 16.1.4 – Inibidores da topoisomerase I (a); 16.1.5 – Inibidores da topoisomerase II (a); 16.1.6 –</p>	<p>Medicamentos prescritos pelas unidades oficiais de cuidados de saúde em situações de internamento ou em regime ambulatorio.</p>	<p>Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de junho que revoga a Portaria n.º 924-A/2010 de 17 de Setembro</p>
<p>MEDICAMENTOS DO GRUPO 16 – MEDICAMENTOS ANTINEOPLÁSICOS E IMUNOMODULADORES</p>	<p>(a) Medicamentos prescritos e dispensados pelos estabelecimentos e serviços integrados no Serviço Nacional de Saúde em situações de internamento ou em regime ambulatorio: 16.1 – Citotóxicos (a); 16.1.1 – Alquilantes (a); 16.1.2 – Citotóxicos relacionados com alquilantes (a); 16.1.3 – Antimetabolitos (a); 16.1.4 – Inibidores da topoisomerase I (a); 16.1.5 – Inibidores da topoisomerase II (a); 16.1.6 –</p>	<p>Medicamentos prescritos pelas unidades oficiais de cuidados de saúde em situações de internamento ou em regime ambulatorio.</p>	<p>Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de junho que revoga a Portaria n.º 924-A/2010 de 17 de Setembro</p>

<p>Citotóxicos que se intercalam no ADN (a); 16.1.7 — Citotóxicos que interferem com a tubulina (a); 16.1.8 — Inibidores das tirosinases (a); 16.1.9 — Outros citotóxicos (a). 16.2 — Hormonas e anti-hormonas (a); 16.2.1 — Hormonas (a); 16.2.1.1 — Estrogénios (a); 16.2.1.2 — Androgénios (a); 16.2.1.3 — Progestagénios (a); 16.2.1.4 — Análogos da hormona libertadora de gonadotropina (a); 16.2.2 — Anti-hormonas (a); 16.2.2.1 — Antiestrogénios (a); 16.2.2.2 — Antiandrogénios (a); 16.2.2.3 — Inibidores da aromatase (a); 16.2.2.4 — Adrenolíticos (a). 16.2.2.5 - Anti-progestagénios e moduladores do receptor da progesterona (a). 16.3 - Imunomoduladores (a).16.3 — Imunomoduladores (a).</p>	<p>Grupo 2 — sistema nervoso central 2.9.2. - Antipsicóticos simples para administração oral e intramuscular.</p>	<p>Prescrição por médicos especialistas em psiquiatria, psiquiatria da infância e adolescência ou neurologia, nos estabelecimentos hospitalares do SNS com menção expressa ao presente despacho</p>	<p>Despacho n.º 5609/2021</p>
<p>MEDICAMENTOS ANTIPSIQUICÓTIICOS SIMPLES PERTENCENTES AO GRUPO 2 — SISTEMA NERVOSO CENTRAL</p>	<p>Fórmula para lactentes durante o primeiro ano de vida</p>	<p>Sujeita a prescrição do médico pediatra do hospital do SNS onde a criança é seguida</p>	<p>Circular DGS nº 23/DSR</p>
<p>FORNECIMENTO DE FÓRMULAS PARA LACTENTES EM MÃES INFETADAS PELO VIH/SIDA CIRURGIA DE AMBULATÓRIO</p>	<p>Medicamentos passíveis de serem administrados por via oral, rectal ou tópica, em formulações orais sólidas ou líquidas, supositórios ou colírios, pertencentes aos seguintes grupos farmacológicos: a) Analgésicos, com excepção dos medicamentos estupefacientes psicotrópicos; b) Anti-inflamatórios não esteroides; c) Antieméticos; d) Protetores da mucosa gástrica; e) Inibidores da bomba de prótons. São ainda dispensados analgésicos estupefacientes, como seja tramadol e a codeína, sempre que estejam em causa procedimentos cirúrgicos com dor esperada no pós-operatório de intensidade não controlável somente com fármacos anti-inflamatórios não esteroides, e nos quais se revele necessária a administração de analgésicos potencialmente mais eficazes. A quantidade de medicamentos dispensada não pode ser superior à necessidade para sete dias de tratamento após a intervenção cirúrgica.</p>	<p>consulta de planeamento familiar nos serviços de Ginecologia/obstetrícia dos hospitais do SNS</p>	<p>Decreto-Lei nº13/2009, de 12 de Janeiro</p>
<p>PLANEAMENTO FAMILIAR</p>	<p>contracetivos</p>	<p>Despacho nº 12 782/98 (2.a série) de 24 de julho</p>	<p></p>

Anexo 3. Exemplo de lista para controlo de prazos de validade no GAL



Farmácia/Logística Hospitalar

Artigos com o Prazo de Validade a expirar entre 20220701 e 20220731.

Data: 2022/05/06
 Hora: 12:29:20
 Pág.: 1 / 2

QHPT000R

Armazém : 51C001

Artigos		Lote	Validade	Qtd.Disp..
81020012	ACETAZOLAMIDA 125 MG COMP	254A290122A	2022/07/31	180
10010620	Ambroxol 15 mg/2 ml Sol inj Fr 2 ml IM IV SC	727857C	2022/07/30	43
	Fornecedor : 9803136 - SANOFI - PRODUTOS FARMACEUTICOS , LDA			
10006261	Ambroxol 6 mg/ml Xar Fr 200 ml	H0339	2022/07/31	7
	Fornecedor : 9804196 - TECNIMEDE - SOC. TECNICO MEDICINAL, SA			
10005095	anfotericina B lipídica 5 mg/mL Susp inj Fr 20 mL IV	B1815925	2022/07/30	30
	Fornecedor : 9805457 - TEVA PHARMA - PRODUTOS FARMACÉUTICOS, LDA			
10098167	Anidulafungina 100 mg Pó conc sol inj Fr IV	AA9J0D08	2022/07/31	39
	Fornecedor : 9807137 - ACCORD HEALTHCARE UNIPessoal LDA (COMBINO PHARM)			
10050756	Atovaquona 150 mg/ml Susp oral Fr 226 ml	243S	2022/07/31	2
	Fornecedor : 9801364 - GLAXOSMITHKLINE PRODUTOS FARMACEUTICOS, LDA			
10058750	Besilato de cisatracúo 5 mg/ml Sol inj Fr 30 ml IV	2106211	2022/07/31	817
	Fornecedor : 9807137 - ACCORD HEALTHCARE UNIPessoal LDA (COMBINO PHARM)			
10088059	Budesonida 400 µg/dose Pó inal Recip multíd 100 dose(s)	V07A1R	2022/07/31	42
	Fornecedor : 9804196 - TECNIMEDE - SOC. TECNICO MEDICINAL, SA			
10127260	Burosumab 10 mg/1 ml Sol inj Fr 1 ml SC	B23996	2022/07/31	2
84010070	Citrato de sódio 40 mg/ml Sol estéil Sac 1500 ml	B3LH131	2022/07/31	96
	Fornecedor : 9800138 - FRESENIUS MEDICAL CARE PORTUGAL, SA			
81021151	CLONazepam 0,25 mg Comp	25E2190122A	2022/07/31	30
10129520	Cloreto de cálcio 100 mmol/l Sol inj Fr 1500 ml IV	B3LH161	2022/07/31	8
	Fornecedor : 9800138 - FRESENIUS MEDICAL CARE PORTUGAL, SA			
10047621	Dalteparina sódica 2500 U.I./0.2 ml Sol inj Ser 0.2 ml SC	DP6069	2022/07/31	50
	Fornecedor : 9801623 - LABORATORIOS PFIZER, LDA			
84020331	Desinfetante ArjoClean Emb 3L	20D2116	2022/07/30	9
	Fornecedor : 9822714 - TDGI TECNOLOGIA DE GESTÃO DE IMOVEIS S.A.			
10074807	Diazóxido 25 mg Cáps	9293A	2022/07/29	800
	Fornecedor : 9823313 - FARMA MONDO IBERIA SUCURSAL			
10038832	Enalapril 2.5 mg Comp	233A250122A	2022/07/31	91
10067734	EScitalopram 5 mg Comp	264A200122A	2022/07/31	90
10098780	Esomeprazol 40 mg Cáps GR	SH4723	2022/07/30	7728
	Fornecedor : 9806911 - GENERIS FARMACEUTICA, SA			
10065950	Fludarabina 10 mg Comp	91362GA	2022/07/30	20
	Fornecedor : 9600188 - WEP CLINICAL (WE PHARMA)			
10055002	Foscarnet sódico 24 mg/ml Sol inj Fr 250 ml IV	16PH8820	2022/07/30	12
	Fornecedor : 9802685 - FRESENIUS KABI PHARMA PORTUGAL, LDA			
81021294	halOPERIDol 0,5 mg Comp	2025290122A	2022/07/31	259
10058112	Lenograstim 33.6 M.U.I. Pó sol inj Fr IV SC	CS123	2022/07/31	155
	Fornecedor : 9803136 - SANOFI - PRODUTOS FARMACEUTICOS , LDA			
10006628	Lidocaina 25 mg/g + Prilocaina 25 mg/g Pens impreg Saq	XH3700	2022/07/30	280
	Fornecedor : 9821103 - BDRPHARMA, LDA			
10074885	Lomustina 40 mg Cáps	G190471B	2022/07/30	340
	Fornecedor : 9821898 - RB PRODUTOS FARMACEUTICOS UNIPessoal, LDA			
10057811	Nandrolona, decanoato 50 mg/1 ml Sol inj Fr 1 ml IM	C0LX1M	2022/07/30	5
	Fornecedor : 9821103 - BDRPHARMA, LDA			
10089702	Nitroglicerina 5 mg/ml Sol inj Fr 5 ml IV	934002	2022/07/31	240
	Fornecedor : 9801623 - LABORATORIOS PFIZER, LDA			
10079284	Noradrenalina 1 mg/ml Sol inj Fr 1 ml IV	18T3160	2022/07/30	26
10035081	Pentostatina 10 mg Pó sol inj Fr IV	DJ5570	2022/07/31	4
	Fornecedor : 9801623 - LABORATORIOS PFIZER, LDA			
81021448	Perindopril 2.5 mg Comp	2921290122A	2022/07/31	330

Anexo 4. Exemplo de rótulo para preparação na UPC

Daunorrubicina 20 mg pó e solvente para solução injetável
Modo de preparação:

- 1° Reconstituir o pó com 10 ml de sol. SF 0.9%.
- 2° Concentração obtida: 2 mg/ml
- 3° Misture suavemente até completa dissolução.
- 4° Após reconstituição, a solução é estável até 24 horas a 30°C ou até 48 horas entre 2-8°C
- 5° Diluir em 100 ml SF.

Anexo 5. Exemplo de rótulo para cedência no ambulatório do Edifício de São Jerónimo

Talazoparib _____ mg cápsulas (Talzenna®)

Tomar: _____ cáps 1x/dia

As cápsulas devem ser engolidas inteiras e não devem ser abertas nem dissolvidas. Podem ser tomadas com ou sem alimentos.

Se vomitar ou se esquecer de tomar 1 dose, não tome uma dose adicional, tome a dose seguinte como habitualmente

Anexo 6. Exemplo de guia de preparação na UMIV

Guia de Preparação - COLÍRIOS

116428027	Ciclosporina 10 mg/ml Col, emuls	Fr 10 ml	Nº Preparações 4
Lote: 112/22	Prazo de utilização: 14/07/2022	Conservação: Conservar < 25°C.	

Código	DCI /Marca Comercial		Fr 10 ml	nº unt
116804111	Ciclosporina 50mg/ml, Sandimmun	novartis santa deu/24	100 mg/2 ml	8 amp
116428020	HIDROXIPROPILMETILCELULOSE 0,3% E DEXTRANO 0,1% COLIRIO FRS	alcon OFL51B jan/23	8 ml	3 frs

Técnica de Preparação

1	Colocar 8 ml de lágrimas artificiais no frasco conta-gotas para colírio.
2	Adicionar 2 ml Ciclosporina 50mg/ml ao frasco de com lágrimas artificiais.
3	Fechar o frasco. Homogeneizar e rotular no exterior da CFLH.
4	
5	
6	
7	
8	
9	

Rótulo

TDT manip.: _____

TDT apoio: _____

Farmacêutico: _____

Farmacêutico: _____

PARTE III

Monografia

**“Sistema CRISPR-Cas e o seu impacto na
resistência aos antibióticos”**

Sob orientação da Professora Doutora Sara Margarida dos Santos Domingues

Lista de Abreviaturas

Acr Anti-CRISPR

Bp Pares de bases do inglês *base pairs*

Cas CRISPR-associated

CRISPR-Cas *Clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated*

crRNA CRISPR-RNA

DNA Ácido desoxirribonucleico do inglês *deoxyribonucleic acid*

dsDNA DNA de dupla cadeia do inglês *double-stranded DNA*

HGT Transferência horizontal de genes do inglês *horizontal gene transfer*

MGEs Elementos genéticos móveis do inglês *mobile genetic elements*

OMS Organização Mundial de Saúde

PAM *Protospacer adjacent motif*

RNA Ácido ribonucleico do inglês *ribonucleic acid*

RESUMO

As infecções bacterianas, particularmente as provocadas por bactérias resistentes a antibióticos, são responsáveis por um grande número de mortes em todo o mundo. Como tal, o aumento da resistência bacteriana e consequente diminuição da eficácia dos antibióticos convencionais sentida nas últimas décadas representa uma ameaça à saúde pública, o que torna crucial a pesquisa e desenvolvimento de terapias inovadoras. Assim, surge o sistema CRISPR-Cas, um mecanismo de defesa desenvolvido pelas bactérias para combater os bacteriófagos, que tem vindo a demonstrar o seu potencial como possível antibiótico. Na presente revisão, pretende-se explorar o papel do sistema CRISPR-Cas na evolução e expansão do genoma bacteriano e como este se pode tornar revolucionador no combate à resistência bacteriana, avaliando a sua origem, características e mecanismo de ação, e destacando as suas vantagens, bem como os principais desafios no seu uso na prática clínica.

Palavras-chave: antibiótico; resistência aos antibióticos; infecção bacteriana; sistema CRISPR-Cas.

ABSTRACT

Bacterial infections, particularly those caused by antibiotic resistant bacteria, are responsible for a large number of deaths worldwide. The rise of bacterial resistance and the consequent decrease of conventional antibiotic efficiency presents a threat to public health, making it crucial to search for and develop innovative therapies. Therefore, the CRISPR-Cas system emerges, a defense mechanism developed by bacteria to fight bacteriophages that has been showed potential as a possible antibiotic. In this review, it explored the role of the CRISPR-Cas system in the evolution and expansion of the bacterial genome and how it can become revolutionary in the fight against bacterial resistance, evaluating its origin, characteristics, and mechanism of action, and highlighting its advantages, as well as its main challenges in the clinical practice.

Keywords: antibiotic; antibiotic resistance; bacterial infection; CRISPR-Cas system.

I. INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas, em particular, as provocadas por bactérias resistentes a antibióticos, são responsáveis por um grande número de mortes em todo o mundo.

Estima-se que, por ano, ocorrem aproximadamente 670 000 infecções causadas por bactérias resistentes a antibióticos na União Europeia e que cerca de 33 000 pessoas morrem como consequência destas infecções¹.

O aumento da resistência aos antibióticos e a consequente diminuição da eficácia dos mesmos tem-se revelado uma verdadeira ameaça à saúde pública e, como tal, é estritamente necessário intervir a este ponto. No entanto, tratando-se de algo tão complexo, é essencial entender tudo o que lhe está inerente desde os mecanismos de resistência até à sua transmissão e principais desafios, para assim desenvolver novos métodos de diagnóstico e de terapêutica².

A comunidade científica encontra-se em alerta para a evolução da resistência aos antibióticos e, apesar de ainda insuficientes, já se começaram a tomar medidas para o combate deste problema. Antes de mais, é crucial o reconhecimento do problema, algo que nas últimas décadas já se verificou com organizações como a Organização Mundial de Saúde (OMS) a enfatizar este tema, considerando-se fundamental o incentivo ao desenvolvimento de novos antibióticos, o que progressivamente se tem verificado com o surgimento de parcerias público-privadas e com o regresso de algumas indústrias farmacêuticas à pesquisa de novos alvos terapêuticos³. A nível da prevenção e transmissão da resistência aos antibióticos, também se tem visto progressos, sobretudo, no aumento da vigilância e controlo das infecções começando-se, finalmente, a reforçar a importância da vacinação e de boas condições de saneamento³. Apesar do progresso já alcançado, a luta contra a diminuição da eficácia dos antibióticos está longe de ficar por aqui e, tendo em conta a relevância que estes assumem nos nossos sistemas de saúde, é imperativo reunir esforços, tanto a nível nacional como internacional, com o objetivo de implementar medidas concretas e plausíveis que auxiliem no combate a esta ameaça à saúde pública³.

Assim, como referido anteriormente, há uma constante necessidade de novos antibióticos e mais efetivos, com novos mecanismos de ação e alvos terapêuticos. Nas últimas décadas, tem-se vindo a verificar uma rápida evolução a nível da engenharia genética o que, simultaneamente, levou ao surgimento de abordagens inovadoras e promissoras que podem vir a transformar o tratamento das infecções bacterianas e, assim, a combater a resistência aos antibióticos. Terapias com recurso a fagos, técnicas baseadas no uso de *peptide nucleic acids*, de *zinc finger nucleases* e de *transcription activator-like effector nucleases* começaram a aparecer,

assim como o *clustered regularly interspaced short palindromic repeats—associated* (CRISPR-Cas)⁴, um sistema que apesar de ter sido descoberto há cerca de 3 décadas só viu o seu potencial efetivamente reconhecido em 2012⁵.

Uma das maiores ameaças para as bactérias são os vírus, como os bacteriófagos, que as atacam e as tornam vulneráveis. Para contrariar isso, estas desenvolveram vários mecanismos de defesa e foi, precisamente, ao aprofundar este tema que se descobriu o CRISPR-Cas, um sistema rápido e eficiente de imunidade adaptativa desenvolvido pelas bactérias para combater os seus predadores⁶.

Desde então, o sistema CRISPR-Cas tem vindo a ser massivamente estudado e tem-se revelado uma importante técnica de edição genética que promete revolucionar não só a antibioterapia como o uso da terapia génica no tratamento de muitas outras doenças humanas⁷.

Com esta revisão pretende-se explorar o potencial do sistema CRISPR-Cas, avaliando a sua origem e suas características, bem como o seu mecanismo de ação, suas principais vantagens e limitações. Concomitantemente, procura-se avaliar o seu impacto no tratamento das infeções bacterianas e consequente papel na resistência aos antibióticos, um problema cada vez mais preocupante e desafiante para a comunidade científica.

2. RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS

2.1. Breve contextualização histórica

A história dos antibióticos teve início há milhares de anos atrás, acreditando-se que as civilizações antigas já usavam produtos naturais para combater as infeções bacterianas⁸. Um exemplo disso era a aplicação por via tópica de pão com bolor no tratamento de feridas abertas, há cerca de 2000 anos, na Sérvia, China, Grécia e Egito^{9,10}. Para além disso, um remédio de há 1000 anos atrás com atividade contra *Staphylococcus aureus*, incluindo *S. aureus* resistente à meticilina⁸, e a deteção de tetraciclina em esqueletos humanos encontrados na Núbia durante a ocupação romana do Egito¹¹, despertaram o interesse da comunidade científica e comprovam que o uso dos antibióticos começou há muito mais tempo do que poderíamos imaginar.

No entanto, apenas em 1910 foi descoberto o primeiro agente antimicrobiano usado efetivamente na prática clínica, o Salvarsan, um composto introduzido por Paul Ehrlich e seus colegas que demonstrou eficácia no tratamento da sífilis¹². Anos mais tarde, Gerhard Domagk e sua equipa desenvolveram o Prontosil, a primeira sulfonamida usada clinicamente, o que não só impulsionou a descoberta de outras sulfonamidas menos tóxicas como incitou o

desenvolvimento de outros antibióticos^{13,14}. E, finalmente, em 1928, Alexander Fleming observou a lise de colônias de estafilococos provocada pela contaminação de um fungo, conhecido como *Penicillium*, o que veio dar origem à descoberta da penicilina¹⁵, um antibiótico ainda em uso nos dias de hoje. Todas estas descobertas abriram caminho para a pesquisa e desenvolvimento de agentes efetivos no combate às infecções bacterianas, no entanto, é Selman Waksman, com o seu trabalho na capacidade dos próprios micróbios produzirem compostos com efeito antimicrobiano, que inspira as indústrias farmacêuticas e dá assim início à designada Era Dourada, uma altura repleta de descobertas e inovação no que concerne a novos antibióticos e em que se produziram pela primeira vez a maioria das classes de antibióticos que se conhecem atualmente^{9,16}.

Contudo, após este período assistiu-se a uma diminuição abrupta na inovação e desenvolvimento na área da antibioterapia e, para além disso, várias resistências aos antibióticos foram sendo identificadas ao longo dos anos, o que levou ao cenário dos dias de hoje, onde se presencia uma escassez preocupante de agentes realmente efetivos no tratamento de muitas infecções bacterianas⁹.

2.2. A emergência e disseminação da resistência bacteriana

A resistência aos antibióticos surge de forma natural como consequência da exposição aos antibióticos² e, como tal, não pode ser completamente evitada, mas sim retardada¹⁷.

A transmissão de bactérias resistentes pode-se dar de diferentes formas, podendo ocorrer entre si, de humano para humano, e inclusive através dos animais e do próprio ambiente².

Desde a sua introdução na prática clínica, os antibióticos têm sido largamente usados, inclusive observava-se um aumento excessivo da sua utilização, especialmente nos países menos desenvolvidos, assim como um aumento no uso dos antibióticos de último recurso, segundo um estudo realizado entre os anos 2000 e 2010¹⁸. Este consumo exagerado parece ser uma das razões para o avanço tão acelerado da resistência aos antibióticos assistido nas últimas décadas, acompanhado pelo seu uso inapropriado que se pode dever tanto a diagnósticos incorretos, e consequente prescrição inadequada, como à falta de instrução do consumidor que acaba por não fazer o tratamento corretamente^{17,18}. O recurso aos antibióticos para além da medicina humana, mais especificamente, na agricultura, na medicina veterinária e na produção de comida de origem animal também parece ter influência na emergência e disseminação de bactérias resistentes^{17,19}. Para além disso, a falta de condições de higiene como a deficiência no saneamento e de abastecimento de águas confiáveis, a

carência no controlo das infeções, a elevada densidade populacional e o maior número de doentes imunocomprometidos observado, principalmente nos países menos desenvolvidos, contribui para uma maior e mais rápida propagação da resistência aos agentes antibacterianos^{18,20}.

Assim sendo, e tendo em conta a enorme capacidade de transmissão das bactérias resistentes, de forma a minimizar a resistência aos antibióticos torna-se crucial atuar nos diferentes níveis e de um modo global³, sendo este um dos motivos para o elevado grau de complexidade de todo o processo.

2.3. Mecanismos de resistência

Apesar do avanço acentuado na sua disseminação no último século, a resistência aos antibióticos não é algo recente e a sua rápida transmissão relaciona-se essencialmente com as influências antropogénicas vividas nas últimas décadas que acabam por acelerar os processos de aquisição de resistência bacteriana que serão abordados de forma detalhada posteriormente²¹. Para além disso, este fenómeno parece estar verdadeiramente relacionado com as diferentes interações entre os vários organismos e o próprio ambiente²² e, sendo este um conceito complexo, envolve fatores como as interações fármaco-bactéria e bactéria-hospedeiro, assim como as taxas de mutação, as de emergência de clones resistentes bem sucedidos e as de resistência cruzada².

Muitos dos antibióticos usados nos dias de hoje surgiram como produtos naturais produzidos por outros microrganismos, como fungos e bactérias, encontrados em amostras do meio ambiente, principalmente, do solo²². Assim sendo, as bactérias em contacto com estes produtos acabaram por desenvolver mecanismos evolutivos de forma a conseguirem coexistir e sobreviver a estas moléculas, designando-se este tipo de resistência como resistência bacteriana intrínseca²² que, normalmente, é característica de uma espécie ou de um género e relativamente a certos tipos de antibióticos. Ou seja, algumas bactérias apresentam resistência a um determinado antibiótico devido a certas particularidades estruturais ou funcionais que as constituem e que impedem ou dificultam a ação do mesmo²³. Por outro lado, as bactérias podem desenvolver resistência por via de mutações em genes determinantes para o mecanismo de ação do antibiótico ou por aquisição de DNA externo através da transferência horizontal genes (HGT) e, neste caso, já estaríamos perante outro tipo de resistência, a resistência bacteriana adquirida, que se tornou o maior foco no que concerne a este problema de saúde pública²². Tanto por via de mutações como por via de HGT, pode ocorrer alteração do mecanismo de ação do antibiótico pela modificação do alvo terapêutico, por uma

diminuição da concentração celular do antibiótico que, se pode dever tanto a uma redução da permeabilidade da membrana como à ativação de bombas de efluxo, ou por intervenção em reações metabólicas essenciais para a efetividade do antibiótico²². É de notar que, por vezes, as modificações referidas anteriormente podem afetar negativamente a bactéria, assistindo-se a uma perturbação da homeostase celular e a uma redução do *fitness* e, portanto, muitas destas alterações apenas se mantêm na presença do antibiótico²².

Enquanto que, de um modo geral, no caso da resistência adquirida por mutações, ocorre substituição, remoção ou adição de nucleótidos, no caso da HGT, um processo essencial à evolução bacteriana e um dos principais responsáveis pela resistência aos antibióticos, conhecem-se atualmente três mecanismos fundamentais, nomeadamente, a conjugação, a transformação natural e a transdução²² (Figura 1). A conjugação é um processo que requer o contacto direto entre as células envolvidas e que se define como sendo a transferência de DNA através de um canal formado entre ambas as células, designado por pílus sexual²⁴. O plasmídeo, isto é, uma cadeia dupla e circular de moléculas de DNA, covalentemente fechada, com capacidade de replicação independentemente do DNA cromossómico, é o mais comumente abordado, no entanto, existem outros elementos genéticos móveis (MGEs), como os transposões, integrões e os elementos conjugativos de integração, que também se movem por conjugação, o que intensifica a complexidade do processo e, como consequência, da disseminação de genes que conferem resistência aos antibióticos²⁵. A transformação natural é um processo descoberto pela primeira vez em 1928²⁶ onde se assiste à absorção de moléculas de DNA livres no meio ambiente que são, posteriormente, incorporadas no genoma da bactéria recetora²⁵. Esta estratégia ainda não se encontra totalmente explorada em todas as espécies, no entanto, parece haver a necessidade de certas condições para a sua ocorrência, tais como, a existência de DNA livre no meio extracelular, a exigência do estado de competência das bactérias recetoras e a estabilização apropriada do DNA envolvido no processo^{24,25}. A transdução é outro mecanismo de HGT e trata-se de uma estratégia mediada por bacteriófagos, ou seja, vírus capazes de infetar bactérias, onde ocorre a transferência de material genético de uma bactéria infetada pelo vírus (dadora) para outra posteriormente infetada por esse mesmo vírus (recetora). Pode classificar-se em generalizada ou especializada e, tendo em conta o extenso período de tempo que os bacteriófagos conseguem persistir no ambiente, não há necessidade das bactérias (dadora e recetora) se encontrarem próximas para a ocorrência do processo²⁵. Entre todos os mecanismos referidos, a conjugação é o mais estudado e, para além de estar frequentemente envolvido na disseminação e emergência de resistência nos hospitais, é

também o mais provável de ocorrer com maior extensão no trato gastrointestinal humano quando sujeito a antibióticos²².

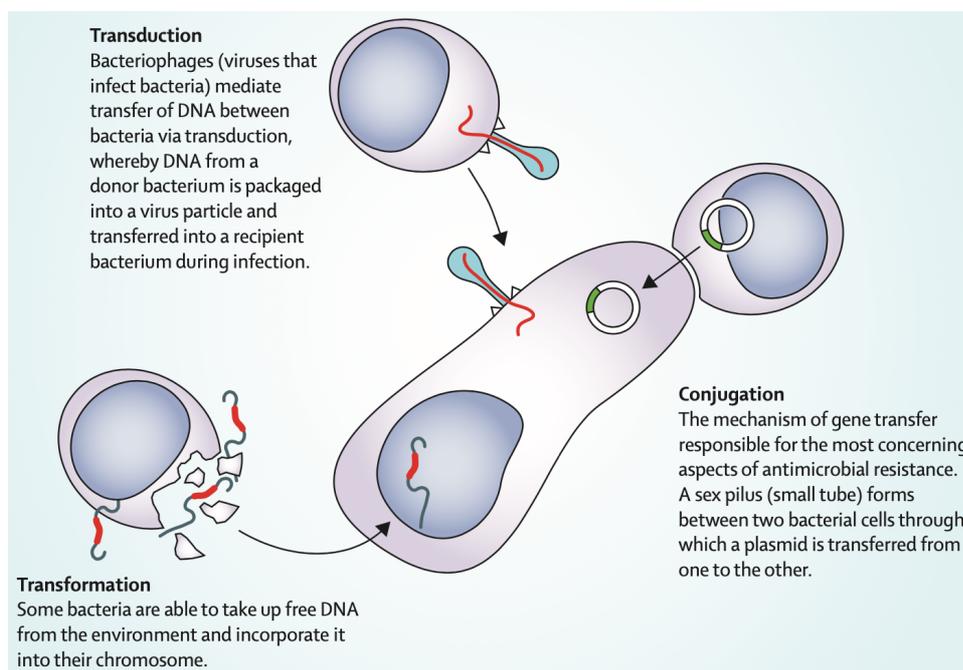


Figura 1. Mecanismos de transferência horizontal de genes (HGT)²

2.4. Impacto, progressos e principais desafios associados à resistência bacteriana

Os antibióticos reformularam indubitavelmente a medicina moderna, não só pelo seu papel no tratamento de infecções que no passado seriam, provavelmente, mortais, como na sua influência nos procedimentos médicos e cirúrgicos, como os transplantes e tratamentos contra o cancro³.

Assim, a emergência e disseminação de resistência a estes agentes terapêuticos gera grandes preocupações, uma vez que enquanto assistimos a um aumento da mesma e, consequentemente, a uma diminuição progressiva da eficácia dos antibióticos, presenciamos simultaneamente um declínio no desenvolvimento de novos antibióticos²⁷, o que gradualmente pode originar uma escassez de recursos e, portanto, um aumento do custo dos cuidados de saúde, uma diminuição da qualidade de vida e, no pior dos casos, um aumento da mortalidade¹⁹.

Este fenómeno já despertou o interesse da comunidade científica e de algumas entidades internacionais como a OMS e, como tal, começaram-se a tomar medidas para o controlo e vigilância da resistência aos antibióticos, no entanto, o problema está longe de se encontrar resolvido. Segundo a OMS, as estratégias devem incidir na vigilância da resistência e do uso dos antibióticos, no uso racional e regulamentação dos antibióticos, no controlo do

uso dos antibióticos na indústria alimentar, na prevenção e controlo das infeções, no incentivo à inovação e, por fim no compromisso político²⁸. Medidas como a implementação de programas de *antibiotic stewardship* nos hospitais e outros centros de cuidados de saúde; políticas e programas de educação para o uso racional de antibióticos na medicina humana, veterinária e agricultura; estabelecimento e consciencialização de medidas para a prevenção e controlo de infeções como o incentivo à vacinação e aos cuidados de higiene; vigilância e regulamentação do uso dos antibióticos e deteção de resistências tanto a nível humano como animal; e fortalecimento dos sistemas nacionais de saúde são algumas das medidas propostas e já implementadas em vários países que prometem reduzir a disseminação de genes resistentes aos antibióticos¹⁹. De forma a combater esta ameaça à saúde pública, é imperativo atuar em diferentes frentes e de um modo conjunto, não bastando atuar a nível nacional mas também a nível internacional, consciencializando e regulamentando não só os consumidores mas todas as estruturas envolvidas na produção, distribuição, regulamentação, prescrição e dispensa dos medicamentos, e agir tanto a nível humano como animal, e até mesmo ambiental, uma vez que a transmissão de genes resistentes pode acontecer entre os vários reservatórios²⁸.

Resumidamente, pretende-se limitar o uso excessivo e desnecessário dos antibióticos, simultaneamente garantir o seu acesso a todos os que deles beneficiarem, produzir antibióticos que colmatem necessidades clínicas ainda não atendidas e tornar a pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos promissora e rentável novamente²⁷. Com o objetivo de direcionar os esforços para os agentes patogénicos de maior relevância, relativamente à gravidade, frequência de infeções e multirresistência aos antibióticos, a OMS publicou uma lista das bactérias que devem ser prioritárias na pesquisa e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos²⁹(Tabela I).

Tabela I. Agentes patogénicos prioritários na pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos, segundo a OMS²⁹

Prioridade	Agente patogénico	Resistência aos antibióticos
Crítica	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Resistente aos carbapenemos
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Resistente aos carbapenemos
	<i>Enterobacteriaceae</i>	Resistente aos carbapenemos, produtoras de beta-lactamases de largo espectro
Elevada	<i>Enterococcus faecium</i>	Resistente à vancomicina
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Resistente à meticilina, com sensibilidade intermédia e resistência à vancomicina
	<i>Helicobacter pylori</i>	Resistente à claritromicina
	<i>Campylobacter spp.</i>	Resistente às fluoroquinolonas
	<i>Salmonella spp.</i>	Resistente às fluoroquinolonas
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Resistente à cefalosporina, resistente às fluoroquinolonas
Média	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Sem sensibilidade à penicilina
	<i>Haemophilus influenzae</i>	Resistente à ampicilina
	<i>Shigella spp.</i>	Resistente às fluoroquinolonas

Naturalmente, as bactérias ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, e as espécies *Enterobacter*)³⁰ estão incluídas na lista divulgada pela OMS e devem ser o maior foco no desenvolvimento de novos antibióticos. Estes agentes patogénicos representam uma ameaça à saúde pública, não só pela sua patogénese, transmissão e multirresistência aos antibióticos, mas também por serem a causa da maioria das infeções nosocomiais³⁰, onde os indivíduos se encontram mais vulneráveis e onde se desenvolvem grande parte das resistências.

Posto isto, a comunidade científica viu-se obrigada a procurar alternativas aos antibióticos convencionais e, por consequência do avanço na engenharia genética sentido nas últimas décadas, surgiu o sistema CRISPR-Cas, uma tecnologia avançada e igualmente promissora que promete revolucionar o tratamento das infeções bacterianas.

3. SISTEMA CRISPR-CAS

3.1. A descoberta do sistema CRISPR-Cas e o seu mecanismo de ação

A história do sistema CRISPR-Cas teve início em 1987, quando inesperadamente é detetada uma enigmática sequência repetitiva de DNA no genoma da bactéria *Escherichia coli*, enquanto apenas se pretendia analisar a sequência nucleotídica do gene *iap*, o gene responsável pela conversão da isoenzima da fosfatase alcalina nesta bactéria³¹. Em 1993, uma sequência com as mesmas características foi observada, mas neste caso, durante o estudo da expressão do genoma de *Haloferax mediterranei*, um procarionta pertencente ao domínio arqueia³². Desde então, e acompanhando o abrupto avanço na área da biotecnologia e engenharia genómica das últimas décadas, a deteção deste tipo de sequências em outros procariontas, tanto a nível das bactérias como das arqueia, veio a ser cada vez mais usual. No entanto, a função desta peculiar sequência de nucleótidos permanecia uma incógnita. Foi em 2005 que se verificou a relação entre o sistema CRISPR-Cas e o sistema imune dos procariontas que o detêm. Avaliando a similaridade de sequências *spacer*, pertencentes ao CRISPR, e de sequências de DNA externo provenientes de bacteriófagos, vírus arqueia ou até plasmídeos, verificou-se que o sistema CRISPR-Cas representa um importante papel no mecanismo de defesa das bactérias e das arqueia contra esse tipo de invasores³³. Concomitantemente, procedeu-se à identificação dos genes *CRISPR-associated (cas)*, inicialmente apenas 4, e comprovou-se a sua relação funcional com o sistema, sistema este que apenas em 2002, se começou a denominar CRISPR-Cas³⁴. Assim, nos últimos anos, tem-se assistido a uma rápida evolução no conhecimento desta tecnologia, desde os seus mecanismos moleculares até às suas limitações e possíveis aplicações.

O sistema CRISPR-Cas caracteriza-se por pequenas sequências repetidas de DNA que, geralmente, desenvolvem estrutura palindrómica. Entre estas curtas repetições e de forma regular, apresenta sequências de tamanho semelhante mas não repetitivas, os *spacers*, o que difere esta sequência de muitas outras, também elas repetitivas³⁴ (Figura 2). O tamanho, tanto das sequências repetitivas como dos *spacers*, varia consoante o microrganismo, podendo conter entre 24-40 pares de bases (bp) e 20-58 bp, respetivamente⁵. Apresenta uma sequência que contém o promotor para a sua expressão, designada sequência líder, contendo cerca de 300-500 bp e que, à semelhança das sequências repetidas, é conservada dentro da mesma espécie, mas diferente entre espécies³⁴. Adjacente ao CRISPR, foram detetados genes *cas*³⁴, que ao codificarem as proteínas Cas, exibem um papel essencial no funcionamento de todo o sistema CRISPR-Cas, permitindo a clivagem de material genético externo em pequenos

fragmentos, fornecendo assim imunidade ao procarionota contra bacteriófagos ou outros MGEs³⁵.

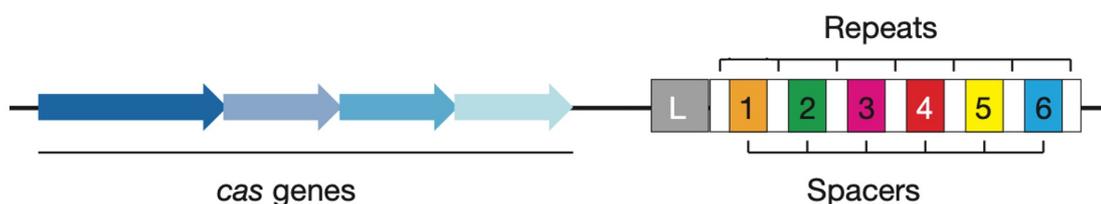


Figura 2. Representação básica da arquitetura do sistema CRISPR-Cas⁶

Resumidamente, quando de uma infecção viral, por exemplo, a bactéria adquire pequenos fragmentos do genoma viral e integra-os no seu sistema CRISPR, os quais se passam a denominar *spacers*. Estes *spacers* são transcritos, acompanhados das sequências repetidas adjacentes, formando pequenas unidades de RNA, os CRISPR-RNAs (crRNAs). Posteriormente, durante uma infecção pelo mesmo vírus, os crRNAs funcionam como guias devido à sua homologia com o DNA externo e direcionam as proteínas cas, com as quais acabam por formar complexos, para o genoma viral, provocando a clivagem do DNA externo e tornando a bactéria imune a esse invasor⁵. Todo este processo se divide em três fases distintas e bem definidas, nomeadamente, a adaptação, a expressão e a de interferência (Figura 3). Na fase inicial, dá-se o reconhecimento e incorporação de pequenos elementos genéticos provenientes do genoma do invasor, seja ele um vírus ou um MGE, no sistema CRISPR do hospedeiro, adquirindo este um novo *spacer*⁵. Este processo ocorre com recurso a duas proteínas, a Cas 1 e a Cas 2, que formam um complexo estável e permitem a aquisição do novo *spacer*³⁶. Estas proteínas são as únicas presentes em todos os tipos de sistemas CRISPR-Cas e sem elas a fase de adaptação não ocorreria³⁶. Na segunda fase do processo, a de expressão, dá-se a transcrição e processamento do pre-crRNA em pequenos crRNAs⁵. Assim sendo, quando de uma infecção consecutiva, decorre a fase de interferência⁵, onde ocorre a formação de um complexo efetor entre o crRNA e as proteínas cas que permite a deteção, através da complementaridade do crRNA com a sequência do genoma invasor, e posterior clivagem do material genético externo³⁷.

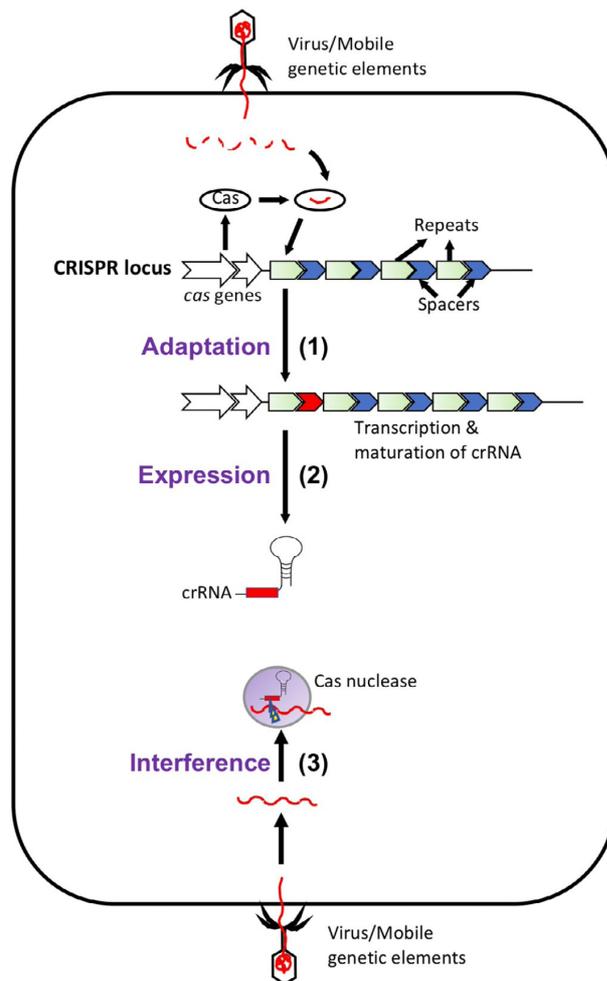


Figura 3. As três fases da imunidade mediada pelo sistema CRISPR-Cas⁵

Tendo em conta a complexidade da arquitetura de todo o sistema e evolução extremamente rápida e dinâmica que se tem assistido relativamente a esta ferramenta de edição genética, a classificação em diferentes tipos e subtipos do sistema CRISPR-Cas não tem sido fácil, necessitando de incluir múltiplos critérios³⁸, no entanto, vários autores procederam à sua classificação^{38,39,40}. Em 2015, classifica-se pela primeira vez o sistema CRISPR-Cas em duas classes distintas, considerando a arquitetura do módulo efetor responsável pela fase de interferência e, por vezes, pelo processamento do crRNA³⁹. Para além disto, na altura, o sistema dividia-se em apenas 5 tipos e 16 subtipos, sendo que em 2020 se soma mais 1 tipo (tipo VI) e 17 subtipos⁴⁰. De forma sucinta, atualmente, pode-se classificar o sistema CRISPR-Cas em duas classes: classe I que inclui o tipo I, III e IV e envolve um complexo efetor constituído por múltiplas proteínas Cas, e a classe 2 que se divide em 3 tipos, II, V e VI, e que necessita de uma única proteína efetora, não formando complexos de proteínas para a fase de interferência⁴⁰. Todos os sistemas CRISPR-Cas usam o mesmo mecanismo molecular recorrendo ao crRNA e a diferentes nucleases, porém, diferem quanto à síntese do crRNA e

quanto aos requisitos necessários ao reconhecimento e clivagem do material genético do invasor⁶.

Averiguando em particular o mecanismo do sistema CRISPR-Cas9 conclui-se que, sendo este um sistema de tipo II pertencente à classe 2, o seu modo de funcionamento se resume a uma única proteína efetora, a Cas 9³⁷, não necessitando da formação de complexos de nucleases para o sucesso da fase de interferência. A proteína Cas9 apresenta dois domínios distintos, o RuvC e o HNH, que participam na degradação do DNA invasor de forma independente, clivando cada domínio uma das cadeias do DNA de dupla cadeia (*dsDNA*) da sequência externa³⁷. O RuvC cliva a cadeia não complementar e o HNH a cadeia ligada ao crRNA e juntos estes dois domínios provocam a quebra do *dsDNA*³⁷. Para além do crRNA, este tipo de sistema carece de uma outra molécula de RNA, o *trans-activating crRNA* (tracrRNA), uma pequena molécula de RNA não codificante⁴¹. O tracrRNA apresenta complementaridade com as sequências repetidas do pre-crRNA e, ao ligar-se a este, desempenha duas funções distintas e essenciais para o correto funcionamento do sistema CRISPR-Cas: desencadeia o processamento do pre-crRNA pela RNase III, representando um papel fulcral na maturação do crRNA, e posteriormente ativa a clivagem do DNA externo pela proteína Cas9⁴² (Figura 4). Outro dos requisitos para a atividade do CRISPR-Cas9 é a sequência *protospacer adjacent motif* (PAM), uma pequena sequência próxima ao *protospacer* (sequência alvo no DNA externo)³⁷. As PAMs apresentam apenas alguns pares de base e a sua sequência e posição variam consoante o sistema CRISPR-Cas⁴² sendo que, no caso dos sistemas tipo II, estas sequências tendem a aparecer imediatamente depois da sequência alvo⁶. A sequência PAM é necessária para o reconhecimento e para a ligação do complexo Cas9-crRNA ao DNA alvo e mesmo que se verifique complementaridade entre o *protospacer* e o crRNA, sem esta sequência específica, não há clivagem do material genético externo³⁷. Esta pequena sequência parece ter um papel relevante na prevenção de uma reação autoimune, uma vez que, a ausência desta nos *spacers* do sistema CRISPR do hospedeiro, impede a clivagem do próprio material genético⁴².

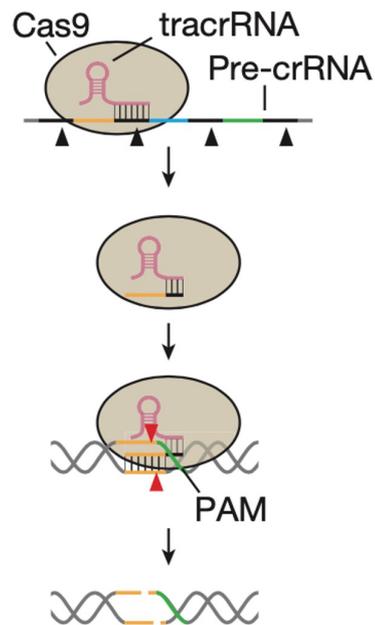


Figura 4. Mecanismo de imunidade mediada pelo sistema CRISPR-Cas9⁶

3.2. O papel do sistema CRISPR-Cas nos procarionotas

O sistema CRISPR-Cas despertou a atenção da comunidade científica principalmente pelo seu possível uso nos eucariotas e, efetivamente, desde a sua descoberta vários avanços se têm observado nesse sentido, no entanto, esta tecnologia também demonstra um inesperado potencial quanto às aplicações nos procarionotas, nomeadamente, nas bactérias⁴³.

Ao longo dos últimos anos, realizaram-se vários estudos com o objetivo de entender profundamente o papel do sistema CRISPR-Cas na evolução e na expansão do genoma das bactérias, para além do seu já conhecido desempenho como mecanismo de defesa contra os fagos³³. Simultaneamente, procurou-se avaliar a sua possível contribuição na resistência aos antibióticos, procedendo-se à análise do seu impacto na transferência horizontal de genes, assim como, nos genes responsáveis pelos fatores de virulência e pela resistência aos antibióticos.

Tendo em conta a relevância atual das conhecidas bactérias ESKAPE e o seu impacto na saúde pública, estas receberão um maior destaque na presente revisão.

O genoma de *Pseudomonas aeruginosa* foi analisado com o objetivo de averiguar o papel dos sistemas CRISPR na HGT e de identificar os seus possíveis alvos⁴⁴. Este estudo permitiu o estabelecimento de uma relação entre a presença de CRISPR ativo e o tamanho do genoma da bactéria, concluindo que o sistema está associado a tamanhos de genoma inferiores, no caso de *P. aeruginosa*, o que de certa forma valida a hipótese dos sistemas CRISPR limitarem a HGT⁴⁴, pois esta é a maior responsável pela expansão do genoma das bactérias⁴⁵.

Paralelamente, compararam o tamanho dos genomas na presença e ausência de proteínas anti-CRISPR (acr), proteínas inibidoras dos sistemas CRISPR, e os resultados mais uma vez corroboraram a hipótese de o sistema influenciar a HGT⁴⁴. Para além disso, os autores procuraram identificar os principais alvos do sistema e determinaram que a maior parte dos *spacers* identificados apresentam como alvo o DNA dos fagos seguindo-se, com uma grande diferença, o material genético presente nos plasmídeos e outros MGEs e, por fim, detetaram dois *spacers*, um que visa genes responsáveis pela resistência aos antibióticos e outro com genes de virulência como alvo⁴⁴. No geral, este estudo suporta a teoria de o CRISPR-Cas estar relacionado com a HGT na medida em que restringe a aquisição de MGEs, nomeadamente, de plasmídeos⁴⁴ que, desempenham um importante papel no desenvolvimento de resistência aos antibióticos em *Pseudomonas aeruginosa*⁴⁶. Assim como este estudo, outros foram sendo realizados com o intuito de aprofundar o papel do sistema CRISPR-Cas nas bactérias. Outro exemplo disso, é um trabalho realizado em *Acinetobacter baumannii*⁴⁷, uma bactéria igualmente relevante no que concerne à sua patogenicidade e resistência aos antibióticos²⁹. Procedeu-se a uma análise genómica e constatou-se a presença de dois grupos de genes distintos, o grupo 1 rico em genes envolvidos na manutenção do sistema CRISPR-Cas e o grupo 2 com uma grande carga de genes relacionados à preservação de plasmídeos⁴⁷. De facto, o grupo 2 apresentou um maior número de plasmídeos do que o grupo 1, o que pode evidenciar o papel do sistema CRISPR-Cas no bloqueio à entrada de plasmídeos na célula⁴⁷. Desta forma, o estudo genómico em *Acinetobacter baumannii* propõe uma relação do sistema CRISPR-Cas com a entrada de plasmídeos e de genes externos, incluindo de elementos que conferem resistência aos antibióticos. Para além disto, também estabelece uma relação deste sistema de defesa com genes envolvidos na formação de biofilmes, o que pode ser igualmente significativo no desenvolvimento de resistência desta bactéria, principalmente, em ambiente hospitalar⁴⁷. Estudos em *Klebsiella pneumoniae*, outra bactéria ESKAPE³⁰, também revelaram uma associação entre o sistema CRISPR-Cas e a aquisição de fragmentos de DNA externo, demonstrando o efeito do sistema no desenvolvimento de resistência aos antibióticos^{48,49}. A resistência aos carbapenemos em *Klebsiella pneumoniae* está frequentemente relacionada com a existência dos genes *bla*_{KPC-2} e *bla*_{KPC-3} que podem ser transmitidos por plasmídeos⁴⁹. Mais uma vez, procurou-se entender se a presença do sistema CRISPR-Cas influencia ou não a aquisição destes plasmídeos portadores de genes *bla*_{KPC}. Uma das conclusões retiradas foi que a obtenção de plasmídeos com os genes *bla*_{KPC-2} e *bla*_{KPC-3} se revelou significativamente menos bem-sucedida nas estirpes com sistema CRISPR-Cas comparativamente às sem o sistema⁴⁹. Para além disso, estudou-se a hipótese de estirpes que anteriormente não adquiriram os plasmídeos com os genes *bla*_{KPC-2} e *bla*_{KPC-3} sofrerem, após a eliminação do sistema CRISPR-Cas, transformação

com plasmídeos contendo esses mesmos genes. Os resultados demonstraram que a eliminação do sistema CRISPR-Cas pode possibilitar a aquisição de plasmídeos em estirpes que primeiramente não os adquiriram, quando presença do mecanismo de defesa, o que pode indicar que o sistema CRISPR-Cas, inicialmente, teve influência na não aquisição dos plasmídeos com os genes *bla*_{KPC-2} e *bla*_{KPC-3}⁴⁹. Assim, o referido trabalho, suporta a hipótese do sistema CRISPR-Cas influenciar a aquisição de plasmídeos, demonstrando a sua possível relevância no desenvolvimento de resistência aos antibióticos, neste caso aos carbapenemos⁴⁹. A possível relação do sistema CRISPR-Cas com a HGT levou à investigação da sua provável influência na emergência da resistência aos antibióticos. Neste sentido realizaram-se vários trabalhos, um deles em *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*⁵⁰, bactérias responsáveis por infecções nosocomiais multirresistentes a antibióticos⁵¹, o qual revelou uma relação estatisticamente significativa entre a presença e ausência do sistema CRISPR-Cas e o desenvolvimento de resistência aos antibióticos⁵⁰. Da mesma forma, em *Escherichia coli*, estabelecendo uma comparação da presença do sistema CRISPR-Cas em estirpes resistentes e suscetíveis a antibióticos, concluiu-se que a presença do sistema CRISPR-Cas, neste caso do tipo I-F, se encontra intimamente relacionada com a suscetibilidade aos antibióticos⁵². À semelhança dos referidos anteriormente, outros estudos realizados em bactérias como *Klebsiella pneumoniae*^{48,49} e *Streptococcus pyogenes*⁵³ têm revelado resultados promissores no que concerne ao papel do sistema CRISPR-Cas na suscetibilidade aos antibióticos, anunciando o seu possível uso como agente terapêutico.

3.3. O sistema CRISPR-Cas e a sua possível aplicação no tratamento das infecções bacterianas

Como foi referido anteriormente, atualmente, assiste-se a uma diminuição da eficácia dos antibióticos convencionais devido à rápida disseminação e emergência de resistência aos mesmos e à falta de inovação terapêutica neste ramo. Assim sendo, e tendo em conta todo o fundamento encontrado ao longo dos anos sobre o impacto da presença do sistema CRISPR-Cas nas bactérias, a comunidade científica debruçou-se sobre a sua possível aplicação no tratamento de infecções bacterianas.

Um estudo em *Streptococcus pneumoniae*⁵⁴ revelou resultados promissores no uso do sistema CRISPR-Cas como possível antibiótico, demonstrando a sua atividade na prevenção de aquisição de fatores de virulência inclusive *in vivo*. Neste caso, o principal fator de virulência é a cápsula polissacarídica que, perante um ataque, impede a fagocitose da bactéria⁵⁵. Curiosamente, este fator de virulência pode ser adquirido pela bactéria durante a infecção,

sofrendo transformação da cápsula após aquisição de novos genes codificadores de superfície da cápsula²⁶. Assim, procedeu-se à análise não só *in vitro* mas também em ratos e concluiu-se que a introdução do sistema CRISPR-Cas com sequências direcionadas a genes da cápsula pode impedir a formação de pneumococos encapsulados e, portanto virulentos, durante a infecção⁵⁴. Para além disso, demonstrou-se que a incorporação do sistema CRISPR-Cas com sequências alvo, como genes de virulência ou responsáveis pela resistência aos antibióticos, pode de uma forma específica levar à morte das bactérias que os contêm⁵⁴. Apesar dos resultados favoráveis, provou-se também que situações de elevada pressão seletiva podem levar à perda de atividade do sistema CRISPR-Cas, tanto pela perda de função do próprio sistema como por mutações na sequência alvo⁵⁴. Ainda assim, no geral, o estudo revelou resultados promissores no que concerne ao possível uso do sistema CRISPR-Cas no combate à resistência aos antibióticos e no tratamento das infecções bacterianas⁵⁴.

Com esse mesmo objetivo, foi realizado um estudo em *Staphylococcus aureus* onde se procurou desenvolver um antibiótico específico e programável recorrendo a uma nuclease associada ao sistema CRISPR-Cas do tipo II, a Cas9⁵⁶. Neste estudo, procurou-se testar a especificidade do sistema CRISPR-Cas para matar apenas as bactérias virulentas ou resistentes aos antibióticos, um fator importante na disseminação da resistência aos antibióticos⁵⁶. Concluiu-se que os antibióticos recorrendo ao sistema CRISPR-Cas têm a capacidade de matar apenas uma fração das bactérias pertencentes a uma população, o que permite a sobrevivência das restantes bactérias, limitando assim o posterior crescimento de organismos resistentes⁵⁶. Para além disso, e tendo em conta que os plasmídeos são a principal fonte de genes de virulência e de resistência aos antibióticos, demonstrou-se que esta tecnologia permite não só a morte celular, mas também a perda de plasmídeos específicos, tornando, neste caso, as bactérias sensíveis a certos antibióticos, sem ocorrência de morte celular⁵⁶. Resultados favoráveis, relativamente à capacidade do sistema CRISPR-Cas imunizar bactérias não patogénicas contra a aquisição de genes que conferem virulência ou resistência a antibióticos, e quanto à possibilidade deste sistema ser facilmente reprogramado para direcionar múltiplas sequências ao mesmo tempo, também foram demonstrados aquando realização deste estudo⁵⁶.

Resumidamente, os resultados demonstram que o sistema CRISPR-Cas pode ser usado de distintas maneiras no combate às infecções bacterianas e, conseqüentemente, à resistência aos antibióticos. Se por um lado, após a sua injeção, tem a capacidade de matar as bactérias de uma forma não só eficiente como específica, por outro também permite a perda de genes responsáveis pela virulência ou pela resistência aos antibióticos sem ocorrência de morte celular^{43,54,56,57} (Figura 5), impedindo a transformação das células não virulentas em virulentas⁵⁴

e tornando as bactérias sensíveis aos antibióticos⁵⁶, podendo estas ser tratadas posteriormente pelos antibióticos convencionais.

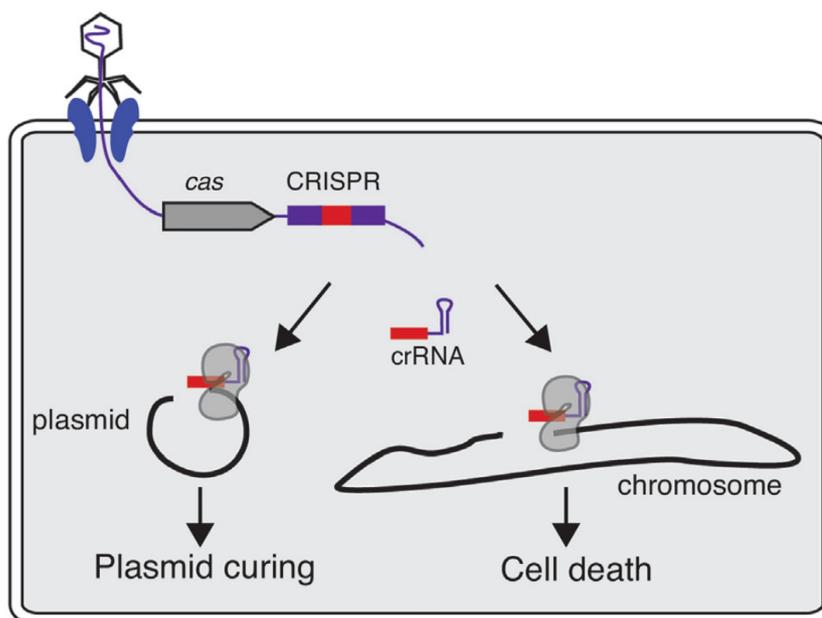


Figura 5. Possíveis efeitos da injeção do sistema CRISPR-Cas na célula alvo⁴³

Para além disso, a especificidade do sistema CRISPR-Cas também foi testada e os resultados comprovaram que as nucleases associadas ao sistema permitem a clivagem apenas do DNA alvo, permitindo a sobrevivência das restantes bactérias, o que demonstra a utilidade desta tecnologia na modificação da composição de uma população complexa de bactérias⁵⁶, como é o caso da microbiota intestinal. Outro dado relevante é a capacidade do sistema CRISPR-Cas ser programado para múltiplas sequências⁵⁶, o que se pode revelar crucial no desenvolvimento de resistência a este tipo de antibióticos.

Muitos dos estudos realizados com o objetivo de analisar o potencial do sistema CRISPR-Cas como um possível antibiótico recorreram a sistema CRISPR-Cas do tipo II, mais especificamente, ao sistema CRISPR-Cas9 que, como referido anteriormente, apenas requer uma proteína efetora, a Cas9, não necessitando da formação de complexos para o seu funcionamento. De notar que esta nuclease em específico apresenta a vantagem de ser facilmente reprogramada, para a clivagem de sequências desejadas, apenas por alteração da sequência do RNA guia⁵⁸. Esta característica é uma das razões pela qual a nuclease Cas9 tem sido amplamente estudada e extensamente usada em estudos de edição genética.

Posto isto, os antibióticos baseados na tecnologia CRISPR-Cas, apesar da necessidade de mais estudos e do preenchimento de inúmeras lacunas, apresentam diversas vantagens relativamente aos antibióticos tradicionais⁵⁶ e podem vir a reformar o tratamento das infeções bacterianas.

3.4. Vantagens, limitações e desafios à sua utilização

Uma das desvantagens conhecidas dos antibióticos convencionais é precisamente o facto de estes não atuarem apenas sobre as bactérias patogénicas, isto é, ao matarem estas, estão igualmente a matar outras bactérias que podem ser benéficas^{56,57,59}. Um claro exemplo disso é a microbiota intestinal que apresenta um papel importante, influenciando funções humanas essenciais para o correto funcionamento do organismo. Perturbações na sua composição e complexidade podem alterar a atividade e regulação metabólica, para além de aumentar a vulnerabilidade a infeções gastrointestinais e de promover a evolução de bactérias resistentes aos antibióticos⁶⁰. Assim, ao contrário dos antibióticos convencionais, os antibióticos associados ao sistema CRISPR-Cas oferecem a vantagem de serem altamente específicos, ou seja, eliminam as bactérias com base numa sequência de DNA alvo⁵⁹, o que permite o combate a apenas um pequeno grupo de bactérias, possibilitando a sobrevivência das que não apresentam a tal sequência. Desta forma, o uso do sistema CRISPR-Cas como antibiótico vai exercer o seu efeito sobre as bactérias patogénicas, não interferindo na composição e equilíbrio da microbiota intestinal⁵⁹. Para além disso, como referido anteriormente, quando devidamente programados para tal, estes antibióticos têm a capacidade de eliminar apenas as bactérias resistentes aos antibióticos, possibilitando o tratamento pelos antibióticos convencionais das bactérias suscetíveis aos mesmos⁵⁹. A especificidade dos antibióticos baseados no sistema CRISPR-Cas também permite que a população de bactérias dita inofensiva, isto é, que não está a provocar a infeção e que, portanto, não é o alvo do tratamento, prospere e ocupe o nicho ecológico, diminuindo assim, a pressão seletiva para a resistência aos antibióticos⁴³. Outro ponto favorável aos antibióticos recorrendo ao sistema CRISPR-Cas é o facto de estes apresentarem a possibilidade de serem direcionados para múltiplas sequências, ou seja, de serem programados com mais do que uma sequência de crRNA guia, e assim, ataquem sequências diferentes. Deste modo, o sistema CRISPR-Cas permite eliminar sequências a nível do cromossoma e/ou do plasmídeo, simultaneamente, atacar diferentes espécies ao mesmo tempo e, inclusive, atacar várias sequências da mesma bactéria de modo a prevenir o desenvolvimento de mutantes resistentes⁵⁶.

Comparativamente a outras terapias inovadoras, como a terapia com recurso a fagos, peptídeos antimicrobianos, anticorpos ou vacinas, os antibióticos baseados no sistema CRISPR-Cas oferecem a vantagem de permitirem o combate às bactérias com base na sua sequência de DNA, possibilitando a seleção de um determinado grupo de bactérias dentro da mesma espécie, o que seria difícil de alcançar com as restantes estratégias⁴³.

Como mencionado anteriormente, apesar das vantagens apresentadas, ainda existem inúmeras lacunas por resolver quanto ao possível uso do sistema CRISPR-Cas como antibiótico.

Um dos principais desafios relativamente à aplicação desta tecnologia inovadora no combate às infeções bacterianas é o mecanismo de entrega do sistema CRISPR-Cas às células bacterianas, sempre tendo em conta a preservação da especificidade e da eficácia pretendida⁴³. Os bacteriófagos parecem ser um potencial vetor de entrega, no entanto, esta estratégia ainda apresenta diversas barreiras como a faixa de hospedeiros estreita que estes exibem, isto é, nem todas as espécies são infetadas por estes vírus, o que pode impedir a injeção do sistema CRISPR-Cas a certas bactérias alvo. Isto, aplicado a comunidades microbianas complexas representa um desafio adicional⁶¹. Os bacteriófagos apresentam a capacidade de armazenar o seu DNA em cápsulas para posterior injeção na bactéria hospedeira. Posto isto, surgiram os fagemídeos, vetores híbridos que se caracterizam por um plasmídeo capaz de ser armazenado nas cápsulas dos bacteriófagos. Um estudo em *S. aureus* já demonstrou que os fagemídeos podem ser usados como vetores de entrega do sistema CRISPR-Cas, porém, comprovou também que algumas bactérias podem sobreviver ao tratamento, não só pela incapacidade de receção do fagemídeo, mas também pela perda do mesmo, ou até pela receção deste mas contendo um sistema CRISPR-Cas não funcional⁵⁶. Assim, em certos casos, os fagemídeos parecem ser uma opção viável, contudo dificuldades relacionadas com a sua pureza ou produção em grande escala podem representar obstáculos ao seu uso⁵⁶. Outro potencial vetor de entrega são os plasmídeos conjugativos que, como o nome indica, são transferidos por conjugação entre bactérias, no entanto, a captação e o seu estabelecimento nas bactérias alvo, e ainda a eficiência de conjugação, parecem representar barreiras relevantes ao seu uso como mecanismo de entrega do sistema CRISPR-Cas⁶¹. Tendo em conta todas estas limitações, existe uma constante necessidade de explorar outras possibilidades e, assim, surgiu o uso das nanopartículas poliméricas que, para além dos bacteriófagos e dos plasmídeos conjugativos, podem representar um outro potencial vetor de entrega⁴ (Figura 6).

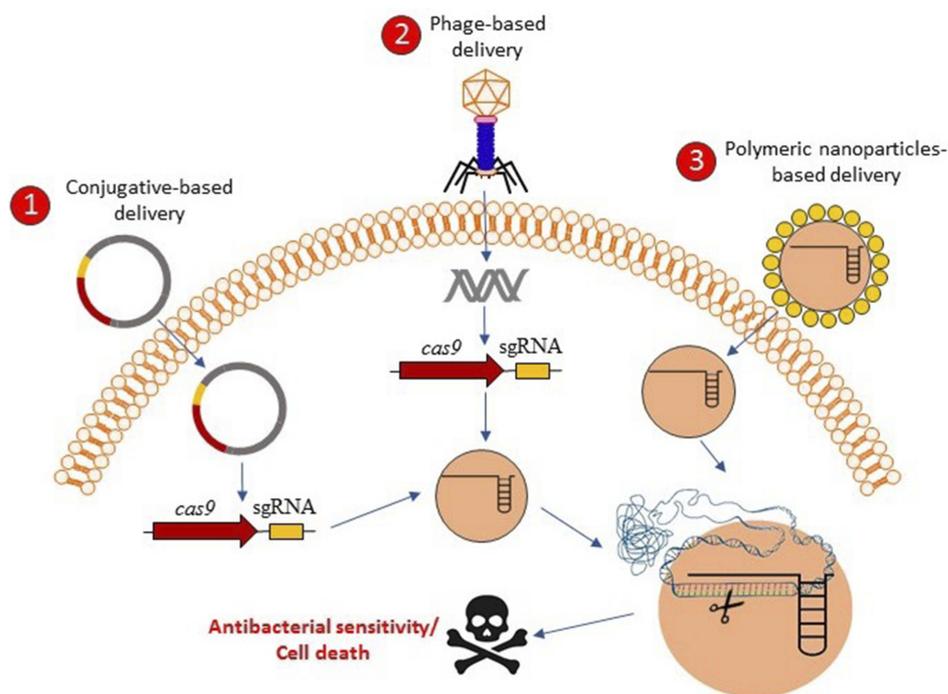


Figura 6. Potenciais vetores de entrega do sistema CRISPR-Cas às respectivas células alvo⁴

O desenvolvimento de resistência aos antibióticos baseados no sistema CRISPR-Cas, tal como se sucede com os antibióticos tradicionais, tem se revelado um desafio para o seu uso na prática clínica⁶¹. Estudos sugerem que a presença do sistema CRISPR-Cas por si só, não é suficiente para conferir imunidade⁵⁰, sendo necessário que este se apresente devidamente funcional, o que pode não ocorrer devido, por exemplo, à presença de genes *acr* ou à ausência de genes *cas*⁴⁴. Desta forma, a resistência pode se desenvolver em vários passos essenciais para o sucesso do tratamento recorrendo aos antibióticos associados ao sistema CRISPR-Cas, desde a injeção do sistema nas bactérias alvo até ao reconhecimento e posterior clivagem do material genético pretendido⁴³ (Figura 7). Primeiro, há que garantir que o sistema é efetivamente entregue às células alvo, o que vai de encontro ao desafio referido anteriormente relacionado com os mecanismos de entrega do sistema. Tal pode não se suceder, caso as bactérias alvo não sejam hospedeiras do vetor de entrega, ou em situações de mutação nos recetores essenciais para a injeção do sistema CRISPR-Cas na célula bacteriana, por exemplo⁴³. Porém, supondo que a injeção do sistema é bem-sucedida, existe a possibilidade de o conteúdo inserido na célula bacteriana ser degradado por enzimas de restrição ou até mesmo por outros sistemas CRISPR-Cas presentes na bactéria alvo, antes do sistema CRISPR-Cas injetado ter oportunidade de concluir o seu mecanismo de ação, isto é, de proceder à degradação do DNA alvo⁴³. Para além disso, mutações na sequência alvo, inativação do sistema CRISPR-Cas por mutações nos genes *cas* ou até eliminação dos mesmos, e a presença de genes *acr* podem inibir

ou impedir o correto funcionamento do sistema CRISPR-Cas, levando ao desenvolvimento de resistência a este tipo de antibióticos^{43,61}.

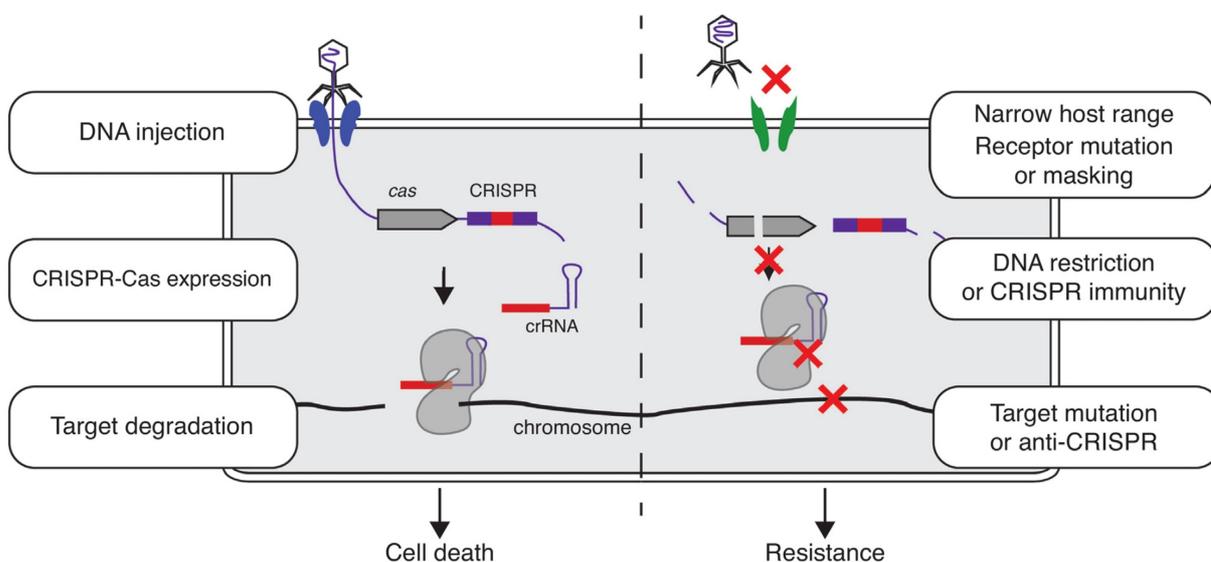


Figura 7. Sumário do mecanismo de ação dos antibióticos baseados no sistema CRISPR-Cas e possíveis mecanismos de resistência⁴³

Por fim, para além da necessidade de maior suporte legislativo, a complexidade das comunidades bacterianas, a dificuldade em prever as suas respostas a certas perturbações e o facto da eficácia dos diferentes sistemas CRISPR-Cas variar consoante as espécies, também têm dificultado a introdução do sistema CRISPR-Cas como um específico e potente antibiótico⁶¹.

O sistema CRISPR-Cas, nomeadamente o CRISPR-Cas9, tem vindo a ser extensamente usado noutros campos, para além do seu uso para o controlo da resistência aos antibióticos e potencial antibiótico que se manifesta como sendo o principal foco da presente revisão.

A nível dos procariotas, mais especificamente das bactérias, este pode ser utilizado para edição, silenciamento e triagem genética, podendo representar um marcador genético para identificação e análise de espécies, o que pode ser interessante para a realização de diagnósticos ou estudos de epidemiologia⁶². Para além disso, o sistema CRISPR-Cas9 tem se revelado uma importante ferramenta de edição genética, tanto pelo seu potencial papel no tratamento de doenças genéticas, como pelo seu uso na pesquisa e desenvolvimento, melhorando, não só a qualidade dos estudos de distúrbios genéticos, como também de doenças comuns como a diabetes e, inclusive, influenciando a criação de mais rápidos e melhores modelos animais, quando se justifica⁶³. Por último, a sua capacidade de proteção de bactérias específicas, consideradas benéficas, contra a infeção por bacteriófagos torna o sistema CRISPR-Cas9 uma ferramenta promissora para a indústria alimentar⁶².

4. CONCLUSÃO

Considerando o aumento da resistência aos antibióticos presenciado nas últimas décadas e a consequente diminuição de eficácia dos antibióticos convencionais, tornou-se crucial o desenvolvimento de terapias inovadoras para o combate das infecções bacterianas, sob o risco de diminuição da qualidade de vida ou, no pior dos casos, aumento da mortalidade associado a estas patologias. Desta forma, o sistema CRISPR-Cas passou de um mero mecanismo de defesa desenvolvido pelas bactérias contra os bacteriófagos, para uma potencial alternativa no tratamento e controlo das infecções bacterianas.

Após análise de múltiplos estudos que demonstram, não só o impacto do sistema CRISPR-Cas nas bactérias, mas também os possíveis efeitos provocados pela programação e posterior injeção deste nas células alvo, a versatilidade desta técnica torna-se evidente, podendo atuar em diversos níveis. Esta tecnologia mostrou-se bem-sucedida não só na eliminação de bactérias específicas, como também, na limitação de aquisição de fatores de virulência e na perda de genes que conferem resistência, demonstrando a sua eficácia, como possível agente terapêutico, no combate à resistência aos antibióticos. A sua especificidade também foi testada, o que ao permitir a eliminação das bactérias consoante uma sequência de DNA alvo, se tornou uma das principais vantagens relativamente aos antibióticos convencionais.

Apesar de oferecerem múltiplas vantagens, os antibióticos baseados no sistema CRISPR-Cas ainda necessitam de enfrentar inúmeros desafios até à sua aplicação na prática clínica, destacando as limitações que dizem respeito aos mecanismos de entrega às células alvo e ao desenvolvimento de resistência aos mesmos.

Apresentando-se como uma técnica de edição genética, o sistema CRISPR-Cas, para além de um específico e eficiente antibiótico, tornou-se uma ferramenta promissora para diversas áreas como a biologia, medicina e biotecnologia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CASSINI, Alessandro *et al.* - Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. **The Lancet Infectious Diseases**. ISSN 14733099. 19:1 (2019) 56–66. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30605-4.
2. HOLMES, Alison H. *et al.* - Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**. ISSN 01406736. 387:10014 (2016) 176–187. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00473-0.
3. NATHAN, Carl; CARS, Otto - Antibiotic resistance — problems, progress, and prospects. **New England Journal of Medicine**. ISSN 0028-4793. 371:19 (2014) 1761–1763. doi: 10.1056/NEJMp1408040.
4. GHOLIZADEH, Pourya *et al.* - How CRISPR-Cas system could be used to combat antimicrobial resistance. **Infection and Drug Resistance**. ISSN 1178-6973. 13:2020) 1111–1121. doi: 10.2147/IDR.S247271.
5. AGARWAL, Nisheeth; GUPTA, Radhika - History, evolution and classification of CRISPR-Cas associated systems. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**. ISSN 1878-0814. 179:2021) 11–76. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.12.012.
6. MARRAFFINI, Luciano A. - CRISPR-Cas immunity in prokaryotes. **Nature**. ISSN 0028-0836. 526:7571 (2015) 55–61. doi: 10.1038/nature15386.
7. PENNISI, Elizabeth - The CRISPR craze. **Science**. ISSN 10959203. 341:6148 (2013) 833–836. doi: 10.1126/science.341.6148.833.
8. HARRISON, Freya *et al.* - A 1,000-year-old antimicrobial remedy with antistaphylococcal activity. **mBio**. ISSN 2161-2129. 6:4 (2015) 1–7. doi: 10.1128/mBio.01129-15.
9. HUTCHINGS, Matthew I.; TRUMAN, Andrew W.; WILKINSON, Barrie - Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**. ISSN 13695274. 51:2019) 72–80. doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008.
10. GOULD, Kate - Antibiotics: from prehistory to the present day. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 0305-7453. 71:3 (2016) 572–575. doi: 10.1093/jac/dkv484.
11. BASSETT, Everett J. *et al.* - Tetracycline-labeled human bone from ancient sudanese Nubia (A.D. 350). **Science**. ISSN 0036-8075. 209:4464 (1980) 1532–1534. doi: 10.1126/science.7001623.

12. SCHWARTZ, Robert S. - Paul Ehrlich's magic bullets. **New England Journal of Medicine**. ISSN 0028-4793. 350:11 (2004) 1079–1080. doi: 10.1056/NEJMp048021.
13. OTTEN, H. - Domagk and the development of the sulphonamides. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 0305-7453. 17:6 (1986) 689–690. doi: 10.1093/jac/17.6.689.
14. SHAMBAUGH, George E. - History of sulfonamides. **Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery**. ISSN 0886-4470. 83:1 (1966) 1–2. doi: 10.1001/archotol.1966.00760020003001.
15. FLEMING, Alexander - On the antibacterial action of cultures of a *penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. Influenzae*. **British Journal of Experimental Pathology**. ISSN 14315254. 10:3 (1929) 226–236.
16. LEWIS, Kim - Recover the lost art of drug discovery. **Nature**. ISSN 0028-0836. 485:7399 (2012) 439–440. doi: 10.1038/485439a.
17. RAMBHIA, Kunal J.; GRONVALL, Gigi K. - Antibiotic resistance. **Science for Policymakers**. ISSN 1699-3993. 7:4 (2009) 371–377. doi: 10.1358/dot.1998.34.8.485267.
18. BOECKEL, Thomas P. VAN *et al.* - Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. **The Lancet Infectious Diseases**. ISSN 14733099. (2014) 1–9. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70780-7.
19. LAXMINARAYAN, Ramanan *et al.* - Antibiotic resistance—the need for global solutions. **The Lancet Infectious Diseases**. ISSN 14733099. 13:12 (2013) 1057–1098. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70318-9.
20. LAXMINARAYAN, Ramanan; HEYMANN, David L. - Challenges of drug resistance in the developing world. **BMJ**. ISSN 1756-1833. 344:2012) 1–4. doi: 10.1136/bmj.e1567.
21. DAVIES, Julian; DAVIES, Dorothy - Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. ISSN 1092-2172. 74:3 (2010) 417–433. doi: 10.1128/MMBR.00016-10.
22. MUNITA, Jose M.; ARIAS, Cesar A. - Mechanisms of antibiotic resistance. **Microbiology Spectrum**. ISSN 2165-0497. 4:2 (2016) 1–24. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
23. JIAN, Zonghui *et al.* - Antibiotic resistance genes in bacteria: Occurrence, spread, and control. **Journal of Basic Microbiology**. ISSN 0233-111X. 61:12 (2021) 1049–1070. doi: 10.1002/jobm.202100201.

24. WINTERSDORFF, Christian J. H. VON *et al.* - Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664-302X. 7:173 (2016) 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2016.00173.
25. HUDDLESTON, Jennifer R. - Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. **Infection and Drug Resistance**. ISSN 1178-6973. 7:2014) 167–176. doi: 10.2147/IDR.S48820.
26. GRIFFITH, Fred - The significance of pneumococcal types. **Journal of Hygiene**. ISSN 0022-1724. 27:2 (1928) 113–159. doi: 10.1017/S0022172400031879.
27. NATHAN, Carl - Resisting antimicrobial resistance. **Nature Reviews Microbiology**. ISSN 1740-1526. 18:5 (2020) 259–260. doi: 10.1038/s41579-020-0348-5.
28. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **The evolving threat of antimicrobial resistance: Options for action**. ISBN 9789241503181.
29. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed** - [Acedido a 7 de dezembro de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed/>
30. RICE, Louis B. - Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE. **The Journal of Infectious Diseases**. ISSN 0022-1899. 197:8 (2008) 1079–1081. doi: 10.1086/533452.
31. ISHINO, Y. *et al.* - Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. **Journal of Bacteriology**. ISSN 0021-9193. 169:12 (1987) 5429–5433. doi: 10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987.
32. MOJICA, F. J. M.; JUEZ, G.; RODRIGUEZ-VALERA, F. - Transcription at different salinities of *Haloflex mediterranei* sequences adjacent to partially modified *Pst*I sites. **Molecular Microbiology**. ISSN 0950-382X. 9:3 (1993) 613–621. doi: 10.1111/j.1365-2958.1993.tb01721.x.
33. MOJICA, Francisco J. M. *et al.* - Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. **Journal of Molecular Evolution**. ISSN 0022-2844. 60:2 (2005) 174–182. doi: 10.1007/s00239-004-0046-3.
34. JANSEN, Ruud *et al.* - Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. **Molecular Microbiology**. ISSN 0950-382X. 43:6 (2002) 1565–1575. doi: 10

.1046/j.1365-2958.2002.02839.x.

35. DERRY, W. Brent - CRISPR: development of a technology and its applications. **The FEBS Journal**. ISSN 1742-464X. (2020) 358–359. doi: 10.1111/febs.15621.
36. NUÑEZ, James K. *et al.* - Cas1–Cas2 complex formation mediates spacer acquisition during CRISPR–Cas adaptive immunity. **Nature Structural & Molecular Biology**. ISSN 1545-9993. 21:6 (2014) 528–534. doi: 10.1038/nsmb.2820.
37. GASIUNAS, Giedrius *et al.* - Cas9–crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. ISSN 0027-8424. 109:39 (2012) 2579–2586. doi: 10.1073/pnas.1208507109.
38. MAKAROVA, Kira S. *et al.* - Evolution and classification of the CRISPR–Cas systems. **Nature Reviews Microbiology**. ISSN 1740-1526. 9:6 (2011) 467–477. doi: 10.1038/nrmicro 2577.
39. MAKAROVA, Kira S. *et al.* - An updated evolutionary classification of CRISPR–Cas systems. **Nature Reviews Microbiology**. ISSN 1740-1526. 13:11 (2015) 722–736. doi: 10.1038/nrmicro3569.
40. MAKAROVA, Kira S. *et al.* - Evolutionary classification of CRISPR–Cas systems: a burst of class 2 and derived variants. **Nature Reviews Microbiology**. ISSN 1740-1526. 18:2 (2020) 67–83. doi: 10.1038/s41579-019-0299-x.
41. SHMAKOV, Sergey *et al.* - Discovery and functional characterization of diverse class 2 CRISPR–Cas systems. **Molecular Cell**. ISSN 10972765. 60:3 (2015) 385–397. doi: 10.1016/j.molcel.2015.10.008.
42. JINEK, Martin *et al.* - A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. **Science**. ISSN 0036-8075. 337:6096 (2012) 816–821. doi: 10.1126/science.1225829.
43. BIKARD, David; BARRANGOU, Rodolphe - Using CRISPR–Cas systems as antimicrobials. **Current Opinion in Microbiology**. ISSN 13695274. 37:2017) 155–160. doi: 10.1016/j.mib.2017.08.005.
44. WHEATLEY, Rachel M.; MACLEAN, R. Craig - CRISPR–Cas systems restrict horizontal gene transfer in *Pseudomonas aeruginosa*. **The ISME Journal**. ISSN 1751-7362. 15:5 (2021) 1420–1433. doi: 10.1038/s41396-020-00860-3.
45. OCHMAN, Howard; LAWRENCE, Jeffrey G.; GROISMAN, Eduardo A. - Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. **Nature**. ISSN 0028-0836. 405:6784 (2000)

299–304. doi: 10.1038/35012500.

46. CAZARES, Adrian *et al.* - A megaplasmid family driving dissemination of multidrug resistance in *Pseudomonas*. **Nature Communications**. ISSN 2041-1723. 11:1 (2020) 1–13. doi: 10.1038/s41467-020-15081-7.

47. MANGAS, Eugenio L. *et al.* - Pangenome of *Acinetobacter baumannii* uncovers two groups of genomes, one of them with genes involved in CRISPR/Cas defence systems associated with the absence of plasmids and exclusive genes for biofilm formation. **Microbial Genomics**. ISSN 2057-5858. 5:11 (2019). doi: 10.1099/mgen.0.000309.

48. LI, Hsin-Yu *et al.* - Characterization of CRISPR-Cas Systems in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates uncovers its potential association with antibiotic susceptibility. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664-302X. 9:2018) 1–9. doi: 10.3389/fmicb.2018.01595.

49. MACKOW, Natalie A. *et al.* - CRISPR-Cas influences the acquisition of antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae*. **PLOS ONE**. ISSN 1932-6203. 14:2019) 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0225131.

50. PALMER, Kelli L.; GILMORE, Michael S. - Multidrug-resistant Enterococci lack CRISPR-cas. **mBio**. ISSN 2161-2129. 1:4 (2010). doi: 10.1128/mBio.00227-10.

51. FIORE, Elizabeth; TYNE, Daria VAN; GILMORE, Michael S. - Pathogenicity of Enterococci. **Microbiology Spectrum**. Washington, DC, USA. ISSN 2165-0497. 7:4 (2019) 378–397. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018.

52. AYDIN, Seyid *et al.* - Presence of Type I-F CRISPR/Cas systems is associated with antimicrobial susceptibility in *Escherichia coli*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. ISSN 0305-7453. 72:8 (2017) 2213–2218. doi: 10.1093/jac/dkx137.

53. ZHENG, P. X. *et al.* - Arrangement and number of clustered regularly interspaced short palindromic repeat spacers are associated with erythromycin susceptibility in *emm12*, *emm75* and *emm92* of group A streptococcus. **Clinical Microbiology and Infection**. ISSN 1198743X. 20:6 (2014) 516–523. doi: 10.1111/1469-0691.12379.

54. BIKARD, David *et al.* - CRISPR interference can prevent natural transformation and virulence acquisition during in vivo bacterial infection. **Cell Host & Microbe**. ISSN 19313128. 12:2 (2012) 177–186. doi: 10.1016/j.chom.2012.06.003.

55. DUBOS, René; AVERY, Oswald T. - Decomposition of the capsular polysaccharide of *Pneumococcus* type III by a bacterial enzyme. **Journal of Experimental Medicine**. ISSN 1540-9538. 54:1 (1931) 51–71. doi: 10.1084/jem.54.1.51.

56. BIKARD, David *et al.* - Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. **Nature Biotechnology**. ISSN 1087-0156. 32:11 (2014) 1146–1150. doi: 10.1038/nbt.3043.
57. CITORIK, Robert J.; MIMEE, Mark; LU, Timothy K. - Sequence-specific antimicrobials using efficiently delivered RNA-guided nucleases. **Nature Biotechnology**. ISSN 1087-0156. 32:11 (2014) 1141–1145. doi: 10.1038/nbt.3011.
58. CUI, Lun; BIKARD, David - Consequences of Cas9 cleavage in the chromosome of *Escherichia coli*. **Nucleic Acids Research**. ISSN 0305-1048. 44:9 (2016) 4243–4251. doi: 10.1093/nar/gkw223.
59. URIBE, Ruben V. *et al.* - Bacterial resistance to CRISPR-Cas antimicrobials. **Scientific Reports**. ISSN 2045-2322. 11:1 (2021). doi: 10.1038/s41598-021-96735-4.
60. LANGE, Kathleen *et al.* - Effects of antibiotics on gut microbiota. **Digestive Diseases**. ISSN 0257-2753. 34:3 (2016) 260–268. doi: 10.1159/000443360.
61. PURSEY, Elizabeth *et al.* - CRISPR-Cas antimicrobials: Challenges and future prospects. **PLOS Pathogens**. ISSN 1553-7374. 14:6 (2018). doi: 10.1371/journal.ppat.1006990.
62. ISHINO, Yoshizumi; KRUPOVIC, Mart; FORTERRE, Patrick - History of CRISPR-Cas from encounter with a mysterious repeated sequence to genome editing technology. **Journal of Bacteriology**. ISSN 0021-9193. 200:7 (2018) 1–17. doi: 10.1128/JB.00580-17.
63. HSU, Patrick D.; LANDER, Eric S.; ZHANG, Feng - Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. **Cell**. ISSN 00928674. 157:6 (2014) 1262–1278. doi: 10.1016/j.cell.2014.05.010.