



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

# **Antibioterapia das Infecções por Espécies de *Enterobacter***

**Carina Fernandes Gonçalves**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:  
**Professor Doutor Jaime Manuel Guedes Morais da Conceição**

2024





Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

# **Antibioterapia das Infecções por Espécies de *Enterobacter***

**Carina Fernandes Gonçalves**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:  
**Professor Doutor Jaime Manuel Guedes Morais da Conceição**

2024



# Antibioterapia das Infecções por Espécies de *Enterobacter*

## Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

Carina Fernandes Gonçalves

**Copyright**® 2024 Carina Fernandes Gonçalves

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



*“A persistência é o caminho do êxito”*

**Charles Chaplin**



## Agradecimentos

Ao fim destes cinco anos não posso deixar de agradecer a várias pessoas que estiveram presentes nesta fase da minha vida e que contribuíram para a minha aprendizagem e que me apoiaram e incentivaram.

Ao **Professor Doutor Jaime Conceição**, por ter aceitado ser meu orientador. O seu conhecimento e encorajamento foram cruciais para o desenvolvimento desta dissertação e também para a minha aprendizagem ao longo do curso.

À equipa da **Farmácia do Hospital da Luz**, agradeço a integração, apoio e oportunidade de realizar o estágio. Foram dois meses de aprendizagem que sem dúvida contribuíram para enriquecer a minha experiência.

À equipa da **Farmácia Silveira**, um obrigada pela forma como me acolheram, por tudo o que me ensinaram e por toda a ajuda prestada durante o estágio. Contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

À minha **família**, pois o seu apoio incondicional foi fundamental para que conseguisse concluir esta etapa. Sempre acreditaram em mim e nas minhas capacidades e isso ajudou-me a ser mais determinada e a alcançar os meus objetivos.

Ao **Nuno**, que esteve presente desde o início desta jornada, agradeço o incentivo, paciência e carinho, que me ajudaram a superar os desafios, estando sempre presente nos bons e maus momentos.

Aos meus **amigos**, Bia, Mafalda, Maria, Roman, Sara e Tiago, obrigada pelos momentos inesquecíveis que passámos juntos. Os almoços, as viagens, os tempos a estudar foram todos pequenos momentos que contribuíram para tornar este percurso muito melhor.

À **Joana** e ao **Pedro**, que também contribuíram para o sucesso do meu estágio, um obrigada por todos os momentos que passámos.

A todos vocês, o meu profundo agradecimento.



## Resumo

A descoberta do primeiro antibiótico por Alexander Fleming foi importante para reduzir o número de mortes causadas por infecções bacterianas. No entanto, o seu uso incorreto e descontrolado permitiu que as bactérias desenvolvessem vários mecanismos de resistência, levando à ineficácia dos antibióticos.

O grupo ESKAPE é composto por bactérias que causam infecções nosocomiais e são resistentes aos antibióticos comuns, sendo por isso consideradas uma ameaça para a saúde pública. Neste grupo estão presentes diversas espécies de *Enterobacter*, sendo as mais comuns *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter hormaechei*. *Enterobacterales* resistentes aos carbapenemos e resistentes às cefalosporinas de 3.<sup>a</sup> geração são classificados pela Organização Mundial de Saúde como prioridade crítica, já que as opções de tratamento são limitadas, provocam elevadas taxas de mortalidade e morbidade e apresentam uma elevada resistência aos antibióticos.

A resistência aos antibióticos é causada pela produção de  $\beta$ -lactamases do tipo AmpC,  $\beta$ -lactamases de espectro alargado e carbapenemases, e também através das bombas de efluxo e alterações de permeabilidade.

As espécies de *Enterobacter* são responsáveis por vários tipos de infecções, como infecções do trato urinário, do trato respiratório, bacteremia, entre outras.

O tratamento das infecções causadas pelas espécies de *Enterobacter* baseia-se no tipo de resistência e de infecção, incluindo fármacos como carbapenemos, cefalosporinas, aminoglicosídeos, monobactams, entre outros, podendo ser usados em monoterapia ou terapia combinada. Estes fármacos são importantes no tratamento, mas são necessários novos antibióticos para combater estas bactérias que se vão tornando resistentes aos tratamentos existentes.

Outras terapêuticas foram desenvolvidas para além dos antibióticos já que a sua produção tem vindo a diminuir ao longo do tempo, sendo que por isso é igualmente importante futuros estudos nestas áreas.

O farmacêutico é fundamental neste processo uma vez que garante o uso correto dos antibióticos, de forma a combater a resistência bacteriana e a garantir a eficácia do tratamento.

**Palavras-chave:** *Enterobacter spp.*; Antibioterapia; Resistências; Novas terapêuticas; Farmacêutico.



## Abstract

The discovery of the first antibiotic by Alexander Fleming was important in reducing the number of deaths caused by bacterial infections. However, its incorrect and uncontrolled use has allowed bacteria to develop various resistance mechanisms, leading to the ineffectiveness of antibiotics.

The ESKAPE group is made up of bacteria that cause nosocomial infections and are resistant to common antibiotics and are therefore considered a threat to public health. Several species of *Enterobacter* are present in this group, the most common being *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae* and *Enterobacter hormaechei*. *Enterobacteriales* resistant to carbapenems and to 3<sup>rd</sup> generation cephalosporins are classified by the World Health Organization as a critical priority, as treatment options are limited, they cause high rates of mortality and morbidity and are highly resistant to antibiotics.

Antibiotic resistance is caused by the production of AmpC-type  $\beta$ -lactamases, extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases, and through efflux pumps and permeability changes.

*Enterobacter* species are responsible for several types of infections, such as urinary tract infections, respiratory tract infections, bacteraemia, among others.

The treatment of infections caused by *Enterobacter* species is based on the type of resistance and infection, including drugs such as carbapenems, cephalosporins, aminoglycosides, monobactams, among others, and may be used in monotherapy or combined therapy. These drugs are important in treatment, but new antibiotics are needed to combat these bacteria that are becoming resistant to existing treatments.

Other therapies have been developed in addition to antibiotics as their production has been decreasing over time, which is why future studies in these areas are equally important.

The pharmacists are essential in this process as they ensure the correct use of antibiotics, in order to combat bacterial resistance and guarantee the effectiveness of the pharmacotherapy.

**Keywords:** *Enterobacter spp.*; Antibiotic therapy; Resistances; New therapies; Pharmacist.



# Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	iii
Abstract .....	v
Índice .....	vii
Lista de Figuras .....	ix
Lista de Quadros .....	xi
Lista de Abreviaturas.....	xii
1. Introdução.....	1
2. <i>Enterobacter spp.</i> .....	3
2.1. Características gerais.....	4
2.2. Identificação laboratorial .....	6
2.3. Fatores de virulência.....	9
2.4. Mecanismos de resistência.....	10
2.5. Infecções.....	15
3. Antibioterapia.....	18
3.1. Algoritmo de tratamento .....	18
3.2. Fármacos .....	22
3.2.1. Carbapenemos .....	22
3.2.2. Cefalosporinas .....	27
3.2.3. Aminoglicosídeos .....	31
3.2.4. Tetraciclinas.....	34
3.2.5. Monobactamos.....	37
3.2.6. Fosfomicina .....	38

3.2.7.	Polimixinas .....	39
3.3.	Fármacos em ensaios clínicos .....	40
3.3.1.	Fase I.....	41
3.3.2.	Fase II.....	42
3.3.3.	Fase III .....	42
4.	Outras abordagens terapêuticas .....	43
4.1.	Bacteriófagos.....	43
4.2.	Óleos essenciais .....	44
4.3.	Péptidos antimicrobianos .....	45
4.4.	Terapia fotodinâmica antimicrobiana.....	45
5.	O papel do farmacêutico.....	46
5.1.	Farmacêutico hospitalar .....	46
5.2.	Farmacêutico comunitário .....	47
5.3.	Farmacêutico em assuntos regulamentares .....	48
5.4.	Farmacêutico na indústria.....	49
6.	Conclusão .....	51
	Referências bibliográficas.....	53

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.1.</b> Bactérias multirresistentes pertencentes ao grupo ESKAPE. Adaptado de (20).....	3
<b>Figura 2.1.</b> Estrutura da parede celular das bactérias Gram-negativas. Adaptado de (33).....	5
<b>Figura 2.2.</b> Transmissão de resistências aos antibióticos entre humanos, animais e ambiente. Adaptado de (89).....	11
<b>Figura 2.3.</b> Classificação das $\beta$ -lactamases mais comuns em <i>Enterobacter spp.</i> Adaptado de (96).....	14
<b>Figura 3.1.</b> Comparação da estrutura de antibióticos $\beta$ -lactâmicos. Adaptado de (180).....	23
<b>Figura 3.2.</b> Estrutura química do imipenem, cilastatina e relebactam, respetivamente. Adaptado de (183-185).....	23
<b>Figura 3.3.</b> Estrutura química do meropenem e vaborbactam, respetivamente. Adaptado de (187, 188).....	24
<b>Figura 3.4.</b> Estrutura química do ertapenem. Adaptado de (192).....	26
<b>Figura 3.5.</b> Estrutura química da ceftazidima e avibactam, respetivamente. Adaptado de (201, 202).....	28
<b>Figura 3.6.</b> Estrutura química do ceftolozano e tazobactam, respetivamente. Adaptado de (206, 207).....	29
<b>Figura 3.7.</b> Estrutura química do cefiderocol. Adaptado de (212).....	30
<b>Figura 3.8.</b> Mecanismo de ação dos aminoglicosídeos. Adaptado de (214).....	31
<b>Figura 3.9.</b> Estrutura química da amicacina. Adaptado de (220).....	32
<b>Figura 3.10.</b> Estrutura química da gentamicina. Adaptado de (222).....	33
<b>Figura 3.11.</b> Estrutura química da tobramicina. Adaptado de (224).....	34
<b>Figura 3.12.</b> Estrutura química da eravaciclina. Adaptado de (235).....	35
<b>Figura 3.13.</b> Estrutura química da tigeciclina. Adaptado de (238).....	36
<b>Figura 3.14.</b> Estrutura química do aztreonam. Adaptado de (243).....	37

<b>Figura 3.15.</b> Estrutura química da fosfomicina. Adaptado de (247).....	39
<b>Figura 3.16.</b> Estrutura química da colistina. Adaptado de (251).....	40

## Lista de Quadros

<b>Quadro 2.1.</b> Características bioquímicas para identificação das espécies do complexo <i>Enterobacter cloacae</i> . Adaptado de (19, 23, 56-59).....	8
<b>Quadro 3.1.</b> Antibioterapia de infecções causadas por <i>Enterobacter spp.</i> ....	19

## Lista de Abreviaturas

**ADN** - Ácido desoxirribonucleico

**ALT** - Alanina aminotransferase

**ARN** - Ácido ribonucleico

**AST** - Aspartato aminotransferase

**DHP-1** - Desidropeptidase-I

***E. asburiae*** - *Enterobacter asburiae*

***E. cloacae*** - *Enterobacter cloacae*

***E. hormaechei*** - *Enterobacter hormaechei*

**ECC** - *Enterobacter Cloacae Complex*

**EMA** - *European Medicines Agency*

**EUA** - Estados Unidos da América

**IM** - Intramuscular

**INR** - Razão Normalizada Internacional

**ITU** - Infecções do trato urinário

**IV** - Intravenosa

**LPS** - Lipopolissacarídeos

**MDR** - *Multidrug-resistance*

**MurA** - UDP-N-acetilglucosamina enolpiruvil transferase

**OE** - Óleos essenciais

**OMP** - *Outer membrane proteins*

**PAH** - Pneumonia adquirida no hospital

**PAPA** - Programa de Apoio à Prescrição Médica

**PAV** - Pneumonia associada ao ventilador

**PBP** - *Penicillin-binding proteins*

**PDR** - *Pan-drug-resistance*

**PPCIRA** - Programa de Prevenção e Controlo de Infecções e de Resistência aos Antimicrobianos

**PTD** - *Photodynamic therapy*

**QS** - *Quorum-sensing*

**T6SS** - Sistema de secreção tipo VI

**XDR** - *Extensively drug-resistance*

## 1. Introdução

Antigamente, as doenças infecciosas eram responsáveis pela elevada morbidade e mortalidade, onde a esperança média de vida à nascença era de 47 anos (1). Não havendo o conhecimento necessário, a procura de estratégias para tratar e prevenir a propagação das doenças não foi possível durante muito tempo (2). Antes do aparecimento dos antibióticos, a amputação era o tratamento das feridas infetadas. Isso verificou-se durante a Primeira Guerra Mundial (1914-1918) em 70% dessas amputações. Tudo mudou com a introdução de fármacos com atividade antibacteriana, os quais revolucionaram a abordagem do tratamento de doenças infecciosas bacterianas (3).

O primeiro antibiótico foi descoberto acidentalmente em 1928 por Alexander Fleming ao identificar um fungo que inibia o crescimento das colónias de *Staphylococcus aureus*. A molécula proveniente do *Penicillium notatum* foi purificada e denominada de penicilina. No entanto, a produção industrial deste antibiótico foi realizada apenas em 1940 por Howard Florey e Ernst Chain, usando o fungo *Penicillium chrysogenum* (4). Esta descoberta foi muito importante na redução do número de mortes dos combatentes devido a doenças infecciosas, as quais eram mais comuns do que as causadas pela própria guerra. A disponibilização da penicilina aos Aliados durante a Segunda Guerra Mundial (1939-1945) contribuiu para a diminuição da mortalidade devido a feridas infetadas e conseqüentemente uma grande contribuição para a vitória (5). Entre 1950 e 1970, descobriram-se vários antibióticos, sendo este período conhecido como a “Era do ouro” (6).

Todavia, a resistência aos antibióticos tem-se tornado numa das principais ameaças à saúde pública, a qual é caracterizada pela capacidade de as bactérias resistirem ao efeito do antibiótico que inicialmente eram sensíveis (7). Vários fatores contribuem para o desenvolvimento de resistências, nomeadamente o uso excessivo e inadequado de antibióticos nos setores da saúde humana, animal e ambiental, assim como a dispensa de antibióticos sem receita médica, o saneamento básico deficiente e a libertação de resíduos para o ambiente (8).

Os antibióticos estão a tornar-se cada vez mais ineficazes devido ao aumento das resistências a nível global, o que dificulta o tratamento de infeções bacterianas. Futuramente, procedimentos ao nível dos cuidados de saúde, como cirurgias, quimioterapia e transplantes de órgãos terão um maior risco de serem realizados (9).

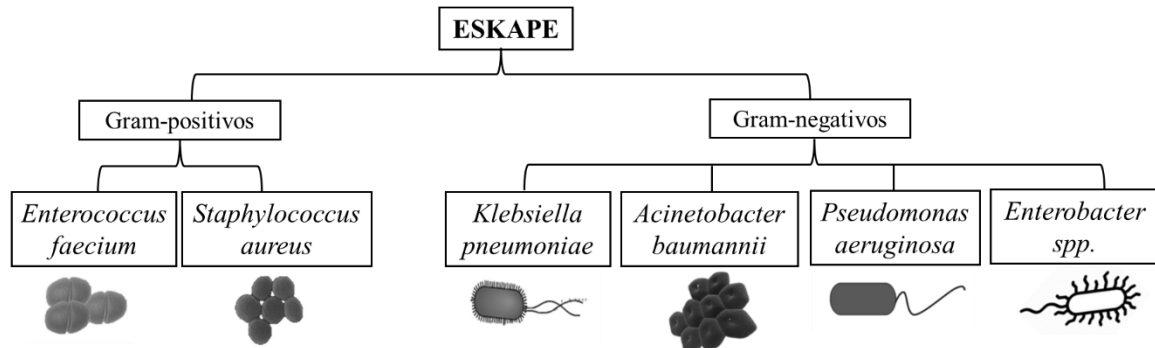
Em 2019, registaram-se mais de 1,2 milhões de mortes relacionadas com esta problemática. Estima-se que até 2050, a resistência aos antimicrobianos poderá ser considerada uma das principais causas de morte, cerca de 10 milhões por ano, caso não sejam tomadas medidas de controlo, ultrapassando a soma do número de mortes devido ao cancro e diabetes (10).

A resistência aos antibióticos é um problema de saúde global, estando integrada no conceito de “Uma Só Saúde” (em inglês; *One Health*). Esta abordagem é definida como uma colaboração de diferentes disciplinas de forma a fornecer soluções para a saúde humana, animal e ambiental. Várias autoridades reguladoras afirmaram que este tema é considerado uma das principais ameaças globais à saúde no século XXI e, por isso, a cooperação entre profissionais destas áreas, países e outras partes interessadas é importante para diminuir o aparecimento das resistências (11, 12).

O grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*) compreende bactérias nosocomiais que são resistentes aos antibióticos comuns, sendo consideradas uma elevada ameaça para a saúde (**Figura 1.1**) (13). Estes patógenos são a principal origem da maioria das infeções bacterianas potencialmente letais em unidades de saúde, nomeadamente entre doentes imunocomprometidos (14). São capazes de se adaptar rapidamente às condições do meio, transmitindo material genético a outros microrganismos (15).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou em 2017, uma lista de doze famílias de bactérias que são consideradas a maior ameaça à saúde humana (16). Esta lista é composta por três categorias de acordo com a urgência da necessidade de novos antibióticos, as quais são prioridades média, alta e crítica (17). Nesta última categoria estão presentes bactérias que constituem uma grande ameaça à saúde pública devido a opções de tratamento limitadas, elevadas taxas de mortalidade e morbilidade, aumento das resistências aos antibióticos, não havendo muitos fármacos em ensaios clínicos para este grupo de bactérias, como *Acinetobacter baumannii*, resistente aos carbapenemos, *Enterobacterales* resistentes aos carbapenemos, *Enterobacterales* resistentes às cefalosporinas de 3.<sup>a</sup> geração e *Mycobacterium tuberculosis* resistente à rifampicina (18). Estas bactérias são multirresistentes, constituindo uma ameaça para os pacientes em unidades de saúde e aqueles cujas condições levem à necessidade de utilização de dispositivos médicos como ventiladores e cateteres (15). Devido ao seu impacto na saúde, em 2019, a OMS decidiu incluir a resistência antimicrobiana como uma das dez

maiores ameaças à saúde a nível mundial, juntamente com outras tais como dengue, Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e alterações climáticas (19).



**Figura 1.1.** Bactérias multirresistentes pertencentes ao grupo ESKAPE. Adaptado de (20).

Com base nas considerações anteriores, os principais objetivos da presente Dissertação são os seguintes: i) caracterizar as espécies de *Enterobacter* em relação às suas características gerais, identificação laboratorial, fatores de virulência e mecanismos de resistência; ii) identificar e caracterizar os principais fármacos utilizados no tratamento das infeções; iii) descrever outras abordagens terapêuticas; e iv) evidenciar o papel do farmacêutico nas diferentes áreas de atividade.

Em relação à metodologia, efetuou-se uma revisão da literatura privilegiando-se os artigos científicos e as *guidelines*. A pesquisa iniciou-se no dia 1 de janeiro de 2024 e terminou no dia 31 de julho de 2024.

## **2. *Enterobacter* spp.**

O género *Enterobacter* é membro do grupo ESKAPE, o qual é composto por patógenos bacterianos mais resistentes, como referido anteriormente (19). Foi descrito pela primeira vez por Hormaeche e Edwards em 1960 quando os membros móveis e positivos para a ornitina descarboxilase do género *Aerobacter* foram separados como *Enterobacter* de forma a distingui-los das estirpes de *Klebsiella* não móveis e negativos para a ornitina descarboxilase (21).

A taxonomia destas bactérias tem sido atualizada e muitas das espécies de *Enterobacter* foram movidas para outro género. Temos o exemplo do *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans* e *Enterobacter sakazakii* que passaram a pertencer ao género *Klebsiella*, *Pantoea* e *Cronobacter*, respetivamente (22). Assim, este género é composto por dezanove espécies, as quais são *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter bugandensis*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter chengduensis*, *Enterobacter chuandaensis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter huaxiensis*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter morib*, *Enterobacter oligotrophica*, *Enterobacter quasihormaechei*, *Enterobacter roggkampii*, *Enterobacter sichuanensis*, *Enterobacter soli*, *Enterobacter timonensis*, *Enterobacter wuhouensis* e *Enterobacter xiangfangensis* (23). Entre estas, ainda se encontra o complexo *Enterobacter cloacae*, o qual é composto pelas espécies *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter dissolvens*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter kobei* e *Enterobacter nimipressuralis*. Estão compreendidas no complexo *Enterobacter cloacae*, uma vez que têm mais de 60% de homologia do ácido desoxirribonucleico (ADN) (24). São microrganismos saprófitas no ambiente, encontrando-se no solo e esgotos, mas também no trato gastrointestinal do humano. São responsáveis por diversas infeções, nomeadamente infeções nosocomiais (25). As principais espécies detetadas são *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae* e *Enterobacter hormaechei* (19). A bactéria *E. cloacae* é a mais comum nas unidades de saúde (26).

## 2.1. Características gerais

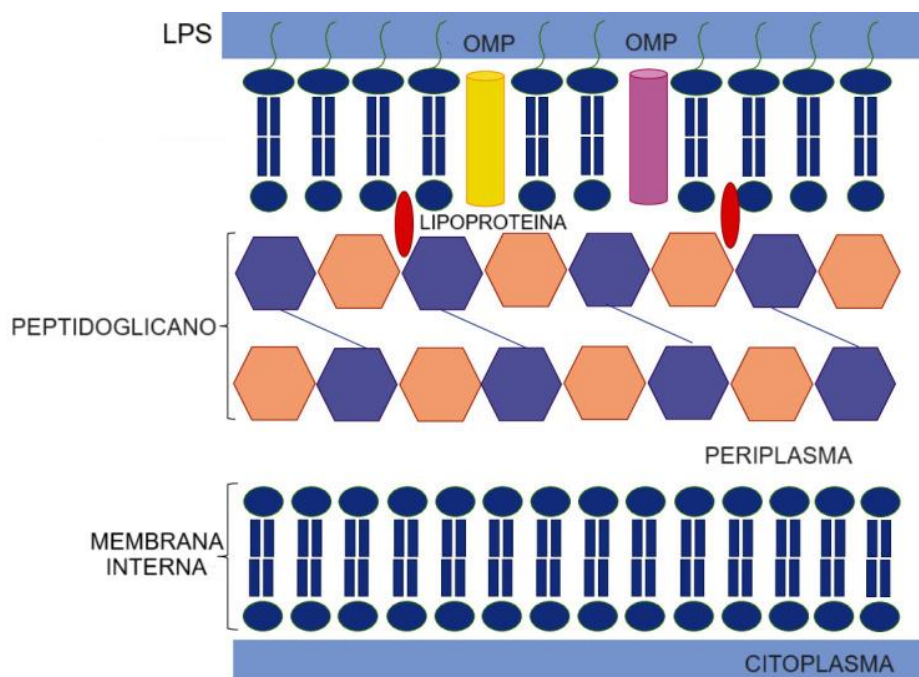
O género *Enterobacter* pertence à família *Enterobacteriaceae* e são bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos, saprófitas, contendo flagelos peritríquios, ou seja, distribuídos por toda a célula, fímbrias do tipo 1 e não formam esporos (25, 27, 28).

Encontram-se no solo, esgotos e na flora entérica do trato gastrointestinal. Conseguem-se adaptar ao ambiente nas unidades de cuidados de saúde e também sobreviver na pele, superfícies secas e multiplicar em fluidos contaminados (29, 30).

*E. asburiae* recebeu esta designação em honra de Mary Alyce Fife-Asbury, uma bacteriologista americana que contribuiu para a classificação das *Enterobacteriaceae* (31). *E. cloacae* foi descrito inicialmente em 1890 por Jordan como "*Bacillus cloacae*" e somente em 1960, a bactéria recebeu a denominação pelo qual é atualmente conhecida. *E. hormaechei*

foi assim nomeado devido ao microbiologista Estenio Hormaeche, que definiu o género *Enterobacter* juntamente com Edwards. (32).

Sendo bactérias Gram-negativas, têm na constituição da parede celular duas membranas e uma camada de peptidoglicano (**Figura 2.1**). A membrana externa é composta por uma bicamada de fosfolípidos na parte interna e por uma camada de lipopolissacarídeos (LPS) na parte externa, a qual impede a entrada de moléculas hidrofóbicas (33, 34). É uma estrutura bem organizada e rígida devido a ligações entre glicolípidos e sacarídeos, ligações eletrostáticas e entre grupos fosfato e iões de cálcio e magnésio que se encontram intercalados nas moléculas de LPS, formando interações iónicas (35, 36). Também contém lipoproteínas que estão covalentemente ligadas à membrana e proteínas da membrana externa (OMP; em inglês *outer membrane proteins*) que permitem a difusão de pequenas moléculas como mono e dissacáridos ou aminoácidos através da membrana (37). A membrana interna, a qual é composta por uma bicamada de fosfolípidos, atua como uma barreira eletroquímica (33, 38). Entre as membranas encontra-se um compartimento celular aquoso, o periplasma, que é mais viscoso que o citoplasma e contém a camada de peptidoglicanos (37). Esta é constituída por resíduos de N-acetilglucosamina e de ácido N-acetilmurâmico com ligações cruzadas de péptidos, as quais são catalisadas por proteínas de ligação à penicilina (PBP; em inglês *penicillin-binding proteins*) (39, 40).



**Figura 2.1** Estrutura da parede celular das bactérias Gram-negativas. Adaptado de (33).

O facto de estarem presentes duas membranas nas bactérias Gram-negativas, leva a uma diminuição da permeabilidade de vários fármacos, protegendo-as da sua ação. Esta característica representa um dos desafios para a descoberta de novos antibióticos (41).

## 2.2. Identificação laboratorial

Para a identificação laboratorial destas bactérias são usados vários métodos, tendo sido descritos alguns deles, nomeadamente a coloração de Gram, ágar de MacConkey, os testes de Voges-Proskauer, indol, motilidade, de utilização de citrato, urease, redução de nitrato, de produção de sulfeto de hidrogénio, oxidase e descarboxilase (**Quadro 2.1**).

Um dos métodos mais usados é a coloração de Gram que permite determinar se uma bactéria é Gram-positiva ou Gram-negativa. Esta técnica foi desenvolvida pelo médico dinamarquês Hans Christian Gram em 1884 que tentou usar várias combinações de corantes para que as bactérias se tornassem mais fáceis de visualizar em tecidos infetados (42). Para realizar este método é aplicado na bactéria, um corante violeta e depois iodo que vai permitir a ligação do corante à camada de peptidoglicano da parede celular e depois acetona para fazer a lavagem. Nas bactérias Gram-positivas, o corante permanece ligado uma vez que a camada de peptidoglicano é mais densa e por isso adquirem uma coloração violeta. O contrário ocorre em bactérias Gram-negativas dada a menor densidade desta camada. Depois de ser adicionado o corante safranina ficam com uma cor rosa (43, 44). Portanto, bactérias *Enterobacter spp.* obtêm esta coloração.

O ágar MacConkey, em honra do bacteriologista Alfred T. MacConkey, permite distinguir as bactérias Gram-negativas fermentadoras de lactose das não fermentadoras de lactose. O meio é composto por um corante violeta-cristal, sais biliares, lactose e vermelho neutro, um indicador de pH. Tanto o corante como os sais biliares vão inibir o crescimento dos bactérias Gram-positivas. Desta forma, aquelas que sejam fermentadoras de lactose irão formar colónias vermelhas/rosas, enquanto as não fermentadoras de lactose irão formar colónias brancas opacas. Isto porque a fermentação da lactose irá originar ácido láctico, o qual diminui o pH, fazendo com que o indicador de pH obtenha uma cor vermelha/rosa ao invés de branco (45, 46).

O teste Voges-Proskauer é importante para determinar se um microrganismo, através da fermentação da glucose produz acetilmetilcarbinol (acetoína). Para tal, a este composto é adicionado 40% de hidróxido de potássio e oxigénio, formando-se diacetil. Depois é adicionado alfa-naftol que devido à sua ação catalítica, o composto fica com uma cor vermelha-

acastanhada, indicando um resultado positivo. Se apresentar uma cor amarela, então é negativo (47).

O teste do indol tem como objetivo identificar as bactérias que produzem a enzima triptofanase que converte o triptofano em gás indol. Posteriormente são adicionados reagentes como o reagente de Ehrlich ou o reagente de Kovac que ao reagirem com o indol formam um composto vermelho, o que indica uma reação positiva (48).

O teste de motilidade é observado macroscopicamente e introduz-se uma linha de cloreto de trifeniltetrazólio num tubo. Este é reduzido pela bactéria e forma um pigmento vermelho. As bactérias móveis, ou seja, que contêm flagelo irão mover-se para fora dessa linha, indicando um resultado positivo (48, 49).

A utilização de citrato representa outra forma de caracterização destas espécies e indica se as bactérias consomem citrato como fonte de energia. Está contido no meio assim como os sais de amónio que são convertidos em amónia se a bactéria metabolizar o citrato. Esta reação aumenta o pH e o indicador azul de bromotimol torna-se azul (50).

O teste de redução do nitrato permite determinar se uma bactéria converte o nitrato a nitrito e por sua vez a nitrogénio. Este processo está associado a uma respiração anaeróbia. Uma reação positiva leva à formação de um composto com a cor vermelha (51).

O teste da produção de sulfeto de hidrogénio permite determinar se a bactéria produz este composto a partir de enxofre inorgânico. O sulfeto de hidrogénio está na forma gasosa e reage com iões férricos, formando um precipitado preto insolúvel (52).

Outra forma de caracterizar a bactéria é através do teste da urease, uma enzima que converte a ureia em amónia e dióxido de carbono. O meio contém vermelho de fenol e ao ocorrer a alcalinização do meio devido a estes produtos, o indicador fica com uma cor rosa (48, 53).

O teste da oxidase é importante para determinar se uma bactéria produz enzimas do citocromo oxidase que catalisam o transporte de eletrões. Quando presentes o citocromo oxidase, oxigénio e o reagente de Kovac, forma-se uma cor roxa devido à oxidação deste corante (54).

O teste da descarboxilase tem sido usado para determinar se as bactérias, particularmente da família de *Enterobacteriaceae*, produzem a enzima descarboxilase, responsável por remover o grupo carboxílico dos aminoácidos com posterior formação de aminas. Através deste teste é possível detetar a presença da lisina e ornitina descarboxilase bem como da arginina dihidrolase. O meio foi introduzido por Moeller, sendo composto por peptona e extrato de carne, os quais fornecem nutrientes nitrogenados que permitem o crescimento dos

microrganismos. Também contém vermelho cresol e roxo de bromocresol, os quais são indicadores de pH que mudam de cor de acordo com as condições alcalinas ou ácidas. De seguida, de acordo com a enzima que vai ser determinada são adicionadas lisina, ornitina ou arginina (55). Após a inoculação do meio com uma bactéria capaz de fermentar a glucose, é produzido ácido e o indicador de pH converte a cor do meio para amarelo. A produção de ácido estimula a descarboxilase a formar a amina que é básica. Esta, ao ser básica, promove a mudança de cor do indicador de pH para roxo (48).

Este teste é especialmente importante para fazer a distinção entre géneros e espécies da família *Enterobacteriaceae*. Isto porque muitas espécies de *Citrobacter* e *Enterobacter* são positivas para arginina e ornitina, enquanto espécies de *Klebsiella* são apenas positivas para lisina e espécies de *Yersinia* positivas para ornitina (48).

*E. asburiae* dá positivo para o teste da urease e negativa para o teste de Voges-Proskauer e arginina dihidrolase (19, 23, 56). *E. cloacae* dá positivo para o teste de Voges-Proskauer, de motilidade e arginina dihidrolase e negativo para o teste da urease (23, 57, 58). *E. hormaechei* dá positivo para o teste de Voges-Proskauer, de motilidade e da urease (59). Todas estas bactérias têm uma reação positiva para o ágar de MacConkey, teste de utilização do citrato, redução do citrato e ornitina descarboxilase. Verificou-se uma reação negativa para o teste de indol, produção de sulfeto de hidrogénio, oxidase e lisina descarboxilase (23, 56, 57).

**Quadro 2.1.** Características bioquímicas para identificação das espécies do complexo *Enterobacter cloacae*. Adaptado de (19, 23, 56-59).

Teste	<i>E. asburiae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. hormaechei</i>
Ágar de MacConkey	+	+	+
Voges-Proskauer	-	+	+
Indol	-	-	-
Motilidade	-	+	+
Utilização de citrato	+	+	+
Redução de nitrato	+	+	+
Produção de sulfeto de hidrogénio	-	-	-
Urease	+	-	+
Oxidase	-	-	-
Lisina descarboxilase	-	-	-
Ornitina descarboxilase	+	+	+
Arginina dihidrolase	-	+	+

(+) positivo; (-) negativo

### 2.3. Fatores de virulência

Os fatores de virulência são moléculas (toxinas, enzimas, cápsulas, LPS, entre outros) produzidas por microrganismos patogênicos com capacidade de invadir o hospedeiro e causar a doença. Por isso, o conhecimento a nível molecular destes patógenos e dos seus fatores de virulência é importante para desenvolver estratégias para combater infecções microbianas (60). Nas espécies de *Enterobacter* também estão presentes fatores de virulência, tais como o sistema de secreção tipo VI (T6SS; em inglês *Type VI secretion system*), hemolisina, toxinas formadoras de poros, toxina Shiga tipo 1, fimbrias curli e sideróforos (61-63).

O T6SS é uma proteína que geralmente está presente em bactérias Gram-negativas e que tem como função a translocação de proteínas efetoras da bactéria para células adjacentes (64). As espécies de *Enterobacter* têm dois *clusters* do T6SS, os quais se denominam T6SS-1 e T6SS-2. O primeiro é importante para competir com outras bactérias da mesma espécie ou de outras, bem como conferir atividade hemolítica, enquanto o segundo está envolvido na formação de biofilmes e na adesão celular. Ambos são fatores de virulência que permitem a sobrevivência destas bactérias e a sua colonização em diferentes hospedeiros (65). A hemolisina está envolvida na lise dos eritrócitos, enquanto que a citotoxina formadora de poros, na lise de leucócitos e eritrócitos (63, 66). A toxina Shiga tipo 1 inibe a síntese proteica do hospedeiro e a fimbria curli promove a adesão da bactéria à célula, sendo importante na formação de biofilmes (63, 67, 68).

Quando está presente uma infeção, o hospedeiro limita a quantidade de ferro disponível de forma a diminuir a replicação das bactérias. Todavia, se as bactérias se encontrarem em ambientes pobres em ferro, sintetizam e secretam moléculas quelantes de  $Fe^{3+}$ , os sideróforos (69). São compostos produzidos e libertados por quase todas as bactérias que têm como função captar ferro e transportá-lo até à bactéria, uma vez que apresentam uma elevada afinidade. Esta afinidade é tão elevada que são capazes de remover o ferro ligado às proteínas como a ferritina ou transferrina (70-72). O ferro é essencial para o crescimento e metabolismo das bactérias uma vez que atua como um catalisador nos processos enzimáticos, na síntese de ADN e ácido ribonucleico (ARN). Para além disso, também interfere na formação de biofilmes já que regula a motilidade da superfície e estabiliza a matriz de polissacáridos (73-76). Neste grupo de bactérias podem ser produzidos diferentes tipos de sideróforos, principalmente a enterobactina e aerobactina (77). A aerobactina tem uma menor afinidade para o  $Fe^{3+}$ , comparativamente à enterobactina, mas por outro lado não é capturada pelas proteínas do soro do hospedeiro (78).

A formação de biofilmes também desempenha um papel importante na patogenicidade de *Enterobacter spp.* São comuns em unidades de cuidados de saúde, estando associados a feridas crônicas, infecções urinárias em cateteres, pneumonia e dispositivos médicos (79). Formam uma barreira física que impede a difusão de antibióticos, tornando-se resistentes aos mesmos, assim como ao sistema imunitário (61, 80). Consistem em complexos de comunidades de microrganismos que aderem à superfície. No início, células planctônicas fixam-se à superfície, começando a produzir exopolissacarídeos. Ficam irreversivelmente ligadas à superfície o que promove a agregação celular e formação de uma matriz. Depois ocorre um processo de maturação do biofilme que posteriormente liberta células para outras localizações, espalhando a infecção (81, 82).

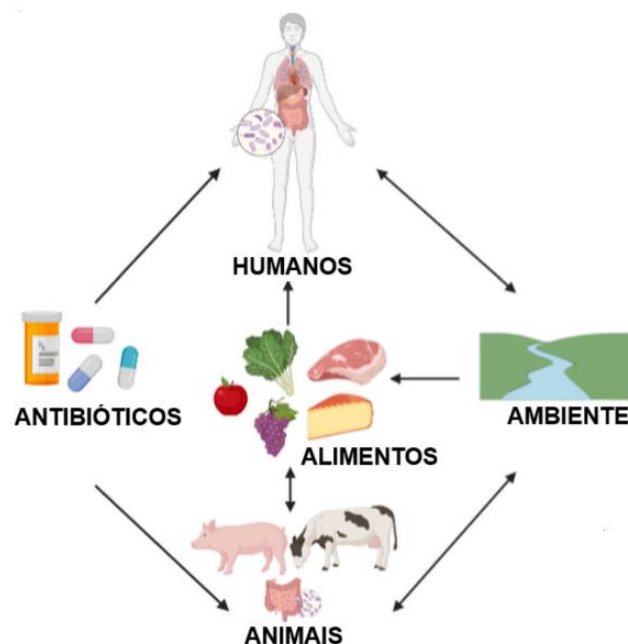
O *quorum-sensing* (QS) é um sistema de comunicação entre as bactérias, mediado por sinais químicos, os autoindutores (AI). Estas moléculas podem alterar a microbiota do hospedeiro e interferir com as vias de sinalização das células (83). Estas também regulam várias atividades fisiológicas como a motilidade, transferência de plasmídeos, formação de biofilmes, expressão de resistência aos antibióticos e interações com as células do hospedeiro (84). Foi descrito em bactérias do género *Enterobacter*, em que se verificou a presença de AI-1, AI-2 e AI-3 (83, 84).

## **2.4. Mecanismos de resistência**

A resistência aos antibióticos é definida como a capacidade das bactérias de evadir da ação dos antibióticos, através de vários mecanismos (85). Trata-se de um problema significativo que poderá ter várias consequências, nomeadamente a falha do tratamento que leva a uma doença mais prolongada ou morte, maiores períodos de tempo nos hospitais que aumentam as infecções ao nível da comunidade. Outro obstáculo é a falha de antibióticos de primeira linha que leva ao uso dos de segunda ou terceira linhas que por sua vez são mais caros, sendo que por outro lado há falta de antibióticos em diversos países em desenvolvimento para tratar infecções causadas por bactérias resistentes (86). Mesmo em países com sistemas de saúde bem financiados, e com tratamentos de segunda e terceira linhas disponíveis, tem-se verificado um aumento dos custos do tratamento e da mortalidade devido a infecções causadas por bactérias multirresistentes (87).

Em relação ao tipo de resistência, as bactérias podem ser consideradas multirresistentes (MDR; em inglês *multidrug-resistance*), quando são resistentes a pelo menos três grupos de antibióticos, com resistência estendida (XDR; em inglês *extensively drug-resistance*), ou seja, que são resistentes a todos os grupos de antibióticos menos a um e panresistentes (PDR, em inglês *pan-drug-resistance*), quando são resistentes a todos os grupos de antibióticos (88).

A resistência aos antibióticos é um dos maiores problemas de saúde pública presentes no conceito de *One Health* e, por isso, é importante que exista uma associação entre as áreas da agricultura, produção alimentar e ambiente, saúde humana e animal para que ocorra uma redução da sua propagação (11, 87). Vários fatores podem contribuir para a transmissão das resistências (**Figura 2.2**), tais como o uso descontrolado de antibióticos em hospitais, lares, unidades de cuidados intensivos, a prescrição inadequada de antibióticos (p. ex., não é necessário o seu uso, doses e duração de tratamento erradas), o uso de antibióticos como promotores do crescimento em animais, tratamento e prevenção de doenças que por sua vez afetam os humanos já que consomem produtos de origem animal, viagens para locais com doenças endêmicas e a descarga de resíduos contendo antibióticos que atingem o solo e água, e posteriormente são usados na produção agrícola (89, 90).



**Figura 2.2.** Transmissão de resistências aos antibióticos entre humanos, animais e ambiente. Adaptado de (89).

Novos mecanismos de resistência surgem regularmente e propagam-se, o que se torna num obstáculo para as opções de tratamento disponíveis (86). Existem vários mecanismos que as bactérias desenvolvem para impedir a ação dos antibióticos como a sua modificação ou destruição, redução da permeabilidade da membrana, alterações da estrutura dos alvos e a presença de bombas de efluxo (91).

O aumento de patógenos Gram-negativos multirresistentes que produzem  $\beta$ -lactamases, como  $\beta$ -lactamases do tipo AmpC,  $\beta$ -lactamases de espectro alargado (ESBL; em inglês, *Extended Spectrum  $\beta$ -lactamases*) e carbapenemases tem-se tornado num problema de saúde preocupante já que se encontra associado a infeções nosocomiais e infeções adquiridas na comunidade, por todo o mundo (92).

Os antibióticos podem ser inativados através de enzimas, as  $\beta$ -lactamases, as quais atuam através da hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico, impedindo a sua ação no alvo (93). Segundo a classificação de Ambler, estas enzimas podem estar divididas em quatro classes, designadamente A, B, C e D, de acordo com a informação da sequência de aminoácidos. As classes A, C e D têm um centro ativo com serina, enquanto que as enzimas da classe B têm um centro ativo com zinco (94, 95). Outra forma de caracterizar as  $\beta$ -lactamases é através da classificação de Bush-Jacoby-Medeiros, baseada nas propriedades funcionais das enzimas, ou seja, a sua ação nos substratos. O grupo 1 contém cefalosporinases (classe C de Ambler), o grupo 2 as serino- $\beta$ -lactamases (classes A e D de Ambler), enquanto o grupo 3 é composto pelas metalo- $\beta$ -lactamases (classe B de Ambler) (**Figura 2.3**) (96).

As espécies de *Enterobacter*, assim como outras bactérias Gram-negativas do género *Enterobacteriales*, são capazes de produzir cefalosporinases AmpC que pertencem à classe C da classificação de Ambler e ao grupo 1 da classificação de Bush-Jacoby-Medeiros. Os genes que codificam esta enzima estão presentes nos cromossomas. Encontram-se no espaço periplasmático, onde podem impedir a ação dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos antes de interagirem com o alvo (97). Nestas bactérias, há uma pequena expressão do gene cromossómico *ampC*, o qual codifica as AmpC. Desta forma, são intrinsecamente resistentes aos antibióticos como penicilina, amoxicilina-ácido clavulânico, cefalosporinas de 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> geração (26, 98-101). Contudo, a produção destas enzimas é induzida na presença de determinados antibióticos  $\beta$ -lactâmicos como cefalosporinas de 3.<sup>a</sup> geração (p. ex., ceftazidima, ceftriaxona e cefotaxima), piperacilina/tazobactam e aztreonam, provocando a resistência a estes antibióticos, limitando as opções terapêuticas (99, 102). Também podem ocorrer mutações no gene *ampD*, o qual codifica para uma proteína reguladora, gerando uma hiperprodução constitutiva de AmpC e consequentemente resistências aos antibióticos (97, 99).

As ESBL pertencem à classe A e D da classificação de Ambler e ao grupo 2 da classificação de Bush-Jacoby-Medeiros (103). Enzimas pertencentes a este grupo (classe A) incluem TEM, SHV e CTX-M, as quais são mais comuns em espécies de *Enterobacter* (104, 105). São maioritariamente encontradas em hospitais e na comunidade (106).

As enzimas TEM foram descritas pela primeira vez em isolados de *Escherichia coli* numa cultura de sangue de um paciente grego chamado Temoneira por volta de 1960 (107). As primeiras enzimas SHV (do inglês *Sulphydryl Variable*) foram descobertas em *Klebsiella pneumoniae*, codificadas num cromossoma por volta de 1985 (107, 108). As enzimas CTX-M (do inglês *cefotaximase from Munich*) foram reportadas pela primeira vez em 1980 e a sua nomenclatura baseia-se num caso detetado na Alemanha, proveniente de  $\beta$ -lactamases cromossómicas da bactéria *Kluyvera spp.* (107, 109). As enzimas ESBL TEM e SHV são mutações de  $\beta$ -lactamases através da substituição de aminoácidos, enquanto as CTX-M desenvolveram-se a partir transferência horizontal de genes entre bactérias através de plasmídeos ou transposões e têm-se tornado relevantes ao longo de décadas (110-112). As ESBL são resistentes a penicilinas, cefalosporinas de 2.<sup>a</sup> (p. ex., cefuroxima), 3.<sup>a</sup> (p. ex., cefotaxima, ceftriaxona e ceftazidima) e 4.<sup>a</sup> geração (p. ex., cefepima) e monobactams (p. ex., aztreonam) (99, 107, 113). No entanto, são inibidas pelos inibidores das  $\beta$ -lactamases (p. ex., ácido clavulânico, sulbactam, tazobactam, avibactam, varbobactam e relebactam) e carbapenems (p. ex., imipenem, meropenem e ertapenem) (105, 113, 114).

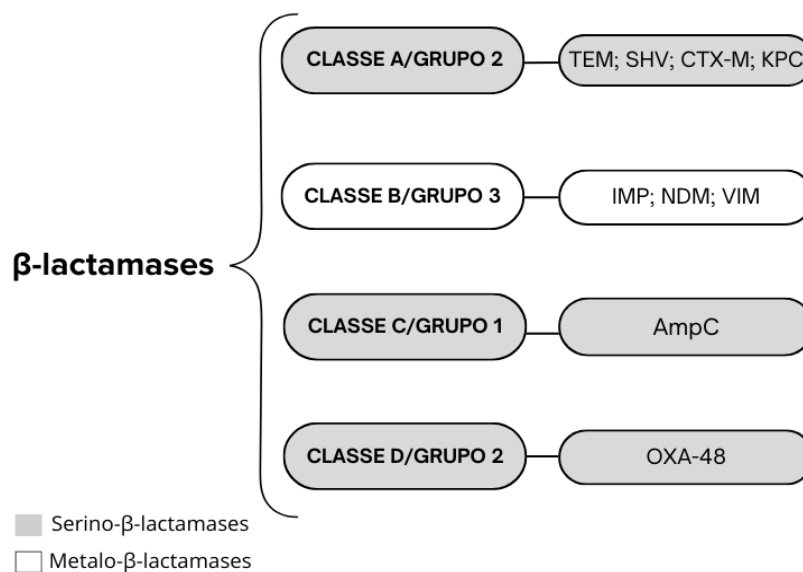
As carbapenemases são outro tipo de enzimas produzidas por estas bactérias que estão inseridas nas classes A, B e D da classificação de Ambler e nos grupos 2 e 3 da classificação de Bush-Jacoby-Medeiros (96, 115). No complexo *Enterobacter cloacae*, são mais prevalentes as carbapenemases *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC), *New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase* (NDM), *imipenem-hydrolyising metallo-beta-lactamase* (IMP), *Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase* (VIM) e oxacillinase-48 (OXA-48) (116, 117).

A KPC, pertencente à classe A, está maioritariamente presente em países como Estados Unidos da América (EUA), Israel e alguns países da Europa como Grécia e Itália (117). Foi identificada pela primeira vez nos EUA em 1996 num isolado de *K. pneumoniae* (118, 119). Outras carbapenemases como NDM (classe B) estão associadas ao subcontinente indiano e China Oriental, mas são as mais comuns globalmente, tendo-se verificado um aumento da sua disseminação (99, 117, 120). O primeiro caso foi em 2008 numa estirpe de *K. pneumoniae*, isolada numa cultura urinária de um paciente que tinha estado hospitalizado em Nova Deli (120, 121). IMP (classe B) é mais prevalente no sudeste asiático, Filipinas, Taiwan e Austrália, tendo-se observado um crescimento nos últimos anos (99, 117, 122). O primeiro caso detetado foi no

Japão em 1991 proveniente da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* que era resistente ao imipenem (123, 124). A VIM (classe B) é mais comum na Europa, havendo raros casos na América do Sul e Sudeste Asiático (99). Foi isolada pela primeira vez em Verona em 1997 (119). Esta classe de  $\beta$ -lactamases inibe todos os  $\beta$ -lactamos exceto os monobactams (125).

A OXA-48 (classe D) é endêmica na Turquia, norte de África e em alguns países da Europa (117). A descoberta desta enzima deu-se em Istambul em 2001, na *K. pneumoniae* (126). Tem uma atividade contra penicilinas, algumas cefalosporinas (p. ex., cefalotina e cefotaxima) e carbapenemos, sendo a  $\beta$ -lactamase com maior eficiência catalítica contra o imipenem (127-129). Em Portugal, as mais comuns são as KPC e OXA-48 (130).

As carbapenemases representam um problema devido à existência e disseminação de mecanismos de resistência através da transmissão horizontal de genes de resistência a carbapenemos. A sua elevada taxa de mortalidade, morbidade e custos de tratamento é um grande problema de saúde pública (117, 131). As carbapenemases estão mais presentes em pacientes hospitalizados (106).



**Figura 2.3.** Classificação das  $\beta$ -lactamases mais comuns em *Enterobacter spp.* Adaptado de (96).

A resistência à colistina através de plasmídeos tem aumentado a nível mundial, o que reduz as alternativas terapêuticas (92). A colistina tem ação contra bactérias Gram-negativas e é usada como antimicrobiano de última linha em infecções de *Enterobacteriaceae* multirresistentes (132). A resistência ocorre devido à produção de genes *mobile colistin resistance* (*mcr*) (132, 133). Os genes *mcr-1* e *mcr-9* são os que se têm disseminado mundialmente, enquanto que os restantes (*mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*, *mcr-6*, *mcr-7*, *mcr-8*) são limitados a determinadas áreas (132, 134).

Outro mecanismo de resistência é a alteração da permeabilidade da membrana devido a alterações de permeabilidade das purinas. Estão presentes na membrana externa, formando canais que permitem a passagem de antibióticos de forma a atingirem o alvo. Mutações como deleções, inserções e substituições de nucleótidos resultam numa redução do tamanho dos canais de purinas ou alterações na sua carga eletrostática (135). A diminuição ou perda das proteínas OmpF e OmpC promovem um aumento da resistência aos antibióticos como os carbapenemos (135, 136).

As bombas de efluxo são transportadores que se localizam na membrana citoplasmática das bactérias e organismos eucariotas. Têm como função eliminar qualquer substância exógena como antibióticos, impedindo que cheguem ao seu alvo, desempenhando um papel importante na resistência bacteriana (137). No caso de *Enterobacter spp.*, a família de bombas de efluxo presente é *Resistance Nodulation Division* (RND), a qual confere resistência a antibióticos como as tetraciclinas, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, macrólidos, cloranfenicol e  $\beta$ -lactâmicos (138, 139). O sistema AcrAB foi descrito como estando associado à resistência ao imipenem e meropenem em *E. cloacae* (140).

## 2.5. Infecções

Entre 2022 e 2023 foram estimadas cerca de 4,8 milhões de infecções associadas a cuidados de saúde na Europa, sendo as mais comuns, infecções do trato respiratório, infecções do trato urinário (ITU), infecções no local da cirurgia, bacteriemia e infecções gastrointestinais. Os microrganismos predominantemente isolados foram *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.*, SARS-CoV-2, *S. aureus*, *C. difficile*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus coagulase-negativo*, *Candida spp.*, *Proteus spp.*, *Acinetobacter spp.* e *Enterobacter spp.* (141). É um problema de saúde pública grave tanto para os pacientes como também para os profissionais de saúde, sendo que cerca de um terço é provocado por *Enterobacteriaceae*. Estas infecções são adquiridas no ambiente e são causadas por bactérias resistentes (142).

As espécies de *Enterobacter* são responsáveis por vários tipos de infecções, as quais se encontram descritas a seguir.

As ITU são um dos problemas dos cuidados de saúde mais comuns e dispendiosos a nível global devido à elevada frequência, desafios no tratamento e consequências negativas. As mulheres são mais afetadas do que os homens devido à anatomia do sistema genital feminino, onde a uretra e o ânus estão próximos (143, 144). A família de bactérias *Enterobacteriaceae* é o grupo mais prevalente em ITU, sendo que os três principais são a *E. coli*, *K. pneumoniae* e *E. cloacae* (143, 145). As ITU podem ocorrer na uretra (uretrite), bexiga (cistite) e rins (pielonefrite) e também são classificadas como não complicadas e complicadas. As ITU não complicadas afetam pacientes sem anormalidades a nível estrutural e neurológico do trato urinário enquanto que as infecções urinárias complicadas estão associadas a normalidades do trato urinário que aumentam a suscetibilidade de infecções como uropatia obstrutiva, presença de cálculos renais e bexiga neurogénica (145).

As infecções do trato respiratório inferior são uma das doenças infecciosas mais comuns e um importante problema de saúde pública. Podem ser classificadas em pneumonia adquirida na comunidade (PAC), pneumonia adquirida no hospital (PAH) e pneumonia associada ao ventilador (PAV) (146). A PAH e PAV são frequentemente provocadas por bactérias Gram-negativas como os *Enterobacteriales*. No entanto, também se tem verificado a presença destas bactérias em PAC, principalmente em pacientes com doenças pulmonares ou que tenham realizado tratamento com antibióticos (147, 148).

A bacteriemia é principalmente causada por *Acinetobacter baumannii*, seguida da *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter spp.* (149). O complexo *E. cloacae* está envolvido em infecções da corrente sanguínea, afetando principalmente pacientes debilitados e hospitalizados. A taxa de mortalidade situa-se entre 15,1% e 33,3 (150). Vários fatores contribuem para o aumento destes números, sendo que pacientes imunocomprometidos estão mais propensos a terem infecções da corrente sanguínea provocados por bactérias Gram-negativas uma vez que necessitam de extensos períodos de hospitalização e são submetidos a várias intervenções invasivas, tornando-se suscetíveis (150, 151). Também os pacientes das unidades de cuidados intensivos e que foram submetidos a cirurgia nos três meses anteriores têm uma maior probabilidade de terem infecções da corrente sanguínea devido a bactérias do complexo *E. cloacae* produtoras de ESBL uma vez que são submetidos a procedimentos invasivos, aumentando a exposição a vários antimicrobianos que por sua vez eliminam as estirpes suscetíveis, enquanto que as estirpes resistentes se disseminam (150, 152).

A endocardite infecciosa é uma infecção microbiana do endocárdio que afeta principalmente pessoas com problemas estruturais do coração, histórico de endocardite, características e comorbidades como idade avançada e populações imunodeprimidas (153, 154). Este tipo de infecções causadas por microrganismos como *E. cloacae* são pouco comuns, mas têm uma elevada mortalidade e representam um desafio no tratamento (155).

A osteomielite é um processo inflamatório devido a uma infecção no osso que pode ser aguda ou crónica. Este desenvolve-se após anos de uma infecção persistente e pode ser caracterizada pela presença de necrose do osso e fistulas entre pele e osso (156, 157). Fatores de risco associados incluem artrite prévia no local infetado, presença de próteses articulares, disseminação de bactérias a partir de uma infecção extra-articular, hospitalização (158). *E. cloacae* é o terceiro microrganismo mais comum a causar osteomielite crónica (9,5%) e cerca de 10,6% de osteomielite pós-traumática é causada por esta bactéria (159-161). As infecções causadas por este agente levam a tratamentos longos e muitas intervenções cirúrgicas, sendo necessário longos períodos de recuperação (159).

A meningite bacteriana é uma infecção que provoca uma elevada morbidade e mortalidade, podendo ser de origem nosocomial ou adquirida na comunidade (162). A sua incidência é maior em crianças e idosos, sendo que alguns dos fatores de risco incluem a imunossupressão, vírus da imunodeficiência humana e anemia falciforme. Esta infecção requer tratamento e atenção médica imediata (162-164). Cerca de 9 a cada 10 pacientes com meningites causadas por *Enterobacter* estão associadas a neurocirurgias ou traumatismos cranianos (165). Num estudo concluiu-se que estas bactérias foram a terceira causa mais comum de meningite associada aos cuidados de saúde (166). As espécies de *Enterobacter* são raras em causar meningites bacterianas adquiridas na comunidade (165).

As infecções da pele e tecidos moles são uma das infecções bacterianas mais comuns nos cuidados primários e podem ser infecções ligeiras ou graves (p. ex., fascíte necrotizante) (167). São causadas por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, sendo estas as principais causadoras deste tipo de infecções. No entanto, tem-se verificado um aumento da presença de bactérias Gram-negativas, nomeadamente do grupo ESKAPE (167, 168). Os fatores de risco são o uso inapropriado de antibióticos, infecções relacionadas com realização de implantes mamários, hospitalização prolongada e diabetes *mellitus* descontrolados (169-171). Os dois tipos de bactérias podem ser a etiologia de uma infecção da pele e tecidos moles, sendo que neste caso resultado é mais grave e difícil de tratar (169).

### 3. Antibioterapia

Os antibióticos são os fármacos mais importantes para tratar e prevenir infecções bacterianas. São substâncias produzidas naturalmente por alguns fungos e bactérias e podem ser bactericidas, eliminando totalmente a bactéria, ou bacteriostáticos, inibindo o seu crescimento (172).

Deve-se ter em conta vários fatores na escolha do antibiótico como a origem da infecção, sensibilidade da bactéria, características do doente, como alergias, função renal, função hepática e fatores de risco, dose e via de administração mais adequadas, e a farmacocinética e farmacodinâmica do fármaco (130).

A duração do tratamento depende do local de infecção, severidade da doença e características do agente. Porém, períodos curtos de tratamento podem ter maiores benefícios na redução das complicações bem como da resistência aos antibióticos devido à menor pressão do seu uso (173).

#### 3.1. Algoritmo de tratamento

No **Quadro 3.1**, encontra-se descrito o algoritmo de tratamento das infecções causadas por *Enterobacter spp.*, segundo o mecanismo de resistência. São mencionados os principais fármacos utilizados e outras observações que incluem as infecções mais comuns. As posologias descritas para cada fármaco são específicas para adultos com função renal e hepática normais.

**Quadro 3.1.** Antibioterapia de infecções causadas por *Enterobacter spp.* IV – Via intravenosa.

Mecanismo de resistência	1. <sup>a</sup> linha	Outras observações	Referência bibliográfica
<b>Resistência às cefalosporinas de 3.<sup>a</sup> geração</b>	Imipenem + Cilastatina + Relebactam ou Meropenem	Infeções da corrente sanguínea e infecções severas	(174)
	Ertapenem	Infeções da corrente sanguínea sem choque séptico	
	Aminoglicosídeos (amicacina, gentamicina, tobramicina, plazomicina) ou Fosfomicina IV	Infeções do trato urinário complicadas sem choque séptico	

**Quadro 3.1.** Antibioterapia de infecções causadas por *Enterobacter spp.*. IV – Via intravenosa. (cont.)

Mecanismo de resistência	1. <sup>a</sup> linha	Outras observações	Referência bibliográfica
<b>β-lactamases de espectro alargado</b>	Ceftolozano + Tazobactam	Infeções complicadas do trato urinário, infecções intra-abdominais complicadas, pneumonia associada ao ventilador e pneumonia adquirida no hospital	(174)
	Ceftazidima + Avibactam	Infeções complicadas do trato urinário, infecções intra-abdominais complicadas, pneumonia associada ao ventilador e pneumonia adquirida no hospital e tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas em pacientes com opções de tratamento limitadas	
	Meropenem + Vaborbactam	Infeções complicadas do trato urinário, pneumonia associada ao ventilador, pneumonia adquirida no hospital, tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas em pacientes com opções de tratamento limitadas	
	Imipenem + Cilastatina + Relebactam	Pneumonia associada ao ventilador, pneumonia adquirida no hospital, infecções da corrente sanguínea com suspeita de origem respiratória e infecções causadas por bactérias Gram-negativas em pacientes com opções de tratamento limitadas	
	Eravaciclina	Infeções intra-abdominais complicadas	
	Cefiderocol	Tratamento de infecções causadas por bactérias aeróbicas Gram-negativas em pacientes com opções de tratamento limitadas	
	Polimixinas	Tratamento de infecções causadas por bactérias aeróbicas Gram-negativas em pacientes com opções de tratamento limitadas	
	Fosfomicina IV	Tratamento de infecções severas quando outros antibióticos não são adequados	
	Tigeciclina	Infeções da pele e tecidos moles e infecções intra-abdominais	

**Quadro 3.1.** Antibioterapia de infecções causadas por *Enterobacter spp.*. IV – Via intravenosa. (cont.)

Mecanismo de resistência	1.ª linha	Outras observações	Referência bibliográfica
<b>Resistência aos carbapenemos</b>	Meropenem + Vaborbactam ou Ceftazidima + Avibactam	Infeções severas	(174)
	Imipenem + Cilastatina + Relebactam	Pneumonia associada ao ventilador, pneumonia adquirida no hospital, infecções da corrente sanguínea com suspeita de origem respiratória e infecções causadas por bactérias Gram-negativas em pacientes com opções de tratamento limitadas	
	Tigeciclina	Infeções da pele e tecidos moles e infecções intra-abdominais	
	Cefiderocol	Infeções severas com produção de metalo- $\beta$ -lactamases e/ou resistência a outros antibióticos	
	Eravaciclina	Infeções intra-abdominais complicadas	
	Aminoglicosídeos (amicacina, gentamicina, tobramicina, plazomicina)	Infeções complicadas do trato urinário	
<b>Terapia combinada para resistência aos carbapenemos</b>	Aztreonam e Ceftazidima + Avibactam	Infeções severas por enterobactérias resistentes aos carbapenemos com produção de metalo- $\beta$ -lactamases e/ou resistência a monoterapia	

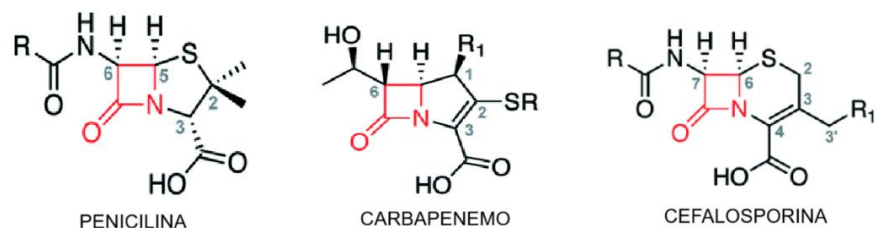
Adicionalmente, refere-se as seguintes notas:

- Foi descrito um caso de meningite causado por *E. cloacae*, sensível ao sulfametoxazol + trimetoprim, gentamicina, ciprofloxacina e ertapenem. O paciente iniciou o tratamento com sulfametoxazol + trimetoprim por via intravenosa (IV; 5 mg/kg de trimetoprim) a cada 8 horas durante 11 dias. Dada a evolução da doença, adicionou-se à terapêutica, 4 mg de gentamicina intratecal diária, durante 14 dias. A persistente presença de culturas positivas de *E. cloacae* levou à paragem de sulfametoxazol + trimetoprim, iniciando-se a terapêutica com 1000 mg de ertapenem IV diário, durante 16 dias (175).
- Outro caso foi uma paciente com uma ferida crónica infetada por *E. cloacae* com resistência moderada aos carbapenemos e resistente a todos as opções de antibióticos orais. Foi administrado 450 mg de omadaciclina oral uma vez por dia durante 2 dias e depois passou para 300 mg durante 8 dias, verificando-se a resolução do problema (176).

## 3.2. Fármacos

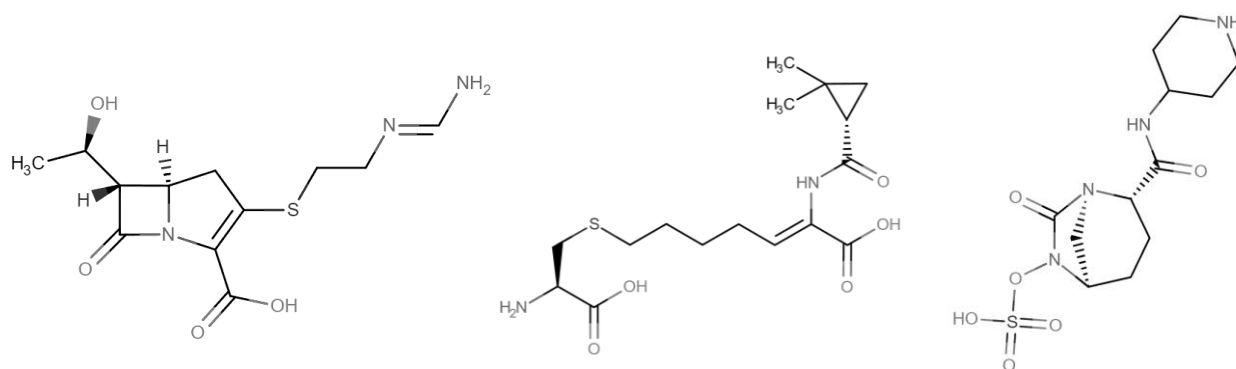
### 3.2.1. Carbapenemos

Os carbapenemos pertencem à classe dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. São considerados como o “último recurso” para tratar infeções causadas por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas MDR, uma vez que têm uma boa estabilidade contra enzimas ESBL e AmpC (177, 178). Têm ação bactericida uma vez que inibem a transpeptidação, ou seja, a formação de ligações cruzadas de peptidoglicanos, essenciais na formação da parede celular, através da ligação a PBP. Desta forma, ocorre lise celular e morte da bactéria. Apresentam uma baixa permeabilidade na membrana externa e por isso a sua entrada dá-se através de OMP (179). Têm na sua estrutura um anel  $\beta$ -lactâmico e pirrólico, contendo um enxofre na posição C2, contrariamente às penicilinas (178, 179). O facto das posições C5 e C6 apresentarem uma configuração *trans* em vez de *cis*, a qual é comum noutros  $\beta$ -lactâmicos, diminui a sensibilidade dos carbapenemos às  $\beta$ -lactamases (**Figura 3.1**) (125).



**Figura 3.1.** Comparação da estrutura de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. Adaptado de (180).

O imipenem não apresenta em C1, o grupo metil (**Figura 3.2**), o que leva à sua metabolização pela enzima renal desidropeptidase-I (DHP-1) num metabolito nefrotóxico. Deste modo, deve ser co-administrado com um inibidor desta enzima, a cilastatina (**Figura 3.2**), de forma a aumentar o tempo de semivida, a penetração nos tecidos e diminuir a nefrotoxicidade (177, 179). O imipenem pode ainda ser associado com o relebactam (**Figura 3.2**), o qual é um inibidor não- $\beta$ -lactâmico de  $\beta$ -lactamases de classe A como KPC e ESBL e de classe C como AmpC. No entanto, tem uma fraca atividade em carbapenemases de classe B como IMP e NDM e em carbapenemases de classe D como OXA-48 (174, 181). O relebactam protege o imipenem da degradação destas enzimas e assim as bactérias ficam mais sensíveis à ação do antibiótico (182).



**Figura 3.2.** Estrutura química do imipenem, cilastatina e relebactam, respetivamente. Adaptado de (183-185).

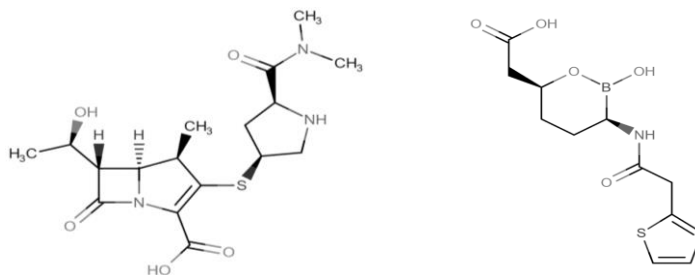
O imipenem + cilastatina + relebactam é indicado para tratamento de bacteriemia, infecções severas, PAH e PAV, bacteriemia em associação com PAH ou PAV, e infecções causadas por organismos aeróbios Gram-negativos com opções de tratamento limitadas (174, 181). A posologia adequada é 500 mg/500 mg/250 mg a cada 6 horas por via IV. No caso de PAH e PAV, a duração do tratamento é entre 7 a 14 dias, enquanto que no caso de infecções causadas por organismos aeróbios Gram-negativos em doentes com opções de tratamento limitadas, o tempo varia de acordo com o local de infecção (181).

Os efeitos indesejáveis mais frequentes incluem náuseas, diarreia, vômitos, erupção cutânea, eosinofilia, tromboflebite, aumento da ALT e AST e fosfatase alcalina séricas. É contraindicado em caso de hipersensibilidade ao imipenem, cilastatina ou relebactam, hipersensibilidade a qualquer outro carbapenemo e hipersensibilidade grave a qualquer outro antibiótico  $\beta$ -lactâmico.

A administração concomitante com ácido valpróico pode levar a níveis subterapêuticos do mesmo quando administrado com o antibiótico, promovendo um aumento da ocorrência de convulsões. Também em pacientes que estão a realizar o tratamento com ganciclovir e imipenem + cilastatina + relebactam, têm sido reportadas convulsões. A administração de imipenem + cilastatina + relebactam em conjunto com anticoagulantes orais, como a varfarina, pode levar a um aumento do seu efeito anticoagulante pelo que deve ser monitorizado a Razão Normalizada Internacional (INR; em inglês *International Normalized Ratio*).

Quando o imipenem é administrado de forma isolada, é metabolizado pela DHI-1 e cerca de 15-20% da dose é recuperada. Associado à cilastatina, cerca de 70% é recuperado na urina e disponível para exercer a sua ação antibacteriana.

O meropenem (**Figura 3.3**), ao contrário do imipenem, apresenta em C1, o grupo metil e por isso tem maior estabilidade quando se encontra presente a DHP-1, não sendo necessário ser administrado com a cilastatina (179). Em C2, o grupo 3-tiol-pirrolidina, confere uma maior atividade em bactérias Gram-negativas e uma maior tolerância no sistema nervoso central (186).



**Figura 3.3.** Estrutura química do meropenem e vaborbactam, respetivamente. Adaptado de (187, 188).

Está indicado para tratamento de bacteriemia, infecções severas, PAV e PAH, infecções broncopulmonares na fibrose quística, ITU complicadas, infecções complicadas intra-abdominais, infecções intra- e pós-parto, infecções complicadas da pele e dos tecidos moles, meningite bacteriana aguda, já que tem habilidade de penetrar as meninges e bacteriemia associada com as infecções referidas (174, 179, 189). A posologia recomendada é de 500 mg ou 1000 mg para PAH, PAV, ITU complicadas, infecções complicadas intra-abdominais, infecções intra- e pós-parto, infecções complicadas da pele e dos tecidos moles e de 2000 mg para infecções broncopulmonares na fibrose quística e meningite bacteriana aguda. A administração é realizada por via IV a cada 8 horas (189).

Os efeitos indesejáveis mais frequentes são trombocitemia, cefaleias, diarreia, vômitos, náuseas, dor abdominal, eritema, prurido, aumento das transaminases, da fosfatase alcalina e da lactato desidrogenase e inflamação e dor no local de administração. As contraindicações incluem hipersensibilidade ao meropenem, hipersensibilidade aos carbapenemos e hipersensibilidade grave a qualquer outro antibiótico  $\beta$ -lactâmico (189).

Em relação às interações farmacológicas, foram descritas interações com a probenecida, uma vez que compete na secreção tubular ativa e inibe a excreção renal do meropenem. Ocorre, assim, um aumento do tempo de semivida de eliminação e da concentração plasmática do antibiótico. Interações com o ácido valpróico e anticoagulantes orais, como a varfarina, foram também relatados tal como nos exemplos anteriores (189).

Vários estudos clínicos, demonstraram que devido à sua estrutura química, cerca de 60%-80% do meropenem chega ao trato urinário sem necessitar de um inibidor da DHP-1 (186).

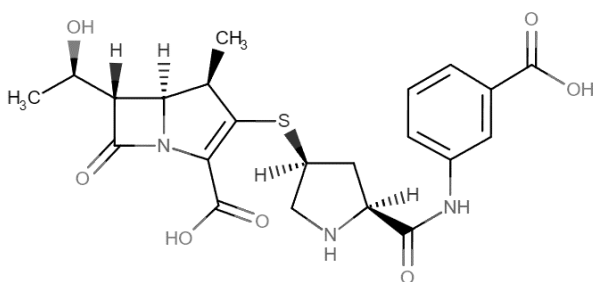
O meropenem também é associado ao vaborbactam que tal como o relebactam é um inibidor não- $\beta$ -lactâmico de  $\beta$ -lactamases de classes A e C, mas tem uma baixa atividade em enzimas das classes B e D (190) (**Figura 3.3**). Foi desenvolvido especialmente para atuar contra carbapenemases KPC. O vaborbactam foi testado com vários antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, mas a combinação com o meropenem foi a que mostrou ser mais efetiva (186).

O meropenem + vaborbactam é indicado para tratamento de ITU complicadas, incluindo pielonefrite, PAH, PAV, infecções causadas por organismos aeróbios Gram-negativos com opções de tratamento limitadas, infecção intra-abdominal complicada e bacteremia associada às infecções anteriormente descritas. A posologia recomendada é de 2000 mg/2000 g por via IV a cada 8 horas. Geralmente, o tratamento é entre 5-10 dias para ITU complicadas e infecção intra-abdominal complicada. No caso de PAH e PAV é entre 7-14 dias enquanto que para as restantes infecções mencionadas, a duração é de acordo com o local de infecção (190).

Os efeitos indesejáveis mais frequentes são trombocitopenia, hipocaliemia, hipoglicemia, cefaleias, hipotensão, diarreia, náuseas, vômitos, flebite no local da perfusão, pirexia, aumento da alanina aminotransferase, da aspartato aminotransferase, da fosfatase alcalina e lactato desidrogenase. As contraindicações incluem hipersensibilidade ao meropenem ou vaborbactam, hipersensibilidade aos carbapenemos e hipersensibilidade grave a qualquer outro antibiótico  $\beta$ -lactâmico (190).

As interações farmacológicas importantes incluem o uso concomitante de ácido valpróico e anticoagulantes orais como a varfarina, tendo os efeitos descritos anteriormente. O meropenem/vaborbactam são indutores de determinadas enzimas, pelo que a sua administração com fármacos metabolizados pelo CYP1A2 (p. ex., teofilina), CYP3A4 (p. ex., midazolam, sinvastatina e etinilestradiol), CYP2C (p. ex., varfarina e fenitoína) e/ou transportados pela P-gp (p.ex., dabigatran e digoxina) podem levar a uma diminuição da concentração plasmática e da atividade destes fármacos. Os contraceptivos hormonais também têm uma diminuição da eficácia devido a este antibiótico pelo que as mulheres devem usar um método contraceptivo alternativo. A probenecida compete com o meropenem e vaborbactam, substratos do transportador OAT3, na secreção tubular ativa, uma vez que inibe o OAT3 e, por isso, pode ocorrer uma diminuição da excreção renal e assim um aumento da concentração plasmática do antibiótico (190).

O ertapenem, também apresenta na sua estrutura um grupo metil em C1 e por isso é mais resistente à ação da DHP-1 (179) (**Figura 3.4**). O facto de ter uma substituição de ácido benzoico promove um aumento da lipofilicidade e do volume de distribuição (175, 191).



**Figura 3.4.** Estrutura química do ertapenem. Adaptado de (192).

Tem como indicações terapêuticas o tratamento de bacteriemia, infecções severas, infecções intra-abdominais, PAC, infecções ginecológicas agudas, infecções do pé diabético, na pele e tecidos moles. Está também indicado para a profilaxia de infecção após cirurgia colorretal. A posologia recomendada é 1000 mg uma vez por dia, administrado por via IV. A duração do tratamento é geralmente entre 3 a 14 dias, podendo variar de acordo com a gravidade e microrganismos causais (193).

Os efeitos indesejáveis relatados incluem cefaleias, complicação na veia perfundida, flebite/tromboflebite, diarreia, náuseas, vômitos, aumento do número de plaquetas, erupção cutânea, prurido, aumento da ALT, AST e da fosfatase alcalina. Está contraindicado na hipersensibilidade ao ertapenem ou a qualquer um dos excipientes, hipersensibilidade a outro carbapenemo e hipersensibilidade grave a qualquer outro antibiótico  $\beta$ -lactâmico (193).

Pode ocorrer uma interação farmacológica com o ácido valpróico em que há uma diminuição da sua concentração e um maior risco de convulsões como descrito anteriormente (193).

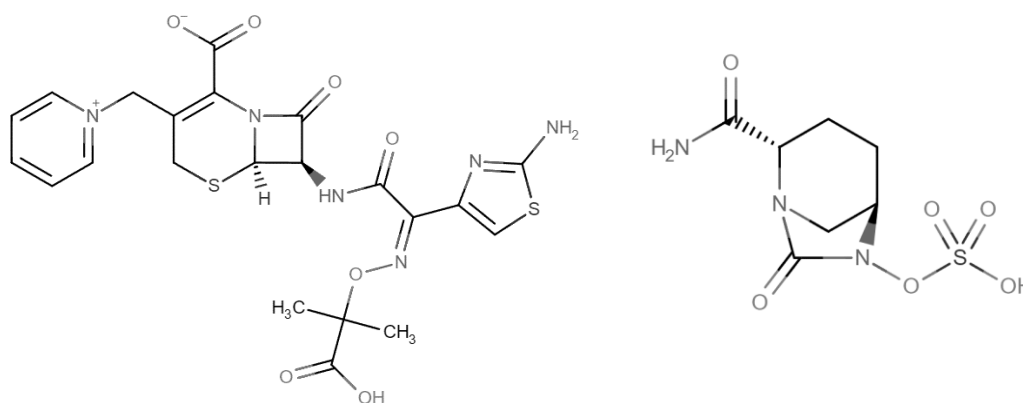
### 3.2.2. Cefalosporinas

As cefalosporinas são constituídas por um anel  $\beta$ -lactâmico fundido com um anel dihidrotiazina (**Figura 3.1**). Assim como as penicilinas têm uma estereoquímica *cis* em C6 e C7 (180). A sua ação bactericida baseia-se em inibir a formação da parede celular das bactérias ao ligar-se às PBP, as quais catalisam a formação das ligações cruzadas das cadeias de peptidoglicano. As cefalosporinas ligam-se irreversivelmente às PBP por mimetizarem a estrutura dos glicopéptidos (194, 195).

São divididas em cinco gerações, de acordo com a sua descoberta e espectro de ação. As cefalosporinas de primeira geração (p. ex., cefazolina, cefalotina e cefapirina) têm uma fraca atividade contra bactérias Gram-negativas, mas uma boa atividade em cocos Gram-positivos. São bem absorvidas e distribuídas pela maioria dos tecidos, exceto no líquido cefalorraquidiano e no fluido do ouvido médio (194, 196). Foram introduzidas as cefalosporinas de segunda geração (p. ex., cefoxitina, cefuroxima e cefeprozil) que revelaram ter uma maior atividade contra  $\beta$ -lactamases produzidas por algumas bactérias Gram-negativas como *Haemophilus influenzae* e algumas espécies de *Enterobacteriaceae* (194, 196, 197). As cefalosporinas de terceira geração (p. ex., ceftazidima, cefotaxima e ceftriaxona) apresentam um maior espectro de ação, sendo mais ativas contra bactérias Gram-negativas como *Enterobacter*. São usadas no tratamento de infecções causadas por este tipo de bactérias

resistentes à primeira e segunda geração. No entanto, estas bactérias têm vindo a desenvolver resistência contra os fármacos e por isso surgiram as cefalosporinas de quarta geração (p. ex., cefepima) que apresentam um elevado espectro de ação, tanto em Gram-negativas como Gram-positivas. Devido ao elevado crescimento de patógenos multirresistentes, foram necessários, urgentemente, novos antibióticos. Surgiram, assim, as cefalosporinas de quinta geração (p. ex., ceftarolina e ceftobiprol) que têm atividade contra estas bactérias e um elevado espectro de ação (194, 196).

A ceftazidima (**Figura 3.5**) é uma cefalosporina de terceira geração e é associada com o avibactam, um inibidor não- $\beta$ -lactâmico de  $\beta$ -lactamases de classe A (p. ex., ESBL e KPC), classe C (p. ex., AmpC) e algumas de classe D (p. ex., OXA-48) (198). Este liga-se ao centro ativo de serina, formando uma ligação covalente e por isso não tem atividade em metalo- $\beta$ -lactamases (p. ex., NDM, VIM e IMP). O uso do avibactam tem como objetivo potenciar o efeito da ceftazidima e a supressão das  $\beta$ -lactamases que provocam a degradação do antibiótico (199, 200).



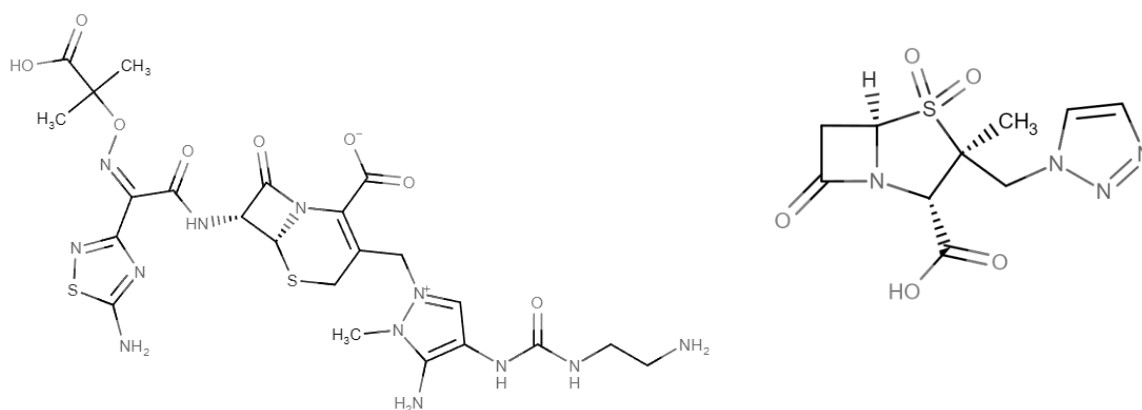
**Figura 3.5.** Estrutura química da ceftazidima e avibactam, respetivamente. Adaptado de (201, 202).

É indicado para infeções complicadas intra-abdominais, ITU complicadas, incluindo pielonefrite, PAH, PAV, bacteriemia associada a estas infeções e em infeções causadas por microrganismos aeróbios Gram-negativos com opções de tratamento limitadas. A posologia recomendada é 2000 mg/500 mg a cada 8 horas por via IV. No caso de infeções intra-abdominais, ITU complicadas, incluindo pielonefrite, a duração do tratamento é entre 5 a 14 dias. Para PAH ou PAV é entre 7 a 14 dias. Nas restantes mencionadas, os dias de tratamento variam de acordo com a infeção e os agentes patogénicos (203).

Os efeitos indesejáveis mais frequentes são candidíase, Teste de Coombs direto positivo, eosinofilia, trombocitose, trombocitopenia, cefaleias, tonturas, diarreia, dor abdominal, náuseas, vômitos, aumento das AST, ALT, fosfatase alcalina sérica, gama-glutamil transferase e lactato desidrogenase. Também provoca erupção maculopapular, urticária, prurido, trombose e flebite no local de perfusão e pirexia. É contraindicada em pacientes com hipersensibilidade à ceftazidima ou avibactam, hipersensibilidade a qualquer cefalosporina, e hipersensibilidade grave a qualquer outro antibiótico  $\beta$ -lactâmico (203).

O avibactam é substrato dos transportadores OAT1 e OAT3. A probenecida é um inibidor potente dos mesmos e impede a captação de 56-70% do avibactam (*in vitro*), alterando a sua eliminação e por isso o seu uso concomitante é desaconselhado. O tratamento com cefalosporinas e fármacos nefrotóxicos (p. ex., aminoglicosídeos) pode afetar a função renal. Também se verificou que *in vitro*, o cloranfenicol é antagonista da ceftazidima e por isso não é recomendado o seu uso (203).

O ceftolozano é uma cefalosporina de quinta geração e o tazobactam, um inibidor de  $\beta$ -lactamases de classe A, nomeadamente as enzimas CTX-M, SHV e TEM (**Figura 3.6**) (204, 205). O seu espectro de ação inclui bactérias Gram-negativas como *Enterobacteriales* produtores de ESBL. A sua atividade é limitada em microrganismos produtores de carbapenemases (205).



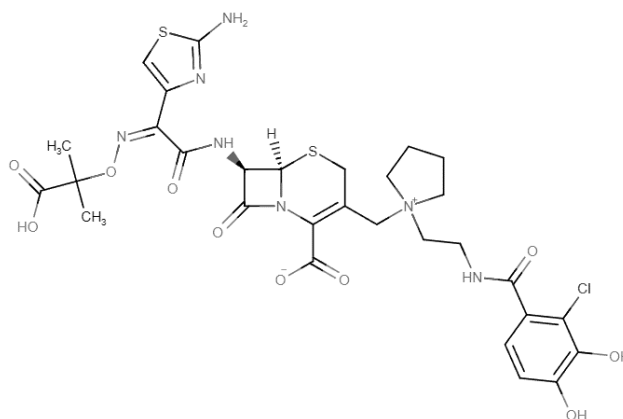
**Figura 3.6.** Estrutura química do ceftolozano e tazobactam, respetivamente. Adaptado de (206, 207).

O ceftolozano + tazobactam está indicado para o tratamento infeções intra-abdominais complicadas, pielonefrite aguda, ITU complicadas, PAH e PAV. A posologia é 1000 mg/500 mg por via IV a cada 8 horas. Para infeções intra-abdominais complicadas, a duração do tratamento é entre 4 a 14 dias. Para ITU complicadas, o tempo de tratamento é de 7 dias e para PAH e PAV é entre 8 a 14 dias (204).

Os efeitos indesejáveis mais comuns incluem colite por *Clostridioides difficile*, prova da função hepática anormal, aumento da fosfatase alcalina, transaminases e da gama-glutamyltransferase, especificamente em casos de PAH e PAV. Também pode causar trombocitose, hipocaliemia, insônia, ansiedade, cefaleia, tonturas, hipotensão, erupção cutânea, pirexia, reações no local de perfusão, náuseas, obstipação, dor abdominal, sendo que todos os mencionados são específicos de infecções intra-abdominais complicadas, pielonefrite aguda e ITU complicadas. Outros efeitos indesejáveis como diarreia, vômitos e aumento da ALT e AST são características de todas as indicações mencionadas para este fármaco (204).

Em relação às interações farmacológicas, o tazobactam é substrato dos transportadores OAT1 e OAT3 e por isso fármacos que os inibam, como a probenecida podem aumentar as concentrações deste fármaco (204).

O cefiderocol (**Figura 3.7**) é uma cefalosporina siderófora. A adição de um grupo clorocatecol, no final da cadeia lateral em C3, confere atividade siderófora e esta é a grande diferença entre as restantes cefalosporinas. O grupo catecol está presente nos sideróforos, sendo importante na quelação do ferro. Estando este grupo presente no cefiderocol, o fármaco consegue quelar ferro livre e ser transportado ativamente através da membrana externa das bactérias Gram-negativas para o periplasma (208, 209). Este antibiótico é ideal para o tratamento de infecções de bactérias Gram-negativas XDR e PDR, sendo estável contra a hidrólise pela maioria das serino- $\beta$ -lactamases, metalo- $\beta$ -lactamases e carbapenemases (210). Foi aprovado pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA; em inglês, *European Medicines Agency*) em 2020 (211). Este fármaco ainda não é comercializado em Portugal (208).



**Figura 3.7.** Estrutura química do cefiderocol. Adaptado de (212).

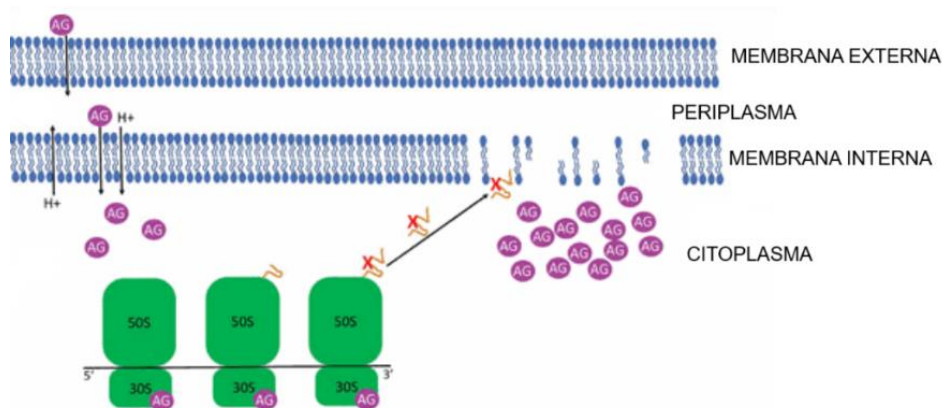
É indicado para o tratamento de infecções causadas por bactérias aeróbias Gram-negativas em pacientes com opções de tratamento limitadas. A posologia é 2000 mg a cada 8 horas por via IV e a duração depende do local de infecção (208).

Tem como efeitos indesejáveis candidíase, colite por *Clostridioides difficile*, tosse, diarreia, náuseas, vômitos, erupção cutânea, reação no local de perfusão, aumento da ALT, gama-glutamyltransferase e AST, função hepática anormal e aumento da creatinina no sangue (208).

Após realização de estudos *in vitro* e em estudos clínicos de Fase I, não são de esperar interações com o cefiderocol (208).

### 3.2.3. Aminoglicosídeos

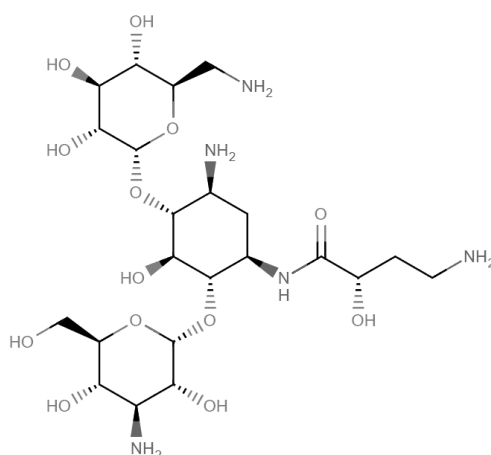
Os aminoglicosídeos são antibióticos bactericidas que inibem a síntese proteica (213). Devido ao facto de apresentarem carga positiva conseguem atravessar a membrana externa das bactérias Gram-negativas, ligando-se ao LPS e fosfolípidos presentes. Um determinado número de moléculas de aminoglicosídeos consegue atravessar a membrana interna através da força motriz de prótons até ao citoplasma (214, 215). Aqui ligam-se à subunidade 30S do ribossoma, mais especificamente no sítio A (aminoacil-tRNA), o qual corresponde ao local de ligação do RNA de transferência (tRNA) que contém o aminoácido seguinte para a síntese da proteína (**Figura 3.8**) (216). São induzidos erros na síntese proteica e estas proteínas causam dano na membrana interna, criando canais que facilitam a entrada de mais moléculas de aminoglicosídeos (214, 215).



**Figura 3.8.** Mecanismo de ação dos aminoglicosídeos. Adaptado de (214).

Os aminoglicosídeos têm um efeito bactericida concentração-dependente, ou seja, o seu efeito terapêutico é ideal quando o pico da concentração ( $C_{máx.}$ ) é pelo menos 8 a 10 vezes superior à concentração mínima inibitória. Devido ao seu modo de ação, estão associados a um efeito pós-antibiótico maior (217). Os aminoglicosídeos mais importantes são a amicacina, gentamicina e tobramicina. A plazomicina também pertence a esta classe de antibióticos, mas está aprovada pela *Food and Drug Administration* (218).

A amicacina (**Figura 3.9**) está indicada para o tratamento de ITU graves, complicadas e recorrentes, devido a microrganismos sensíveis, bacteriemia e septicemia, incluindo a sépsis neonatal, infecções graves do trato respiratório, ossos e articulações, sistema nervoso central, pele e tecidos moles. Também é utilizada em infecções intra-abdominais, incluindo peritonite, e em queimados e infecções pós-operatórias. A posologia recomendada é de 7,5mg/kg a cada 12 horas ou 5 mg/kg cada 8 horas por via parentérica (219).



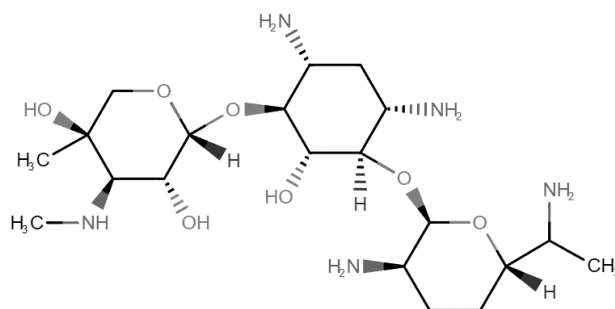
**Figura 3.9.** Estrutura química da amicacina. Adaptado de (220).

Os efeitos indesejáveis são mais comuns em pacientes a quem sejam administradas doses superiores, durante períodos mais longos que os recomendados e quando têm insuficiência renal. Estes incluem ototoxicidade, nefrotoxicidade e neurotoxicidade. Está contraindicada em pacientes com alergia à amicacina ou a outros aminoglicosídeos e em pacientes com miastenia (219).

Este fármaco não deve ser administrado simultaneamente com anestésicos e com fármacos neuromusculares devido ao risco de bloqueio neuromuscular e paralisia respiratória.

Também não deve ser administrada com agentes neurotóxicos ou nefrotóxicos nem com diuréticos potentes, uma vez que neste caso há o risco de ototoxicidade (219).

A gentamicina (**Figura 3.10**) está indicada no tratamento de infecções por bacilos Gram-negativos sensíveis, principalmente nas suas manifestações renais e urológicas. A posologia adequada é 3-6 mg/kg por dia, administrada por via IV (221).

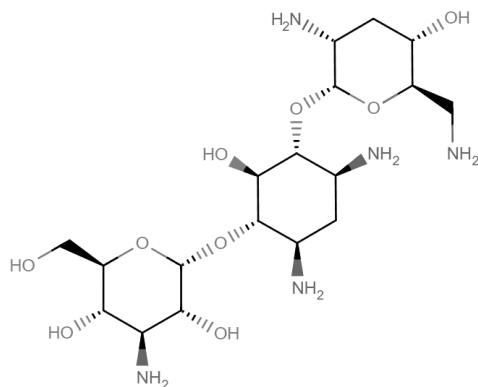


**Figura 3.10.** Estrutura química da gentamicina. Adaptado de (222).

Os efeitos indesejáveis e contraindicações são os mesmos mencionados anteriormente.

Não deve ser administrada simultaneamente com diuréticos muito ativos, agentes ototóxicos e nefrotóxicos. Evitar também o uso de outros aminoglicosídeos, vancomicina, cefalosporinas, ciclosporina, cisplatina, fludarabina uma vez que podem aumentar o risco de toxicidade. A gentamicina também pode potenciar o bloqueio neuromuscular de miorrelexantes e anestésicos gerais (221).

A tobramicina (**Figura 3.11**) é indicada para o tratamento de ITU complicadas recorrentes (pielonefrite e cistite), infecções do sistema nervoso central (meningite, septicemia e sépsis neonatal), infecções gastrointestinais (peritonite), infecções do trato respiratório inferior (pneumonia, broncopneumonia e bronquite aguda), infecções dos ossos, tecidos moles e pele e de queimaduras. A posologia adequada é de 3 mg/kg/dia, a cada 8 horas. Em infecções muito graves, a posologia é de 5 mg/kg/dia dividida em 3 ou 4 doses por via IV ou IM. A duração do tratamento é de 7 a 10 dias (223).



**Figura 3.11.** Estrutura química da tobramicina. Adaptado de (224).

Os efeitos indesejáveis incluem ototoxicidade e nefrotoxicidade, principalmente quando utilizada em doses elevadas durante um período prolongado. Pode também provocar bloqueio neuromuscular. É contraindicada em casos de hipersensibilidade à tobramicina e aos aminoglicosídeos (223).

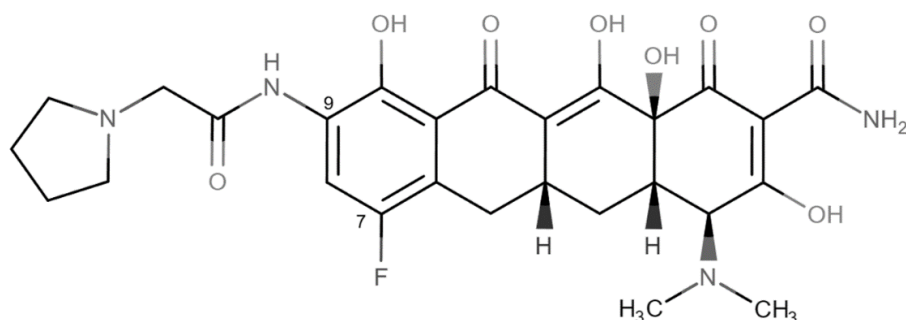
O uso concomitante de antibacterianos polipeptídicos, como colistina e polimixina, pode aumentar o risco de nefrotoxicidade e bloqueio neuromuscular. A administração de indometacina com a tobramicina pode diminuir a sua eliminação renal. O seu uso com anfotericina, clindamicina, vancomicina, agentes imunomoduladores, agentes citotóxicos e inibidores da síntese das prostaglandinas pode aumentar o risco de nefrotoxicidade. A associação com antifúngicos (p. ex., itraconazol e fluconazol) reduz a concentração plasmática do fármaco e respetiva atividade. Os diuréticos podem aumentar o risco de ototoxicidade. A administração de aminoglicosídeos e de relaxantes musculares pode potenciar o bloqueio neuromuscular. Ao usar de forma concomitante a tobramicina com outros aminoglicosídeos pode elevar o risco de ototoxicidade, nefrotoxicidade e bloqueio neuromuscular (223).

### 3.2.4. Tetraciclina

As tetraciclina são uma classe de antibióticos que têm atividade tanto em bactérias Gram-positivas como em Gram-negativas (225, 226). Podem ser divididas em três gerações: primeira geração (p. ex., tetraciclina, clorotetraciclina e oxitetraciclina), segunda geração (p. ex., doxiciclina, minociclina e meclociclina) e terceira geração (p. ex., tigeciclina, eravaciclina e omadaciclina) (225, 227).

A sua atividade antibacteriana consiste na inibição da síntese proteica ao se ligarem à subunidade 30S do ribossoma no processo de tradução, nomeadamente no sítio A e impedirem a ligação do tRNA. Assim, não ocorre formação da cadeia de polipéptidos já que o aminoácido não consegue ser incorporado (225, 228). Dado que as bactérias Gram-negativas são constituídas pela membrana de LPS, as tetraciclinas penetram pelas OMP através de um complexo magnésio-tetraciclina. Depois dissociam-se e difundem-se pela membrana citoplasmática (225, 229). São bacteriostáticos uma vez que a sua ligação aos ribossomas é reversível (225, 230). No entanto, há evidência que as tetraciclinas de terceira geração também apresentam atividade bactericida (225).

A eravaciclina (**Figura 3.12**) é uma tetraciclina de terceira geração. É composta por quatro anéis de benzeno, tal como todas as tetraciclinas, mas com alterações em C7, em que está inserido um átomo de flúor, o qual aumenta a atividade antimicrobiana e em C9, um grupo pirrolidinoacetamida, que aumenta a área de superfície (231, 232). Estas substituições influenciam a potência e o espectro bacteriano, no qual o fármaco vai atuar (233, 234).



**Figura 3.12.** Estrutura química da eravaciclina. Adaptado de (235).

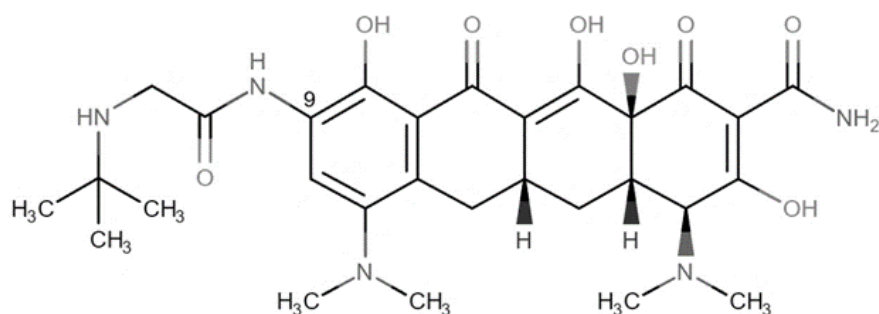
Tem uma ligação ao ribossoma dez vezes maior em relação à tetraciclina (225). Foi aprovada em 2018 pela EMA (236). Contudo, ainda não é comercializada em Portugal (237).

A eravaciclina é indicada no tratamento de infeções intra-abdominais complicadas. A posologia é de 1 mg/kg a cada 12 horas por via IV durante 4 a 14 dias (237).

Apresenta como efeitos indesejáveis mais frequentes hipofibrinogenemia, tromboflebite, flebite, náuseas, vômitos, reação no local de perfusão, aumento da INR, prolongamento do tempo de trombroplastina parcial ativada e do tempo de protrombina. É contraindicada quando há hipersensibilidade à eravaciclina e às tetraciclinas (237).

A administração deste fármaco com indutores do CYP3A (p. ex., rifampicina, fenobarbital e carbamazepina), aumentou a sua depuração e a dose deve ser aumentada para 1,5 mg/kg a cada 12 horas. Verificou-se *in vitro* que a eravaciclina é substrato dos transportadores P-gp, OATP1B1 e OATP1B3. Por isso, outros fármacos que inibem estes transportadores (p. ex., ciclosporina, lopinavir e saquinavir) podem aumentar a concentração plasmática do antibiótico (237).

A tigeciclina (**Figura 3.13**) é uma tetraciclina de terceira geração. A sua estrutura deriva da minociclina, contendo quatro anéis de benzeno e em C9, um grupo glicilamido, o qual não está presente em tetraciclinas naturais ou semissintéticas. Esta substituição aumenta a eficácia contra mecanismos de resistência como proteínas de proteção ribossomais e bombas de efluxo (225).



**Figura 3.13.** Estrutura química da tigeciclina. Adaptado de (238).

A sua potência é três vezes superior à da minociclina e vinte vezes superior às tetraciclinas tradicionais (225, 239).

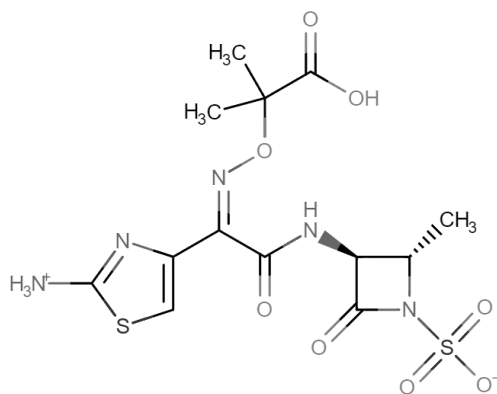
A tigeciclina tem como indicações o tratamento de infeções complicadas da pele e tecidos moles e infeções complicadas intra-abdominais. Deve ser utilizada apenas quando os antibióticos alternativos não são adequados. A posologia adequada é de 100 mg inicialmente, seguida de 50 mg a cada 12 horas por via IV, com duração de 5 a 14 dias (240).

Possui como efeitos indesejáveis mais comuns náuseas, vômitos, diarreia, sépsis/choque séptico, pneumonia, abscesso, infecções, prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada e do tempo de protrombina, hipoglicemia, hipoproteinemia, tonturas, flebite, dor abdominal, dispepsia, anorexia, aumento da AST e da ALT, hiperbilirrubinemia, prurido, erupção cutânea, cicatrização deficiente, reação no local de injeção, cefaleia, aumento da amílase no soro e aumento do azoto ureico do sangue. É contraindicada quando o paciente tem hipersensibilidade à tigeciclina e às tetraciclinas (240).

A nível das interações medicamentosas, recomenda-se a avaliação cuidadosa dos testes de coagulação quando se administram anticoagulantes já que a tigeciclina pode causar o aumento do tempo de protrombina e do tempo de tromboplastina parcial ativada. O uso da tigeciclina com inibidores da calcineurina (p. ex., tacrolímus e ciclosporina) pode levar a um aumento da concentração dos mesmos e por isso devem ser monitorizadas quando usados de forma concomitante. Dado que a tigeciclina é substrato da P-gp, a sua coadministração com inibidores da P-gp (p. ex., cetoconazol e ciclosporina) ou indutores da P-gp (p. ex., rifampicina) pode afetar a sua farmacocinética (240).

### 3.2.5. Monobactamos

Os monobactamos são um grupo de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, ao qual o aztreonam pertence (**Figura 3.14**). A sua ação bactericida baseia-se na elevada afinidade de ligação a PBP, principalmente de bactérias Gram-negativas, inibindo a formação da parede celular (241, 242). Na estrutura do aztreonam está presente um anel  $\beta$ -lactâmico e um grupo metil que tem uma configuração *trans* em relação à cadeia lateral de amida. Isto permite que tenha uma boa estabilidade contra  $\beta$ -lactamases (241).



**Figura 3.14.** Estrutura química do aztreonam. Adaptado de (243).

O aztreonam tem atividade contra metalo- $\beta$ -lactamases e por isso é utilizado em combinação com o avibactam, o qual tem atividade contra carbapenemases com centro ativo de serina. Em conjunto são utilizados em enterobactérias produtoras de carbapenemases (244).

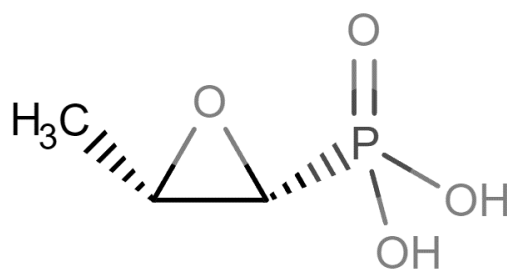
O aztreonam está indicado no tratamento de ITU complicadas e não complicadas, infecções do trato respiratório inferior, bacteremia, septicemia, infecções dos ossos e articulações, infecções da pele e estruturas cutâneas, meningite por *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*, infecções intra-abdominais, infecções ginecológicas e gonorreia provocadas por estirpes de *N. gonorrhoeae* produtoras ou não produtoras de beta-lactamases. Também está indicado na terapêutica adjuvante da cirurgia no tratamento de infecções provocadas por microrganismos sensíveis. A posologia adequada é de 500 mg ou 1000 mg de 8/8 horas ou de 12/12 horas para ITU por via IV. Para infecções sistêmicas moderadamente graves deve ser administrado 1000 mg ou 2000 mg de 8/8 horas ou de 12/12 horas por via IV. E para infecções sistêmicas graves ou de risco de vida, 2000 mg de 6/6 horas ou de 8/8 horas por via IV. No caso da gonorreia aguda e da cistite aguda não complicadas, 1000 mg de aztreonam por dia por via intramuscular (IM) é o suficiente (242).

Os efeitos indesejáveis mais frequentes descritos são o aumento das transaminases, da fosfatase alcalina e da creatinemia. É contraindicado em caso de hipersensibilidade ao aztreonam (242).

A coadministração de aztreonam com probenecida ou furosemida pode aumentar os seus níveis séricos. Deve ser efetuada a monitorização de anticoagulantes, quando administrados em concomitância com o aztreonam (242).

### 3.2.6. Fosfomicina IV

A fosfomicina (**Figura 3.15**) tem atividade bactericida, já que inibe a formação da parede celular, interferindo com a formação de peptidoglicano. Inibe a enzima UDP-N-acetilglucosamina enolpiruvil transferase (MurA), a qual catalisa a formação de ácido N-acetilmurâmico, precursor do peptidoglicano (245). Tem atividade tanto em bactérias Gram-negativas como em Gram-positivas, sendo usada em infecções por bactérias MDR em monoterapia ou em combinação (246).



**Figura 3.15.** Estrutura química da fosfomicina. Adaptado de (247).

Está indicada para o tratamento de infecções severas quando outros antibióticos não são adequados, ITU complicadas, endocardite infecciosa, infecções nos ossos e articulações, infecções de pele e dos tecidos moles complicadas, PAH, PAV, meningite, infecções intra-abdominais complicadas e bacteriemia associada a uma das infecções descritas (174, 248). A posologia para todas as infecções é de 12-24 g divididas em 2 a 3 doses, exceto a meningite que é 16-24 g divididas em 3 a 4 doses (248).

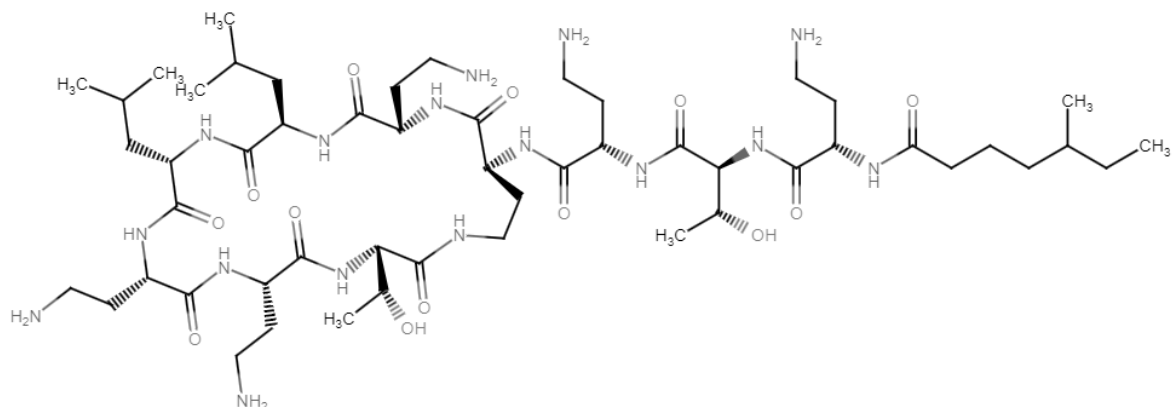
Os efeitos indesejáveis mais comuns incluem disgeusia, hipernatremia, hipocaliemia, erupção eritematosa e flebite no local da injeção. É contraindicada quando há sensibilidade à fosfomicina (248).

A sua administração com anticoagulantes pode provocar um aumento do efeito terapêutico destes (248).

### 3.2.7. Polimixinas

As polimixinas são antibióticos lipopeptídicos que diminuem o crescimento de bactérias Gram-negativas ao atuarem na camada de LPS. As polimixinas usadas clinicamente são a polimixina B e polimixina E (colistina; **Figura 3.16**). Ambas têm uma estrutura semelhante, sendo a única diferença um aminoácido. São compostas por um péptido macrocíclico com sete resíduos, ligado a um tripéptido com uma cauda lipídica (249).

As polimixinas interagem de forma eletrostática com os grupos fosfato do lípido A do LPS, levando a um deslocamento dos íons de cálcio e magnésio. Estes têm a função de formar pontes entre os lípidos A e estabilizar a membrana externa. Assim há uma ruptura da membrana e lise da célula (249, 250).



**Figura 3.16.** Estrutura química da colistina. Adaptado de (251).

O colistimetato de sódio é o pró-fármaco da colistina que é indicado no tratamento de infecções graves devido a patógenos Gram-negativos aeróbios em doentes com opções de tratamento limitadas. A posologia indicada é de 9 milhões de unidades internacionais (MUI) por dia dividida em 2-3 doses por via IV, podendo em situações mais graves ser administrado uma dose de carga de 9 MUI (252).

Efeitos indesejáveis mais frequentes que podem ocorrer são efeitos neurológicos, em doentes com fibrose quística, e nefrotoxicidade, em doentes sem fibrose quística. Está contraindicado quando há hipersensibilidade ao colistimetato de sódio e à polimixina B (252).

Ao nível de interações farmacológicas, a utilização de colistimetato de sódio com fármacos potencialmente nefrotóxicos ou neurotóxicos deve ser realizada com precaução. A sua administração com fármacos inibidores ou indutores de enzimas que a metabolizam ou com fármacos que sejam substratos para os mecanismos de transporte renal pode levar a interações farmacológicas. A colistina diminui a libertação pré-sináptica de acetilcolina na junção neuromuscular e por isso o uso concomitante com relaxantes musculares não-despolarizantes deve ser feito com precaução (252).

### 3.3. Fármacos em ensaios clínicos

A descoberta de novas classes de antibióticos tem diminuído ao longo das últimas três décadas, já que o seu desenvolvimento é extenso e caro. Têm sido desenvolvidos fármacos *me-too*, em que são realizadas pequenas alterações em fármacos já existentes, sendo que muitos têm mecanismos de ação idênticos (253).

Dado o aumento das resistências, é urgente a procura de novos antibacterianos para garantir tratamentos eficazes contra bactérias resistentes aos antibióticos tradicionais. As bactérias pertencentes ao grupo ESKAPE necessitam de uma especial atenção já que desenvolveram resistência a vários antibióticos e podem ser letais (254).

São apresentados a seguir, fármacos que se encontram em ensaios clínicos de fase I, II e III para tratamento de infeções causadas por *Enterobacter spp.*.

### 3.3.1. Fase I

O ceftibuteno-ledaborbactam etzadroxil é uma combinação de fármacos em fase I, indicada no tratamento oral de ITU complicadas, causadas por *Enterobacterales* MDR produtores de serino- $\beta$ -lactamases (ESBL, KPC e OXA-48) (255, 256).

O ceftibuteno é uma cefalosporina de terceira geração enquanto o ledaborbactam etzadroxil é inibidor de  $\beta$ -lactamases e um pró-fármaco, o qual é metabolizado a ledaborbactam, ativo farmacologicamente. Este liga-se de forma covalente e reversível ao sítio ativo das enzimas. O facto de ser indicado por via oral, permite o tratamento em ambulatório, facilita a redução da terapêutica, diminui a sua duração e evita a hospitalização (255).

Foi demonstrado que *in vitro*, o ledaborbactam aumentou a atividade do ceftibuteno, ou seja, foi necessária uma menor concentração mínima inibitória para a maioria das *Enterobacterales* MDR. Também revelou ter atividade *in vitro* contra bactérias que não eram suscetíveis a antibióticos administrados por via oral frequentemente prescritos (p. ex., cotrimoxazol e nitrofurantoína) ou antibióticos administrados por via parentérica (p. ex., ceftazidima e cefepima) (255).

A primeira fase deste estudo consistiu em avaliar a segurança e farmacocinética do fármaco (255, 256).

O nacubactam é outro fármaco em fase I que é indicado para tratamento de infeções causadas por *Enterobacteriaceae* resistentes aos carbapenemos. Tem como mecanismo de ação inibir as serino- $\beta$ -lactamases (classes A, C e algumas de classe D) e PBP-2 da parede celular de forma a potenciar o efeito dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. Está a ser desenvolvido em combinação com o meropenem (257, 258).

Este estudo teve como objetivo avaliar a segurança, tolerabilidade e farmacocinética do nacubactam em monoterapia ou em combinação com o meropenem assim como possíveis interações entre ambos. O nacubactam sozinho ou em combinação com o meropenem demonstrou ser bem tolerado, tendo boas características farmacocinéticas e segurança. Não

ocorreram interações farmacológicas entre os fármacos e por isso é uma boa combinação para ser usada no futuro (257, 258).

### **3.3.2. Fase II**

O benapenem é um antibiótico  $\beta$ -lactâmico (carbapenemo) administrado por via parentérica. Tem como indicação o tratamento de infecções severas, como infecções intra-abdominais, infecções dos tecidos moles, infecções complicadas do trato urinário e PAC. Foi demonstrado ter atividade contra bactérias anaeróbicas, Gram-negativas produtoras de ESBL, estando incluído o *E. cloacae*. O seu mecanismo de ação baseia-se na ligação a PBP, interferindo com a formação das ligações cruzadas das cadeias de peptidoglicano da parede celular, inibindo a sua formação (259).

Em relação ao restantes carbapenemos, apresenta na sua estrutura um grupo meti-benzilsulfonamida, que permite aumentar o peso molecular e a sua lipofilicidade. Demonstrou ter um tempo de semivida elevado e assim ser administrado uma vez por dia (260).

É um antibiótico tempo-dependente, e por isso diminuir o intervalo e/ou prolongar o tempo de infusão em vez de aumentar a dose é preferível para obter o efeito desejado com o tratamento (259).

O objetivo deste estudo de fase II foi avaliar a eficácia e segurança do benapenem IV em pacientes com infecções do trato urinário complicadas ou com pielonefrite aguda (261).

### **3.3.3. Fase III**

A combinação de cefepima + taniborbactam encontra-se em fase III, com a indicação para tratamento de infecções graves causadas por bactérias Gram-negativas, incluindo ITU. Atua em *Enterobacteriales* resistentes aos carbapenemos e *Pseudomonas aeruginosa* MDR e também quando estas são resistentes a antibióticos como ceftolozano + tazobactam e ceftazidima + avibactam (262, 263).

A cefepima é uma cefalosporina de quarta geração, indicada para estas infecções. No entanto, tem-se vindo a verificar que há um aumento da resistência a este antibiótico por parte de ESBL e carbapenemasas. O taniborbactam é um inibidor potente e seletivo de  $\beta$ -lactamases que atua em serino- $\beta$ -lactamases (p. ex., OXA-48 e KPC) e metalo- $\beta$ -lactamases (p. ex., VIM e NDM) (262, 263).

Este estudo teve como objetivo avaliar a segurança e eficácia do fármaco, comparando-o com o meropenem em pacientes hospitalizados com ITU complicadas, incluindo pielonefrite aguda. Demonstrou ter um perfil de segurança semelhante ao meropenem, mas verificou-se ser superior ao meropenem no tratamento destas infecções. A associação cefepima + taniborbactam poderá então ser considerada uma opção de tratamento de ITU complicadas, incluindo pielonefrite aguda (263, 264).

O hidrobrometo pivoxil tebipenem é um carbapenemo administrado por via oral. É um pro-fármaco que é convertido em tebipenem pelos enterócitos. Tem ação contra patógenos Gram-negativos MDR, incluindo aqueles que são resistentes a fluoroquinolonas e *Enterobacterales* produtores de ESBL.

Este estudo teve como objetivo estudar a eficácia e a segurança do fármaco no tratamento de ITU complicadas ou pielonefrite aguda comparando com ertapenem por via IV. Ambos têm perfis de segurança semelhantes e o hidrobrometo pivoxil tebipenem não teve um efeito inferior ao ertapenem IV. Portanto, poderá ser uma boa opção de tratamento oral quando outros agentes antimicrobianos não estiverem disponíveis (265, 266).

#### **4. Outras abordagens terapêuticas**

Ao longo dos anos, o aumento da resistência bacteriana, especialmente em novas gerações de antibióticos tem levado a um aumento da urgência em desenvolver novos agentes antibacterianos (177, 267). O desenvolvimento de novos antibióticos tem diminuído devido ao elevado tempo e dinheiro necessários, o que leva a maiores dificuldades no tratamento de infecções. É necessário encontrar alternativas para os pacientes em que o uso de antibióticos convencionais não é efetivo (177).

##### **4.1. Bacteriófagos**

Uma das alternativas é o uso de bacteriófagos, que para espécies de *Enterobacter* podem ser usados fagos pertencentes ao género *Karamvirus* e *Agtrevirus*. No primeiro, verificou-se que os fagos conseguem infectar várias estirpes, enquanto no segundo, infectam uma menor quantidade de estirpes. Estes fagos estudados são líticos, de fácil propagação e não apresentam toxicidade. Verificou-se também que a combinação de fagos e antibióticos tem um efeito

sinérgico. Esta combinação permitiu que o antibiótico, mesmo em baixas concentrações inibisse o crescimento bacteriano (268).

Os bacteriófagos são vírus que infetam e reproduzem-se em bactérias, matando-as. O fago, através de longas fibras na cauda que são responsáveis pelo reconhecimento e ligação à célula, associa-se à célula bacteriana (268, 269). Depois de infetarem a célula, usam-na para se replicarem e sintetizarem mais bacteriófagos. Estas novas partículas são libertadas para o exterior após a lise da célula (269).

Estes têm várias vantagens, nomeadamente o facto de serem bem tolerados e se replicarem no seu alvo. Por isso, não é necessário realizar várias administrações já que ficam no corpo humano por vários dias. Ao contrário dos antibióticos, não afetam a flora natural (270, 271). Por outro lado, o facto dos fagos serem específicos para determinadas estirpes, torna-se difícil encontrar um fago para uma determinada infeção bacteriana (269, 271). Também a sua estabilidade pode ser afetada devido a condições de temperatura, pH e luz ultravioleta, sendo necessário ter atenção às condições de armazenamento e de transporte (271, 272). Outro desafio é o surgimento de resistências que podem ocorrer na superfície dos recetores, os quais são os locais de ligação nas células bacterianas (271).

#### **4.2. Óleos essenciais**

Os óleos essenciais (OE) são compostos voláteis, lipofílicos extraídos de diversas partes das plantas, contendo atividade antimicrobiana de origem natural (273, 274). Estudos realizados demonstraram que OE como o óleo de orégão (*Origanum vulgare*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e casca de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) têm uma maior atividade contra infeções causadas por *Enterobacter spp.* (275). O carvacrol e timol são os principais constituintes do orégão e tomilho, respetivamente. Estes têm atividade antibacteriana pelo facto de se integrarem nas membranas celulares, o que resulta no aumento da permeabilidade e disrupção da mesma. Também inibem a ação da ATPase e bombas de efluxo, aumentando a sensibilidade da bactéria a compostos tóxicos (276, 277). O trans-cinamaldeído é o principal constituinte da casca de canela e consegue atravessar a superfície das bactérias e passar através da parede celular, destruindo a estrutura de polissacáridos, que por sua vez provoca a saída de iões, proteínas e ácidos nucleicos. Outros mecanismos descritos incluem a inibição da formação de biofilmes e da produção de ATP (278).

Os OE são suscetíveis a degradação devido a fatores externos como luz, temperatura, oxidação e hidrólise. Também são voláteis e pouco solúveis, o solvente exibe toxicidade e têm um sabor forte. Portanto, de forma a contornar estes desafios, são utilizadas técnicas de encapsulação de forma a aumentar a sua atividade (279, 280). Em relação aos antibióticos, os OE são mais acessíveis e económicos, têm menos efeitos indesejáveis, poluem menos o ambiente e sendo produzidos pelas plantas existem em quantidade elevada e ilimitada (281-283).

### **4.3. Péptidos antimicrobianos**

Os péptidos antimicrobianos são moléculas compostas por cerca de 12-50 aminoácidos, sintetizados como metabolitos secundários. Nos mamíferos estão integrados na imunidade inata e são produzidos por células epiteliais e fagócitos. São quimicamente modificados para obterem atividade terapêutica contra microrganismos (284, 285). A maioria tem carga positiva, são solúveis em água e aqueles que apresentem elevada hidrofobicidade permanecem na bicamada lipídica durante mais tempo (286). Têm ação contra bactérias do grupo ESKAPE, o qual inclui também *Enterobacter spp.*. A sua atividade baseia-se na disrupção da membrana através da atração eletrostática, entrando no citoplasma (p. ex., PepW) e também penetram a membrana celular, acumulando-se de forma a interferir com a síntese proteica (p. ex., Bal 1) (249, 286, 287).

Os péptidos antimicrobianos possuem várias vantagens, como um amplo espectro de atividade bactericida, início de ação rápido e menor resistência bacteriana devido à sua ação física (286, 288). Todavia, também existem desafios associados ao seu uso, como a toxicidade para os humanos devido ao facto das suas células e da própria microflora do corpo serem alvos destas moléculas (286, 289). A sua estabilidade é afetada devido a fatores como pH e presença de proteases (286, 288). Dado o seu tamanho, a produção tem elevados custos e torna-se difícil encontrar vias de administração efetivas (286).

### **4.4. Terapia fotodinâmica antimicrobiana**

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (PTD; em inglês *photodynamic therapy*) é uma técnica utilizada para controlar infeções microbianas, podendo ser aplicada em *Enterobacter spp.* (290). A PTD consiste na administração de um fotosensibilizador que absorve energia luminosa e na presença de oxigénio, reage com este e produz espécies reativas de oxigénio.

Estas reagem com componentes biológicos como lípidos, proteínas e ADN, provocando a morte das células bacterianas pretendidas (290, 291). As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa de LPS que atua como uma barreira a estas espécies reativas de oxigênio. Mas quando esta barreira é danificada, a PTD consegue causar danos na camada de peptidoglicano e comprometer as funções celulares (290, 292). Também atuam nos biofilmes, desde que com a correta seleção da molécula fotosensibilizadora, concentração e administração (290).

Esta técnica apresenta várias vantagens, tais como não ser um procedimento tao invasivo, ser seletivo para as células bacterianas uma vez que têm uma estrutura e fisiologia diferentes das células humanas (290). No entanto, também existem limitações neste método, nomeadamente a penetração da luz nos tecidos, em que se torna difícil exercer efeito terapêutico nas infeções mais profundas e o facto dos pacientes não poderem apanhar sol durante um certo período após o tratamento já que a área fica sensível (293, 294).

## **5. O papel do farmacêutico**

A resistência antimicrobiana resulta de vários fatores como o uso inapropriado e excessivo de antibióticos tanto em hospitais como na comunidade, em que não são indicados, as *guidelines* não são seguidas ou não são clinicamente necessários para serem usados tanto em humanos como em animais (295). Desta forma, os profissionais de saúde podem reduzir a taxa de resistência aos antibióticos ao se basearem em evidência científica e no uso racional dos antibióticos. Devem comunicar a ocorrência de infeções resistentes aos antibióticos a equipas de vigilância e educar a comunidade dos problemas das resistências e os perigos do uso incorreto de antibióticos (295). Os farmacêuticos desempenham um papel importante na dispensa e no conhecimento sólido que têm sobre os medicamentos disponíveis (296).

### **5.1. Farmacêutico hospitalar**

Devido a uma elevada prevalência de patógenos multirresistentes e a necessidade de controlar o uso adequado de antimicrobianos, foram desenvolvidos programas de gestão de antimicrobianos onde é importante incluir farmacêuticos (297, 298). O papel do farmacêutico nestes programas inclui dar orientações nas decisões, como na mudança da formulação intravenosa para oral, realização de descalção, otimização da dose de antimicrobianos, interações farmacológicas e entre fármaco-nutriente (297). A educação e formação dos prescritores foi a principal intervenção utilizada pelos farmacêuticos para otimizar a prescrição

de antibióticos em doentes internados em hospitais (298, 299). Ao fornecer informação sobre os potenciais riscos e benefícios destes fármacos, os farmacêuticos podem prevenir o aumento da resistência aos antimicrobianos, garantindo uma otimização da seleção e da terapêutica dos antibióticos, de forma a melhorar o estado clínico dos pacientes (296, 300). As intervenções do farmacêutico permitiram diminuir o uso desnecessário de antibióticos sem aumentar a mortalidade bem como a duração da terapêutica e assim reduzir o tempo de internamento hospitalar (298, 300-302). Desta forma, o farmacêutico está presente em todo o processo, nomeadamente na avaliação do paciente, seleção do fármaco prescrito, validação da prescrição, dispensa e monitorização do paciente (303, 304).

Todas estas intervenções farmacêuticas permitem reduzir o uso de antibióticos, a duração da terapêutica, bem como os custos associados, verificando-se altas taxas de aceitação por parte dos médicos (300, 305).

Em Portugal, o farmacêutico integra várias comissões hospitalares, particularmente o Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistências a Antimicrobianos (PPCIRA), o qual é composto de forma obrigatória, por pelo menos um médico, um enfermeiro, um farmacêutico e elementos dos cuidados de saúde primários, hospitalares e continuados integrados. Este tem como objetivo reduzir a incidência de infeção associada a cuidados de saúde, promover o uso correto e responsável de antimicrobianos e diminuir a taxa de microrganismos resistentes aos antimicrobianos. O PPCIRA gere ainda o Programa de Apoio à Prescrição Médica (PAPA) que tem como objetivo otimizar a terapêutica antimicrobiana, evitando prescrições desnecessárias, tempos de antibioterapia inadequados e grandes impactos ecológicos (306).

## **5.2. Farmacêutico comunitário**

O farmacêutico comunitário também assume um papel crucial no uso correto de antibióticos, uma vez que constitui o elo de ligação entre o prescritor e o utente. A maior intervenção do farmacêutico comunitário foi a nível da educação da comunidade para o uso seguro e com a qualidade dos antibióticos, diminuindo a automedicação (307).

Para além disso, o farmacêutico só dispensa antibióticos mediante uma prescrição médica e deve assegurar que o paciente entendeu o regime posológico de forma a aumentar a adesão e o sucesso do tratamento (308, 309).

### **5.3. Farmacêutico em assuntos regulamentares**

O farmacêutico desta área tem como função assegurar o acesso a medicamentos e produtos de saúde (p. ex., dispositivos médicos e produtos cosméticos e de higiene corporal) com qualidade, segurança e eficácia, de forma a proteger e promover a saúde pública (310). Acompanham todo o processo de autorização, comercialização e monitorização dos medicamentos e produtos de saúde, garantindo que são cumpridos todos os requisitos. Para poderem ser comercializados, os medicamentos necessitam de uma Autorização de Introdução no Mercado (AIM) e de uma avaliação, segundo a legislação nacional, que define os preços consoante o tipo de produto. Após a comercialização, os medicamentos ainda continuam a ser monitorizados para obter informações sobre riscos desconhecidos associados aos mesmos. Todo este procedimento envolve um farmacêutico (303).

A nível europeu, é a EMA que realiza a avaliação científica, a supervisão e o controlo da segurança dos medicamentos na União Europeia. A Comissão Europeia aprova a comercialização desses medicamentos (311).

O INFARMED é a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P., em Portugal que regula e supervisiona os medicamentos de uso humano e produtos de saúde, proporciona acesso a informações sobre o uso racional dos medicamentos pelos profissionais de saúde e consumidores, monitoriza o seu uso e consumo, garante a qualidade, segurança, eficácia e custo-efetividade dos mesmos, entre outras funções (312).

Desta forma, o farmacêutico que trabalha na área dos assuntos regulamentares também exerce um papel relevante em relação aos antibióticos uma vez que é uma área que necessita de especial atenção, requerendo conhecimentos científicos e das normas estabelecidas, de forma a garantir que os benefícios sejam superiores aos riscos, protegendo sempre a saúde pública.

#### **5.4. Farmacêutico na indústria**

A indústria farmacêutica tem uma função importante no combate da resistência aos antibióticos ao promover o uso adequado para aumentar a sua efetividade e através da investigação e desenvolvimento de novos fármacos (313). O seu contributo assegura a disponibilidade e o acesso a antibióticos que são indispensáveis no tratamento de infeções bacterianas potencialmente fatais (314).

O número de novos antibióticos tem vindo a diminuir nos últimos trinta anos. Desafios científicos para a descoberta de novos fármacos e alvos terapêuticos, o risco de se tornarem rapidamente ineficientes após a entrada no mercado e a concorrência de outros antibióticos aprovados são fatores que contribuem para esta diminuição (315, 316). Para além disto, fatores económicos também contribuíram para este problema. O custo de desenvolver um antibiótico é mais elevado do que outros fármacos usados para doenças crónicas, já que são usados durante um curto período (317). Por isso, muitas indústrias farmacêuticas estão a investir noutras áreas já que têm um maior retorno económico (318). Verificou-se que o valor é de cerca de 1,5 bilhões de dólares, enquanto que o rendimento médio anual após ser aprovado é de 46 milhões de dólares por ano (317, 319).

Para contornar este problema, os governos e entidades de saúde pública podem atribuir recompensas ou incentivos financeiros a estas empresas, nomeadamente subvenções ou créditos fiscais (314). Outra medida a implementar para novos antibióticos, poderia ser o aumento dos períodos de aparecimento de genéricos para que conseguissem gerar maiores rendimentos (320).



## 6. Conclusão

A descoberta dos antibióticos revolucionou a área da Saúde, pois impediu que muitas infecções bacterianas simples se tornassem fatais, sendo um marco importante na saúde pública. Mas, o uso inadequado e excessivo de antibióticos levou ao surgimento de resistências pelas bactérias.

O género *Enterobacter* é composto por um conjunto de bactérias Gram-negativas que causam principalmente infecções nosocomiais, tais como ITU, infecções do trato respiratório, bacteriemia, endocardite, osteomielite, meningite e infecções da pele e tecidos moles. A resistência a múltiplos antibióticos por estas bactérias, nomeadamente através da produção de ESBL e de carbapenemases, é um dos maiores desafios ao nível da farmacoterapia.

O tratamento de infecções causadas por estas bactérias, segundo o tipo de resistência, inclui vários antibióticos em que cada um é indicado, dependendo do tipo de infecção. Vários antibióticos estão indicados, especialmente ceftolozano + tazobactam, ceftazidima + avibactam, meropenem + vaborbactam, imipenem + cilastatina + relebactam, eravaciclina, cefiderocol, polimixinas, fosfomicina por via IV, tigeciclina, aminoglicosídeos e aztreonam.

O surgimento de resistências e o fator económico e tempo têm diminuído o desenvolvimento de novos antibióticos e muitos deles são modificações de antibióticos já existentes. Deste modo, têm sido estudadas outras alternativas que não antibióticos, como bacteriófagos, OE, péptidos antimicrobianos e PTD.

O farmacêutico, enquanto especialista máximo do medicamento, desempenha um papel fundamental seja no hospital, farmácia comunitária, assuntos regulamentares, indústria farmacêutica, análises clínicas e genética humana (p. ex., realização e interpretação do antibiograma), ensino e investigação. Este papel envolve essencialmente a otimização da prescrição, educação da população e dos profissionais de saúde, controlo da sua comercialização e desenvolvimento de novos antibióticos.



## Referências bibliográficas

1. Adedeji WA. The Treasure called antibiotics. *Ann Ib Postgrad Med.* 2016;14(2):56-7.
2. Mohr KI. History of Antibiotics Research. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2016;398:237-72.
3. Giacobbe DR, Riccardi N, Antonio Vena, Bassetti M. Mould Infections of Traumatic Wounds: A Brief Narrative Review. *Infect Dis Ther.* 2020;9(1):1-15.
4. Fleming A. Penicillin. Amsterdam: Nobel Lecture; 1945.
5. Kardos N, Demain AL. Penicillin: The medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;92(4):677-87.
6. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol.* 2010;1:134.
7. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Authia Gray CH, *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *Lancet* 2022;399(10325):629-55.
8. Samreen, Ahmad I, Malak HA, Abulreesh HH. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: A potential threat to public health. *J Glob Antimicrob Resist.* 2021;27:101-11.
9. Antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2023. [07/03/2024]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
10. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. United Kingdom: Government of the United Kingdom; 2016.
11. Hernando-Amado S, Coque TM, Baquero F, Martínez JL. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nat Microbiol.* 2019;4(9):1432-42.
12. Aslam B, Khurshid M, Arshad MI, Muzammil S, Rasool M, Yasmeen N, *et al.* Antibiotic Resistance: One Health One World Outlook. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:771510.
13. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: No ESKAPE. *J Infect Dis.* 2008;197(8):1079-81.

14. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, *et al.* Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016;37(11):1288-301.
15. Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int.* 2016;2016:2475067.
16. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front Microbiol.* 2019;10:539.
17. Oliveira DMPD, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, *et al.* Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2020;33(3):e00181-19.
18. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2024.
19. Davin-Regli A, Lavigne J-P, Pagès J-M. *Enterobacter* spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2019;32(4):e00002-19.
20. Idris FN, Nadzir MM. Multi-drug resistant ESKAPE pathogens and the uses of plants as their antimicrobial agents. *Arch Microbiol.* 2023;205(4):115.
21. Cooney S, O'Brien S, Iversen C, Fanning S. Bacteria: Other Pathogenic *Enterobacteriaceae* – *Enterobacter* and Other Genera: Yasmine Motarjemi; 2014.
22. Brady C, Cleenwerck I, Venter S, Coutinho T, Vos PD. Taxonomic evaluation of the genus *Enterobacter* based on multilocus sequence analysis (MLSA): Proposal to reclassify *E. nimipressuralis* and *E. amnigenus* into *Lelliottia* gen. nov. as *Lelliottia nimipressuralis* comb. nov. and *Lelliottia amnigena* comb. nov., respectively, *E. gergoviae* and *E. pyrinus* into *Pluralibacter* gen. nov. as *Pluralibacter gergoviae* comb. nov. and *Pluralibacter pyrinus* comb. nov., respectively, *E. cowanii*, *E. radicincitans*, *E. oryzae* and *E. arachidis* into *Kosakonia* gen. nov. as *Kosakonia cowanii* comb. nov., *Kosakonia radicincitans* comb. nov., *Kosakonia oryzae* comb. nov. and *Kosakonia arachidis* comb. nov., respectively, and *E. turicensis*, *E. helveticus* and *E. pulveris* into *Cronobacter* as *Cronobacter zurichensis* nom. nov., *Cronobacter helveticus* comb. nov.

- and *Cronobacter pulveris* comb. nov., respectively, and emended description of the genera *Enterobacter* and *Cronobacter*. Syst Appl Microbiol. 2013;36(5):309-19.
23. Wu W, Feng Y, Zong Z. Precise Species Identification for Enterobacter: A Genome Sequence-Based Study with Reporting of Two Novel Species, *Enterobacter quasiroggenkampii* sp. nov. and *Enterobacter quasimori* sp. nov. mSystems. 2020 5(4):e00527-20.
  24. Hoffmann H, Roggenkamp A. Population Genetics of the Nomenspecies *Enterobacter cloacae*. Appl Environ Microbiol. 2003 69(9):5306–18.
  25. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. *Enterobacter cloacae* complex: Clinical impact and emerging antibiotic resistance. Future Microbiol. 2012;7(7):887-902.
  26. Elbehiry A, Shoaibi MA, Alzahrani H, Ibrahem M, Moussa I, Alzaben F, et al. *Enterobacter cloacae* from urinary tract infections: Frequency, protein analysis, and antimicrobial resistance. AMB Express. 2024;8(14):17.
  27. Garrity GM. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Springer 2005.
  28. Hart CA. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2<sup>nd</sup> ed. England: John Wiley & Sons Ltd; 2018.
  29. Ramirez D, Giron M. *Enterobacter* Infections. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
  30. Pati NB, Doijad SP, Schultze T, Mannala GK, Yao Y, Jaiswal S, et al. *Enterobacter bugandensis*: A novel enterobacterial species associated with severe clinical infection. Scientific Reports. 2018;8(1).
  31. Parte AC, Sardà JC, Meier-Kolthoff JP, Reimer LC, Göker M. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Germany: DSMZ; 2020. [10/04/2024]. Disponível em: <https://www.bacterio.net/>.
  32. Hormaeche E, Edwards PR. A Proposed Genus *Enterobacter*. Int Bull Bacteriol Nomencl Taxon. 1960;10(2):71-4.
  33. Furuyama N, Sircili MP. Outer Membrane Vesicles (OMVs) Produced by Gram-Negative Bacteria: Structure, Functions, Biogenesis, and Vaccine Application. Biomed Res Int. 2021;2021.
  34. Zgurskaya HI, López CA, Gnanakaran S. Permeability Barrier of Gram-Negative Cell Envelopes and Approaches To Bypass It. ACS Infect Dis. 2015;1(11):512-22.
  35. Lundstedt E, Kahne D, Ruiz N. Assembly and maintenance of lipids at the bacterial outer membrane. Chem Rev 2021;121(9):5098–123.

36. Lorenzo FD, Duda KA, Lanzetta R, Silipo A, Castro CD, Molinaro A. A Journey from Structure to Function of Bacterial Lipopolysaccharides. *Chem Rev.* 2022;122(20):15767-1582.
37. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010;2(5).
38. Schwechheimer C, Kuehn MJ. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: Biogenesis and functions. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13:605–19.
39. Vollmer W, Bertsche U. Murein (peptidoglycan) structure, architecture and biosynthesis in *Escherichia coli*. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1778(9):1714-34.
40. Bertonha AF, Silva CCL, Shirakawa KT, Trindade DM, Dessen A. Penicillin-binding protein (PBP) inhibitor development: A 10-year chemical perspective. *Exp Biol Med (Maywood).* 2023;248(19):1657–70.
41. Zgurskaya HI, Rybenkov VV. Permeability barriers of Gram-negative pathogens. *Ann N Y Acad Sci.* 2020;1459(1):5-18.
42. Bruns MA. *Principles and Applications of Soil Microbiology.* 3<sup>rd</sup> ed. United States: Candice Janco; 2021.
43. Christopher Giuliano, Patel CR, Kale-Pradhan PB. *A Guide to Bacterial Culture Identification And Results Interpretation.* P T. 2019;44(4):192-200.
44. Brown S, Jr JPSM, Walker S. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2013;67:13-6.
45. Jung B, Hoilat GJ. *MacConkey Medium: Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;* 2022.
46. *MacConkey Agar.* Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2005. [05/04/2024]. Disponível em: <https://asm.org/protocols/macconkey-agar-plates-protocols>.
47. Davis R, Pezzlo M. *Methyl Red–Voges-Proskauer (MR-VP) Tests.* Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2023. [05/04/2024]. Disponível em: <https://www.clinmicronow.org/doi/full/10.1128/9781683670438.CMPH.ch3.17-32>.
48. Kohlerschmidt DJ, Musser KA, Dumas NB. *Practical handbook of microbiology.* 2<sup>nd</sup> ed: CRC Press Taylor & Francis Group; 2008.
49. Davis R, Pezzlo M. *Motility Tests.* Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2023. [05/04/2024]. Disponível em: <https://www.clinmicronow.org/doi/abs/10.1128/9781683670438.CMPH.ch3.17-30>.

50. Davis R, Pezzlo M. Citrate Utilization Test (Simmons). Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2023. [05/04/2024]. Disponível em: <https://www.clinmicronow.org/doi/abs/10.1128/9781683670438.CMPH.ch3.17-12>.
51. Davis R, Pezzlo M. Nitrate/Nitrite Reduction Test. Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2023. [05/04/2024]. Disponível em: <https://www.clinmicronow.org/doi/abs/10.1128/9781683670438.CMPH.ch3.17-34>.
52. Pezzlo RDM. Hydrogen Sulfide Production. Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2023. [07/04/2024]. Disponível em: <https://www.clinmicronow.org/doi/abs/10.1128/9781683670438.CMPH.ch3.17-21>.
53. Lee PA. Urease Test. Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2023. [07/04/2024]. Disponível em: <https://www.clinmicronow.org/doi/full/10.1128/9781683670438.CMPH.ch18.15-6>.
54. Davis R, Pezzlo M. Oxidase Test. Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2023. [07/04/2024]. Disponível em: <https://www.clinmicronow.org/doi/full/10.1128/9781683670438.CMPH.ch3.17-38>.
55. Decarboxylase Broth. Washington, DC, United States of America: American Society for Microbiology; 2015. [07/04/2024]. Disponível em: <https://asm.org/protocols/decarboxylase-broth-protocol>.
56. Brenner DJ, McWhorter AC, Kai A, Steigerwalt AG, 3<sup>rd</sup> JFF. *Enterobacter asburiae* sp. nov., a new species found in clinical specimens, and reassignment of *Erwinia dissolvens* and *Erwinia nimipressuralis* to the genus *Enterobacter* as *Enterobacter dissolvens* comb. nov. and *Enterobacter nimipressuralis* comb. nov. J Clin Microbiol. 1986;23(6):1114-20.
57. Karah N, Rafei R, Elamin W, Ghazy A, Abbara A, Hamze M, *et al.* Guideline for Urine Culture and Biochemical Identification of Bacterial Urinary Pathogens in Low-Resource Settings. Diagnostics (Basel). 2020;10(10):832.
58. Mohammed IS, Hussain SS, Essa. RH. Molecular study of *Enterobacter cloacae* isolated from leukemia patients. Biomedicine 2022;42(3):530-3.
59. Shi H, Wang K, Wang L, Sun S, Li B, Yao L. Case report of *Enterobacter hormaechei* in sheep with respiratory disease and death. BMC Vet Res. 2022 18(1):57.
60. Leitão JH. Microbial Virulence Factors. Int J Mol Sci. 2020;21(15):5320.
61. Venkateswaran P, Vasudevan S, David H, Shaktivel A, Shanmugam K, Neelakantan P, *et al.* Revisiting ESKAPE Pathogens: Virulence, resistance, and combating strategies focusing on quorum sensing. Front Cell Infect Microbiol. 2023;13(1159798).

62. Mahmoud AB, Salem EH, sawy SE. Detection of Siderophore Virulence Gene and Antibiotic Susceptibility in *Enterobacter spp.* Isolated from Hospital and Community Acquired Infected Patients, Egypt. *Egyptian Journal of Medical Microbiology.* 2019;28(4).
63. Campos JCdM, Antunes LC, Ferreira RB. Global priority pathogens: Virulence, antimicrobial resistance and prospective treatment options. *Future Microbiol.* 2020;15:649-77.
64. Coulthurst S. The Type VI secretion system: A versatile bacterial weapon. *Microbiology (Reading).* 2019;165(5):503-15.
65. Soria-Bustos J, Ares MA, Gómez-Aldapa CA, González-Y-Merchand JA, Girón JA, Cruz MADL. Two Type VI Secretion Systems of *Enterobacter cloacae* Are Required for Bacterial Competition, Cell Adherence, and Intestinal Colonization. *Front Microbiol.* 2020;11(560488).
66. Simi S, Carbonell GV, Falcón RM, Gatti MSV, Joazeiro PP, Darini AL, *et al.* A low molecular weight enterotoxic hemolysin from clinical *Enterobacter cloacae*. *Can J Microbiol.* 2003;49(7):479-82.
67. Lee S-MKH-W, Choi Y-W, Kim S-H, Lee J-C, Lee Y-C, Seol S-Y, *et al.* Involvement of curli fimbriae in the biofilm formation of *Enterobacter cloacae*. *J Microbiol.* 2012;50(1):175-8.
68. Probert WS, McQuaid C, Schrader K. Isolation and identification of an *Enterobacter cloacae* strain producing a novel subtype of Shiga toxin type 1. *J Clin Microbiol.* 2014;52(8).
69. Sargun A, Gerner RR, Raffatellu M, Nolan EM. Harnessing Iron Acquisition Machinery to Target *Enterobacteriaceae*. *J Infect Dis.* 2021;223:S307-S13
70. Timofeeva AM, Galyamova MR, Sedykh SE. Bacterial Siderophores: Classification, Biosynthesis, Perspectives of Use in Agriculture. *Plants (Basel)* 2022;11(22):3065.
71. Li K, Chen W-H, Bruner SD. Microbial siderophore-based iron assimilation and therapeutic applications. *Biometals* 2016;29:377–88.
72. Sato T, Yamawaki K. Cefiderocol: Discovery, Chemistry, and *In Vivo* Profiles of a Novel Siderophore Cephalosporin. *Clin Infect Dis* 2019;69(Suppl 7):S538–S43.
73. Ahmed E, Holmström SJM. Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microb Biotechnol.* 2014;7(3):196-208.

74. Aguado-Santacruz GA, Moreno-Gómez B, Jiménez-Francisco B, García-Moya E, Preciado-Ortiz RE. Impact of the microbial siderophores and phytosiderophores on the iron assimilation by plants: A synthesis. *Rev fitotec mex.* 2012;5(1).
75. Chhibber S, Nag D, Bansal S. Inhibiting biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae* B5055 using an iron antagonizing molecule and a bacteriophage. *BMC Microbiol.* 2013;13:174.
76. Nimbalkar RUR, Barge NS, Marathe RJ, Phatake YB, Deshmukh RB, Dange SS, *et al.* Application of Response Surface Methodology for Optimization of Siderophore Production. *Indian Journal of Agricultural Research.* 2021.
77. Mokracka J, Koczura R, Kaznowski A. Yersiniabactin and other siderophores produced by clinical isolates of *Enterobacter spp.* and *Citrobacter spp.* *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2004;40(1):51-5.
78. Carpenter C, Payne SM. Regulation of iron transport systems in *Enterobacteriaceae* in response to oxygen and iron availability. *J Inorg Biochem.* 2014;133:110-7.
79. Maillard J-Y, Centeghe I. How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2023;12:95.
80. Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics (Basel)* 2020;9(2):59.
81. Verderosa AD, Totsika M, Fairfull-Smith KE. Bacterial Biofilm Eradication Agents: A Current Review. *Front Chem.* 2019;7:824.
82. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:187–209.
83. Lazar V, Holban AM, Curutiu C, Chifiriuc MC. Modulation of Quorum Sensing and Biofilms in Less Investigated Gram-Negative ESKAPE Pathogens. *Front Microbiol* 2021;12:676510.
84. Santajit S, Sookrung N, Indrawattana N. Quorum Sensing in ESKAPE Bugs: A Target for Combating Antimicrobial Resistance and Bacterial Virulence. *Biology (Basel).* 2022;11(10):1466.
85. Morrison L, Teresa R. Zembower. Antimicrobial Resistance. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 2020;30(4).
86. Nwobodo DC, Ugwu MC, Anie CO, Al-Ouqaili MTS, Ikem JC, Chigozie UV, *et al.* Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for tackling a global menace. *J Clin Lab Anal.* 2022;36(9):e24655.

87. Plano nacional de combate à resistência aos antimicrobianos 2019-2023. Lisboa, Portugal: Direção-Geral da Saúde; 2019. [08/05/2024]. Disponível em: <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/plano-nacional-de-combate-a-resistencia-aos-antimicrobianos-2019-2023-pdf.aspx>.
88. Pearson MAJ, Galas M, Corso A, Hormazábal JC, Valderrama CD, Marcano NS, *et al.* Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. *Rev Panam Salud Publica.* 2019;43:e65.
89. Chavarría-Bencomo IV, Nevárez-Moorillón GV, Espino-Solís GP, Adame-Gallegos JR. Antibiotic resistance in tick-borne bacteria: A One Health approach perspective. *J Infect Public Health.* 2023;16:153-62.
90. Salam MA, Al-Amin MY, Salam MT, Pawar JS, Akhter N, Rabaan AA, *et al.* Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare (Basel).* 2023;11(13):1946.
91. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(1):42-51.
92. Sumbana J, Santona A, Fiamma M, Taviani E, Deligios M, Chongo V, *et al.* Polyclonal emergence of MDR *Enterobacter cloacae* complex isolates producing multiple extended spectrum beta-lactamases at Maputo Central Hospital, Mozambique. *Rend Fis Acc Lincei.* 2022;33:39–45.
93. Ayipo YO, Chong CF, Mordia MN. Small-molecule inhibitors of bacterial-producing metallo- $\beta$ -lactamases: Insights into their resistance mechanisms and biochemical analyses of their activities. *RSC Med Chem.* 2023;14(6):1012-48.
94. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1980;289(1036):321-31.
95. Massova I, Mobashery S. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(1):1-17.
96. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969–76.
97. Meini S, Tascini C, Cei M, Sozio E, Rossolini GM. AmpC  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriales*: What a clinician should know. *Infection.* 2019;47(3):363-75.
98. Lai CKC, Ng RWY, Leung SSY, Hui M, Ip M. Overcoming the rising incidence and evolving mechanisms of antibiotic resistance by novel drug delivery approaches - An overview. *Adv Drug Deliv Rev.* 2022;181:114078.

99. Annavajhala MK, Gomez-Simmonds A, Uhlemann A-C. Multidrug-Resistant *Enterobacter cloacae* Complex Emerging as a Global, Diversifying Threat. *Front Microbiol.* 2019;10:44.
100. Stock I, T Gröger BW. Natural antibiotic susceptibility of strains of the *Enterobacter cloacae* complex. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;18(6):537-45.
101. Höltje JV, Kopp U, Wiedemann AU. The negative regulator of beta-lactamase induction AmpD is a N-acetyl-anhydromuramyl-L-alanine amidase. *FEMS Microbiol Lett.* 1994;122(1-2):159-64.
102. Rodríguez-Villodres Á, Lepe-Balsalobre E, Rosa JMODL, Almaraz SG, Herrero EGD, Cercenado E, *et al.* Activity of cefepime, carbapenems and new  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations on *Enterobacter cloacae* complex and *Klebsiella aerogenes* in Spain (SMART 2016–2022). *JAC Antimicrob Resist* 2024;6(3):dlae087.
103. Noster J, Thelen P, Hamprecht A. Detection of Multidrug-Resistant *Enterobacteriales*-From ESBLs to Carbapenemases. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(9):1140.
104. Akpaka PE, Vaillant A, Wilson C, Jayaratne P. Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Produced by Gram-Negative Bacteria in Trinidad and Tobago. *Int J Microbiol.* 2021;2021:5582755.
105. Lubwama M, Kateete DP, Katende G, Kigozi E, Orem J, Phipps W, *et al.* CTX-M, TEM, and SHV Genes in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter spp* Isolated from Hematologic Cancer Patients with Bacteremia in Uganda. *Infect Drug Resist.* 2024;17:641-53.
106. Rodríguez J, Cisnerosa JM, Cobos-Trigueros N, Frescoe G, Navarro C, Gudiol C, *et al.* Diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology.* 2015;33(5):337.
107. Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC Antimicrob Resist.* 2021;16(3):dlab092.
108. Livermore DM. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(4):557-84.
109. Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S. A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection.* 1990;18(5):294-8.

110. Ejaz H, Younas S, Abosalif KOA, Junaid K, Alzahrani B, Alsrhani A, *et al.* Molecular analysis of blaSHV, blaTEM, and blaCTX-M in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriaceae* recovered from fecal specimens of animals. PLoS One. 2021;16(1):e0245126.
111. Yassir SM, Zaid BA. Phenotypic and genotypic detection of *Enterobacter spp* isolated from clinical cases. International Journal of Health Sciences. 2022;6(S3):7643–9.
112. Liu G, Bogaj K, Bortolaia V, Olsen JE, Thomsen LE. Antibiotic-Induced, Increased Conjugative Transfer Is Common to Diverse Naturally Occurring ESBL Plasmids in *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2019;10:2119.
113. Sousa JC. Manual de Antibióticos Antibacterianos. 2.<sup>a</sup> ed. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa; 2006.
114. Cantón R, Ruiz-Garbajosa P. Treatment guidelines for multidrug-resistant Gram-negative microorganisms. Rev Esp Quimioter. 2023;36:46-51.
115. Kopotsa K, Sekyere JO, Mbelle NM. Plasmid evolution in carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: A review. Ann N Y Acad Sci. 2019;1457(1):61-91.
116. Han M, Liu C, Xie H, Zheng J, Zhang Y, Li C, *et al.* Genomic and clinical characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* complex isolates collected in a Chinese tertiary hospital during 2013-2021. Front Microbiol. 2023;14:1127948.
117. Aslan AT, Paterson DL. Epidemiology and clinical significance of carbapenemases in Australia: A narrative review. Intern Med J. 2024;54(4):535-44.
118. Kraftova L, Finiano M, Studentova V, Chudejova K, Jakubu V, Zemlickova H, *et al.* Evidence of an epidemic spread of KPC-producing *Enterobacterales* in Czech hospitals. Sci Rep. 2021;11(1):15732.
119. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: The Versatile  $\beta$ -Lactamases. Clin Microbiol Ver. 2007;3:440–58.
120. Mavroidi A, Froukala E, Tsakris A. Comparative Genomics of an Emerging Multidrug-Resistant blaNDM-Carrying ST182 Lineage in *Enterobacter cloacae* Complex. Antibiotics. 2024;13(6):535.
121. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, *et al.* Characterization of a New Metallo- $\beta$ -Lactamase Gene, blaNDM-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53(12):5046-54.

122. Li X, Mu X, Chen F, Lu X, He J, Zheng Y, *et al.* Characterization of Three Novel IMP Metallo- $\beta$ -Lactamases, IMP-89, IMP-91, and IMP-96, and Diverse blaIMP-Carrying Accessory Genetic Elements from Chinese Clinical Isolates. *Microbiol Spectr.* 2023;11(3):e0498622.
123. Watanabe M, S Iyobe MI, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35(1):147-51.
124. Qiao J, Chen Y, Ge H, Xu H, Guo X, Liu R, *et al.* Coexistence of blaIMP-4, blaNDM-1 and blaOXA-1 in blaKPC-2-producing *Citrobacter freundii* of clinical origin in China. *Front Microbiol.* 2023;14:1074612.
125. Aurilio C, Sansone P, Barbarisi M, Pota V, Giaccari LG, Coppolino F, *et al.* Mechanisms of Action of Carbapenem Resistance. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(3):421.
126. Jiang X, Miao B, Zhao X, Bai X, Yuan M, Chen X, *et al.* Unveiling the Emergence and Genetic Diversity of OXA-48-like Carbapenemase Variants in *Shewanella xiamenensis*. *Microorganisms.* 2023;11(5):1325.
127. Hansen GT. Continuous Evolution: Perspective on the Epidemiology of Carbapenemase Resistance Among *Enterobacterales* and Other Gram-Negative Bacteria. *Infect Dis Ther.* 2021;10:75-92.
128. Docquier J-D, Calderone V, Luca FD, Benvenuti M, Giuliani F, Bellucci L, *et al.* Crystal Structure of the OXA-48  $\beta$ -Lactamase Reveals Mechanistic Diversity among Class D Carbapenemases. *Chem Biol.* 2009;16(5):540-7.
129. Hirvonen VHA, Spencer J, Kamp MWvd. Antimicrobial Resistance Conferred by OXA-48  $\beta$ -Lactamases: Towards a Detailed Mechanistic Understanding. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021;65(6):e00184-21.
130. Rama AC, Freitas AR, Dinis AP, Simões A, Novais Â, Sarmiento A, *et al.* Manual da Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares sobre Antimicrobianos, 1.<sup>a</sup> edição. Coimbra: Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares; 2022.
131. Aslan AT, Kırbaş E, Sancak B, Tanrıverdi ES, Otlu B, Gürsoy NC, *et al.* A retrospective observational cohort study of the clinical epidemiology of bloodstream infections due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in an OXA-48 endemic setting. *Int J Antimicrob Agents.* 2022;59(4):106554.
132. Kananizadeh P, Tada T, Oshiro S, Hishinuma T, Tohya M, Uehara Y, *et al.* Modified Drug-Susceptibility Testing and Screening Culture Agar for Colistin-Susceptible *Enterobacteriaceae* Isolates Harboring a Mobilized Colistin Resistance Gene mcr-9. *J Clin Microbiol.* 2022;60(12):e0139922.

133. Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(2):161-8.
134. Ling Z, Yin W, Shen Z, Wang Y, Shen J, Walsh TR. Epidemiology of mobile colistin resistance genes *mcr-1* to *mcr-9*. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(11):3087-95.
135. Bologna E, Licari LC, Manfredi C, Ditunno F, Cirillo L, Fusco GM, *et al.* Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* in Urinary Tract Infections: From Biological Insights to Emerging Therapeutic Alternatives. *Medicina (Kaunas).* 2024;60(2):214.
136. Liu S, Fang R, Zhang Y, Chen L, Huang N, Yu K, *et al.* Characterization of resistance mechanisms of *Enterobacter cloacae* Complex co-resistant to carbapenem and colistin. *BMC Microbiol.* 2021;21(1):208. 2021;21(1):208.
137. Gaurav A, Bakht P, Saini M, Pandey S, Pathania R. Role of bacterial efflux pumps in antibiotic resistance, virulence, and strategies to discover novel efflux pump inhibitors. *Microbiology (Reading).* 2023;169(5):001333.
138. Davin-Regli A, Pages J-M, Ferrand A. Clinical Status of Efflux Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(9):1117.
139. Seukep AJ, Mbuntcha HG, Kuete V, Chu Y, Fan E, Guo M-Q. What Approaches to Thwart Bacterial Efflux Pumps-Mediated Resistance? *Antibiotics (Basel).* 2022;11(10).
140. Rosa JF, Rizek C, Marchi AP, Guimaraes T, Miranda L, Carrilho C, *et al.* Clonality, outer-membrane proteins profile and efflux pump in KPC- producing *Enterobacter* sp. in Brazil. *BMC Microbiol.* 2017;17(1):69.
141. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC); 2024.
142. Gouareb R, Bornet A, Proios D, Pereira SG, Teodoro D. Detection of Patients at Risk of Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae* Infection Using Graph Neural Networks: A Retrospective Study. *Health Data Sci.* 2023;20:0099.
143. Elbehiry A, Shoaibi MA, Alzahrani H, Ibrahim M, Moussa I, Alzaben F, *et al.* *Enterobacter cloacae* from urinary tract infections: Frequency, protein analysis, and antimicrobial resistance. *AMB Express.* 2024;14(1):17.
144. Mekonnen S, Tesfa T, Shume T, Tebeje F, Urgesa K, Weldegebrea F. Bacterial profile, their antibiotic susceptibility pattern, and associated factors of urinary tract infections in children at Hiwot Fana Specialized University Hospital, Eastern Ethiopia. *PLoS One.* 2023;18(4):e0283637.

145. Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Marra M, Zummo S, Biondo C. Urinary Tract Infections: The Current Scenario and Future Prospects. *Pathogens*. 2023;12(4):623.
146. Maruyama T, Fujisawa T, Ishida T, Ito A, Oyamada Y, Fujimoto K, *et al.* A Therapeutic Strategy for All Pneumonia Patients: A 3-Year Prospective Multicenter Cohort Study Using Risk Factors for Multidrug-resistant Pathogens to Select Initial Empiric Therapy. *Clin Infect Dis*. 2019;68(7):1080-8.
147. Amati F, Restrepo MI. Emerging Resistance of Gram Negative Pathogens in Community-Acquired Pneumonia. *Semin Respir Crit Care Med*. 2020;41(4):480-95.
148. Bassetti M, Magnè F, Giacobbe DR, Bini L, Vena A. New antibiotics for Gram-negative pneumonia. *Eur Respir Rev*. 2022;31(166):220119.
149. Alcántar-Curiel MD, Huerta-Cedeño M, Jarillo-Quijada MD, Gayosso-Vázquez C, Fernández-Vázquez JL, Hernández-Medel ML, *et al.* Gram-negative ESKAPE bacteria bloodstream infections in patients during the COVID-19 pandemic. *PeerJ*. 2023;11:e15007.
150. Liu Y, Li F, Fang Y, Zhong Q, Xiao Y, Zheng Y, *et al.* Clinical Characteristics, Prognosis and Treatment of Bloodstream Infections with *Enterobacter Cloacae* Complex in a Chinese Tertiary Hospital: A Retrospective Study. *Infect Drug Resist*. 2024;17:1811-25.
151. Buzzalino LG, Mease J, Bernhardt CL, Bork JT, Johnson K, Claeys KC. Follow-up Blood Culture Practices for Gram-Negative Bloodstream Infections in Immunocompromised Hosts at a Large Academic Medical Center. *Open Forum Infect Dis*. 2022;9(5):ofac173.
152. Tian X, Huang C, Ye X, Jiang H, Zhang R, Hu X, *et al.* Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae* Causing Nosocomial Infections in Southwestern China: Molecular Epidemiology, Risk Factors, and Predictors of Mortality. *Infect Drug Resist* 2020. 2020;13:129-37.
153. Wengrofsky P, Soleiman A, Benyaminov F, Oleszak F, Saliccioli L, McFarlan SI. *Enterobacter Cloacae* Device Endocarditis: Case Report, Scoping Study, and Guidelines Review. *Cardiol Vasc Res*. 2019;3(3):1-5.
154. Werdan K, Dietz S, Löffler B, Niemann S, Bushnaq H, Silber R-E, *et al.* Mechanisms of infective endocarditis: Pathogen-host interaction and risk states. *Nat Rev Cardiol*. 2014;11(1):35-50.
155. Maaliki N, Verdecia J, Ravi M. Elusive *Enterobacter cloacae* causing pacemaker endocarditis. *IDCases*. 2021;24: e01149.
156. Jha Y, Chaudhary K. Diagnosis and Treatment Modalities for Osteomyelitis. *Cureus*. 2022;14(10):e30713.

157. Bury DC, Rogers TS, Dickman MM. Osteomyelitis: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*. 2021;104(4):395-402.
158. Yazidi LSA, Hameed H, Isaacs D, Axt M, Kesson A. *Enterobacter cloacae* osteoarticular infection without risk factors: Case report and review of the literature. *J Paediatr Child Health*. 2018;54(8):915-7.
159. Dietrich L, Fuest L, Vögelin E. Monomicrobial *Enterobacter cloacae* Infections in Extensive Hand Injuries - A Case Series. *Clinics in Surgery*. 2022;7(1):1-6.
160. Zhang X, Lu Q, Liu T, Li Z, Cai W. Bacterial resistance trends among intraoperative bone culture of chronic osteomyelitis in an affiliated hospital of South China for twelve years. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1).
161. Yang L, Feng J, Liu J, Yu L, Zhao C, Ren Y, *et al*. Pathogen identification in 84 Patients with post-traumatic osteomyelitis after limb fractures. *Ann Palliat Med*. 2020;9(2):451-8.
162. Niemelä S, Lempinen L, Löyttyniemi E, Oksi J, Jero J. Bacterial meningitis in adults: A retrospective study among 148 patients in an 8-year period in a university hospital, Finland. *BMC Infect Dis*. 2023;23(1):45.
163. Battersby AJ, Knox-Macaulay HHM, Carrol ED. Susceptibility to invasive bacterial infections in children with sickle cell disease. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;55(3):401-6.
164. Miller L, Arakaki L, Ramautar A, Bodach S, Braunstein SL, Kennedy J, *et al*. Elevated risk for invasive meningococcal disease among persons with HIV. *Ann Intern Med*. 2014;160(1):30-7.
165. Lee S, Kim S, Sunwoo J-S. Orogenic *Enterobacter cloacae* meningitis complicated with pneumocephalus. *Encephalitis*. 2023;3(4):125-8.
166. Sunwoo J-S, Shin H-R, Lee HS, Moon J, Lee S-T, Jung K-H, *et al*. A hospital-based study on etiology and prognosis of bacterial meningitis in adults. *Sci Rep*. 2021;11(1):6028.
167. Ramata-Stunda A, Boroduskis M, Kaktina E, Patetko L, Kalnenieks U, Lasa Z, *et al*. Comparative Evaluation of Existing and Rationally Designed Novel Antimicrobial Peptides for Treatment of Skin and Soft Tissue Infections. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(3):551.
168. Macedo GHRVd, Costa GDE, Oliveira ER, Damasceno GV, Mendonça JSP, Silva LDS, *et al*. Interplay between ESKAPE Pathogens and Immunity in Skin Infections: An Overview of the Major Determinants of Virulence and Antibiotic Resistance. *Pathogens*. 2021;10(2):148.

169. Jabbour J-F, Kanj SS. Gram-Negative Skin and Soft Tissue Infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2021;35(1):157-67.
170. Brink AJ, Richards GA. The role of multidrug and extensive-drug resistant Gram-negative bacteria in skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2020;33(2):93-100.
171. Pulido-Cejudo A, Guzmán-Gutierrez M, Jalife-Montaña A, Ortiz-Covarrubias A, Martínez-Ordaz JL, Noyola-Villalobos HF, *et al.* Management of acute bacterial skin and skin structure infections with a focus on patients at high risk of treatment failure. *Ther Adv Infect Dis.* 2017;4(5):143-61.
172. Hashmi MZ. *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment.* Springer Cham; 2020.
173. Corona A, Santis VD, Agarossi A, Prete A, Cattaneo D, Tomasini G, *et al.* Antibiotic Therapy Strategies for Treating Gram-Negative Severe Infections in the Critically Ill: A Narrative Review. *Antibiotics (Basel).* 2023;12(8):1262.
174. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tängdén T, Bitterman R, Bonomo RA, *et al.* European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(4):521-47.
175. Shah S, McManus D, Topal JE. Successful Use of Ertapenem for the Treatment of *Enterobacter cloacae* Complex Infection of the Central Nervous System (CNS). *Case Rep Infect Dis* 2019;2019:7021586.
176. VanDuyn DC, Chadha S, Paul LA, Dressler AR, Beccari MV, Bajwa RPS. Omadacycline for a Carbapenem-Resistant *Enterobacter cloacae*-Associated Wound Infection. *Hosp Pharm* 2022;57(6):767-70.
177. Saikia S, Chetia P. Antibiotics: From Mechanism of Action to Resistance and Beyond. *Indian J Microbiol.* 2024;64(3):821-845.
178. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: Past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(11):4943-6.
179. Armstrong T, Fenn SJ, Hardie KR. JMM Profile: Carbapenems: A broad-spectrum antibiotic. *J Med Microbiol.* 2021;70(12):001462.
180. Mora-Ochomogo M, Lohans CT.  $\beta$ -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: From covalent inhibitors to substrates. *RSC Med Chem* 2021;12(10):1623–39.
181. Resumo das Características do Medicamento Recarbrio® / Imipenem + Cilastatina + Relebactam, 500 mg + 500 mg + 250 mg, Pó para solução para perfusão. Amesterdão, Países Baixos: European Medicines Agency (EMA); 2020.

182. Yang Q, Yang Y, He R, Yu B, Zhong Y, Lin F. Efficacy and safety of novel carbapenem- $\beta$ -lactamase inhibitor combinations: Imipenem-cilastatin/relebactam results from randomized controlled trials. *Front Med (Lausanne)*. 2023;10:1304369.
183. Imipenem. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01598>.
184. Relebactam. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB12377>.
185. Cilastatin. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01597>.
186. Hillyer T, Shin WS. Meropenem/Vaborbactam - A Mechanistic Review for Insight into Future Development of Combinational Therapies. *Antibiotics*. 2024;13(6):472.
187. Meropenem. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00760>.
188. Vaborbactam. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB12107>.
189. Resumo das Características do Medicamento Meropenem Hikma<sup>®</sup> / Meropenem, 1000 mg, Pó para solução injetável ou para perfusão. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED); 2020.
190. Resumo das Características do Medicamento Vaborem<sup>®</sup> / Meropenem + Vaborbactam, 1 g + 1 g, Pó para concentrado para solução para perfusão. Amesterdão, Países Baixos: European Medicines Agency (EMA); 2023.
191. Hammond ML. Ertapenem: A Group 1 carbapenem with distinct antibacterial and pharmacological properties. *J Antimicrob Chemother*. 2004;53(2):ii7-9.
192. Ertapenem. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00303>.
193. Resumo das Características do Medicamento Invanz<sup>®</sup> / Ertapenem, 1000 mg, Pó para concentrado para solução para perfusão. Amesterdão, Países Baixos: European Medicines Agency (EMA); 2011.
194. Lin X, Kück U. Cephalosporins as key lead generation beta-lactam antibiotics. *Appl Microbiol Biotechnol* 2022;106(24):8007–20.
195. Tipper DJ, Strominger JL. Mechanism of action of penicillins: A proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1965;54(4):1133–41.

196. Bui T, Patel P, Preuss. CV. Cephalosporins. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
197. Harrison CJ, Bratcher D. Cephalosporins: A review. *Pediatr Rev.* 2008;29(8):264-7.
198. Soriano A, Montravers P, Bassetti M, Klyasova G, Daikos G, Irani P, *et al.* The Use and Effectiveness of Ceftazidime-Avibactam in Real-World Clinical Practice: EZTEAM Study. *Infect Dis Ther.* 2023;12(3):891-917.
199. Kristoffersson AN, Bissantz C, Okujava R, Haldimann A, Walter I, Shi T, *et al.* A novel mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic (PKPD) model describing ceftazidime/avibactam efficacy against  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(2):400-8.
200. Kroemer N, Amann LF, Farooq A, Pfaffendorf C, Martens M, Decousser J-W, *et al.* Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of ceftazidime/avibactam and fosfomicin combinations in an *in vitro* hollow fiber infection model against multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* 2024;12(1):e033182.
201. Ceftazidime. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00438>.
202. Avibactam. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB09060>.
203. Resumo das Características do Medicamento Zavicefta<sup>®</sup> / Ceftazidima + Avibactam, 2000 mg + 500 mg, Pó para concentrado para solução para perfusão. Amesterdão, Países Baixos: European Medicines Agency (EMA); 2021.
204. Resumo das Características do Medicamento Zerbaxa<sup>®</sup> / Ceftolozano + Tazobactam, 1 g + 0,5 g, Pó para concentrado para solução para perfusão. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED); 2020.
205. Lizza BD, Betthausen KD, Ritchie DJ, Micek ST, Kollef MH. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Ceftolozane-Tazobactam. *Antimicrob Agents Chemother* 2021;65(7):e02318-20.
206. Ceftolozane. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB09050>.
207. Tazobactam. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01606>.
208. Resumo das Características do Medicamento Fetcroja<sup>®</sup> / Cefiderocol, 1 g, Pó para concentrado para solução para perfusão. Amesterdão, Países Baixos: European Medicines Agency (EMA); 2020.

209. Henriksen AS, Arena F, Attwood M, Canton R, Gatermann S, Naas T, *et al.* *In vitro* activity of cefiderocol against European *Enterobacterales*, including isolates resistant to meropenem and recent  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations. *Microbiol Spectr.* 2024:e0418123.
210. Kaye KS, Naas T, Pogue JM, Rossolin GM. Cefiderocol, a Siderophore Cephalosporin, as a Treatment Option for Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Enterobacterales*. *Infect Dis Ther.* 2023;12(3):777-806.
211. Fetcroja<sup>®</sup> / Cefiderocol. Amsterdam, Netherlands: European Medicines Agency; 2024. [22/06/2024]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/fetcroja>.
212. Cefiderocol. DrugBank Online. [22/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB14879>.
213. Kever L, Hardy A, Luthe T, Hünnefeld M, Gätgens C, Milke L, *et al.* Aminoglycoside Antibiotics Inhibit Phage Infection by Blocking an Early Step of the Infection Cycle. *mBio.* 2022;13(3):e0078322.
214. Serio AW, Keepers T, Andrews L, Krause KM. Aminoglycoside Revival: Review of a Historically Important Class of Antimicrobials Undergoing Rejuvenation. *EcoSal Plus.* 2018;8(1).
215. Taber HW, Mueller JP, Miller PF, Arrow AS. Bacterial uptake of aminoglycoside antibiotics. *Microbiol Rev.* 1987;51(4):439-5.
216. Wang N, Luo J, Deng F, Huang Y, Zhou H. Antibiotic Combination Therapy: A Strategy to Overcome Bacterial Resistance to Aminoglycoside Antibiotics. *Front Pharmacol.* 2022;13:839808.
217. Thy M, Timsit J-F, Montmollin Ed. Aminoglycosides for the Treatment of Severe Infection Due to Resistant Gram-Negative Pathogens. *Antibiotics (Basel).* 2023;12(5):860.
218. Clark JA, Burgess DS. Plazomicin: A new aminoglycoside in the fight against antimicrobial resistance. *Ther Adv Infect Dis* 2020;7:2049936120952604.
219. Resumo das Características do Medicamento Amicacina Hikma<sup>®</sup> / Amicacina, 500 mg/2 ml, Solução injetável. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED); 2014.
220. Amikacin. DrugBank Online. [23/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00479>.

221. Resumo das Características do Medicamento Gentamicina Labesfal® / Gentamicina, 80 mg/2 ml, Solução injetável. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED); 2024.
222. Gentamicin. DrugBank Online. [23/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00798>.
223. Resumo das Características do Medicamento Tobramicina Labesfal® / Tobramicina, 100 mg/2 ml, Solução injetável. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED); 2021.
224. Tobramycin. DrugBank Online. [23/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00684>.
225. Kounatidis D, Dalamaga M, Grivakou E, Karampela I, Koufopoulos P, Dalopoulos V, *et al.* Third-Generation Tetracyclines: Current Knowledge and Therapeutic Potential. *Biomolecules*. 2024;14(7):783.
226. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2001;65(2):232-60.
227. Fuoco D. Classification Framework and Chemical Biology of Tetracycline-Structure-Based Drugs. *Antibiotics (Basel)*. 2012;1(1):1-13.
228. Barrenechea V, Vargas-Reyes M, Quiliano M, Milón P. A Complementary Mechanism of Bacterial mRNA Translation Inhibition by Tetracyclines. *Front Microbiol*. 2021;12(682682).
229. Alegun O, Pandeya A, Cui J, Ojo I, Wei Y. Donnan Potential across the Outer Membrane of Gram-Negative Bacteria and Its Effect on the Permeability of Antibiotics. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(6):701.
230. Zhanel GG, Homenuik K, Nichol K, Noreddin A, Vercaigne L, Embil J, *et al.* The glycylcyclines: A comparative review with the tetracyclines. *Drugs*. 2004;64(1):63-88.
231. Rahman MS, Shathi SS, Amin GMA, Akhter F, Azam MF, Akter S, *et al.* Eravacycline, the First and Unique Fluorocycline Antibacterial Agent. *J Bacteriol Virol*. 2024;54(1):1-11.
232. Zhanel GG, Baxter MR, Adam HJ, Sutcliffe J, Karlowsky JA. *In vitro* activity of eravacycline against 2213 Gram-negative and 2424 Gram-positive bacterial pathogens isolated in Canadian hospital laboratories: CANWARD surveillance study 2014-2015. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;91(1):55-62.

233. Lee YR, Burton CE. Eravacycline, a newly approved fluorocycline. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(10):1787-94.
234. Rusu A, Buta EL. The Development of Third-Generation Tetracycline Antibiotics and New Perspectives. *Pharmaceutics.* 2021;13(12):2085.
235. Eravacycline. DrugBank Online. [23/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB12329>.
236. Blanchard LS, Armstrong TP, Kresken M, Emery CL, Ying YX, Sauvonnnet V, *et al.* Multicenter Clinical Evaluation of ETEST Eravacycline for Susceptibility Testing of *Enterobacteriaceae* and *Enterococci*. *J Clin Microbiol.* 2023;61(3):e0165022.
237. Resumo das Características do Medicamento Xerava<sup>®</sup> / Eravaciclina, 100 mg, Pó para concentrado para solução para perfusão. Amesterdão, Países Baixos: European Medicines Agency (EMA); 2023.
238. Tigecycline. DrugBank Online. [23/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00560>.
239. Greer ND. Tigecycline (Tygacil): The first in the glycycline class of antibiotics. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2006;19(2):155-61.
240. Resumo das Características do Medicamento Tygacil<sup>®</sup> / Tigeciclina, 50 mg, Pó para solução para perfusão. Amesterdão, Países Baixos: European Medicines Agency (EMA); 2016.
241. Lima LM, Silva BNMD, Barbosa G, Barreiro EJ.  $\beta$ -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *Eur J Med Chem.* 2020;208:112829.
242. Resumo das Características do Medicamento Azactam<sup>®</sup> / Aztreonam, 1000 mg, Pó para solução injetável. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED); 2024.
243. Aztreonam. DrugBank Online. [23/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00355>.
244. Ma K, Feng Y, McNally A, Zong Z. Struggle To Survive: The Choir of Target Alteration, Hydrolyzing Enzyme, and Plasmid Expression as a Novel Aztreonam-Avibactam Resistance Mechanism. *mSystems.* 2020;5(6):e00821-20.
245. Marchetti VM, Jaroslav Hrabak JH, Ibrahim Bitar IB. Fosfomicin resistance mechanisms in *Enterobacteriales*: An increasing threat. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1178547.
246. Chen T-T, Chang Y-F, Wu Y-C. Clinical Use of Intravenous Fosfomicin in Critical Care Patients in Taiwan. *Pathogens.* 2023;12(6):841.

247. Fosfomicin. DrugBank Online. [23/06/2024]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00828>.
248. Lista de medicamentos autorizados a nível nacional. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED). [28/07/2024]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/3591726/Fosfomicina\\_AneXos/518715cd-ab73-db6b-b2c8-af1ea365858a](https://www.infarmed.pt/documents/15786/3591726/Fosfomicina_AneXos/518715cd-ab73-db6b-b2c8-af1ea365858a).
249. Roque-Borda CA, Primo LMDG, Franzyk H, Hansen PR, Pavan FR. Recent advances in the development of antimicrobial peptides against ESKAPE pathogens. *Heliyon*. 2024;10(11):e31958.
250. Silva KEd, Rossato L, Leite AF, Simionatto S. Overview of polymyxin resistance in *Enterobacteriaceae*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2022;55:e0349-2021.
251. Colistin. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology. [24/06/2024]. Disponível em: <https://www.guidetopharmacology.org/GRAC/LigandDisplayForward?tab=biology&ligandId=10794>.
252. Resumo das Características do Medicamento Colixin® / Colistimetato de sódio, 1000000 U.I., Pó para solução injetável ou para solução para inalação por nebulização. Lisboa, Portugal: Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED); 2023.
253. Browne K, Chakraborty S, Chen R, Willcox MD, Black DS, Walsh WR, *et al.* A New Era of Antibiotics: The Clinical Potential of Antimicrobial Peptides. *Int J Mol Sci* 2020;21(19):7047.
254. Terreni M, Taccani M, Pregnolato M. New Antibiotics for Multidrug-Resistant Bacterial Strains: Latest Research Developments and Future Perspectives. *Molecules* 2021;26(9):2671.
255. Karlowsky JA, Wise MG, Hackel MA, Pevear DC, Moeck G, Sahn DF. Ceftibuten-Ledaborbactam Activity against Multidrug-Resistant and Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Positive Clinical Isolates of *Enterobacterales* from a 2018-2020 Global Surveillance Collection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022;66(11):e0093422.
256. VNRX-7145 SAD/MAD Safety and PK in Healthy Adult Volunteers. *ClinicalTrials.gov*; 2024. [15/07/2024]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04877379?intr=ceftibuten&aggFilters=phase:0%201&rank=6>.

257. Mallalieu NL, Winter E, Fettner S, Patel K, Zwanziger E, Attley G, *et al.* Safety and Pharmacokinetic Characterization of Nacubactam, a Novel  $\beta$ -Lactamase Inhibitor, Alone and in Combination with Meropenem, in Healthy Volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(5):e02229-19.
258. A Study to Investigate the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of RO7079901 and the Combination of RO7079901 With Meropenem in Adult Healthy Volunteers. *ClinicalTrials.gov*; 2024. [18/07/2024]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02972255?cond=%20NCT02972255%20&rank=1>.
259. Ji X-w, Xue F, Kang Z-s, Zhong W, Kuan IH-s, Yang X-p, *et al.* Model-Informed Drug Development, Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Cutoff Value Determination, and Antibacterial Efficacy of Benapenem against *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(3):e01751-19.
260. Zhao C-Y, Lv Y, Zhu Y, Wei M-J, Liu M-Y, Ji X-W, *et al.* A First-in-Human Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics Study of Benapenem in Healthy Chinese Volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(3):e02188-18.
261. A Study to Assess Efficacy and Safety Intravenous Benapenem in Patients With Complicated Urinary Tract Infection (cUTI) or Acute Pyelonephritis (AP). *ClinicalTrials.gov*; 2024. [18/07/2024]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04505683>.
262. Hernández-García M, García-Castillo M, Ruiz-Garbajosa P, Bou G, Siller-Ruiz M, Pitart C, *et al.* *In Vitro* Activity of Cefepime-Taniborbactam against Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* and *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Recovered in Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022;66(3):e0216121.
263. Wagenlehner FM, Gasink LB, McGovern PC, Moeck G, McLeroth P, Dorr M, *et al.* Cefepime-Taniborbactam in Complicated Urinary Tract Infection. *N Engl J Med.* 2024;390(7):611-22.
264. Safety and Efficacy Study of Cefepime/VNRX-5133 in Patients With Complicated Urinary Tract Infections (CERTAIN-1). *ClinicalTrials.gov*; 2024. [19/07/2024]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03840148?cond=Cefepime%2FVNRX-5133&rank=1>.
265. Eckburg PB, Muir L, Critchley IA, Walpole S, Kwak H, Phelan A-M, *et al.* Oral Tebipenem Pivoxil Hydrobromide in Complicated Urinary Tract Infection. *N Engl J Med.* 2022;386(14):1327-38.

266. Study to Assess the Efficacy, Safety and Pharmacokinetics of Orally Administered Tebipenem Pivoxil Hydrobromide (SPR994) Compared to Intravenous Ertapenem in Participants With Complicated Urinary Tract Infection (cUTI) or Acute Pyelonephritis (AP) (ADAPT-PO). ClinicalTrials.gov; 2024. [19/07/2024]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03788967?limit=10&term=NCT03788967&rank=1>.
267. Darby EM, Trampari E, Siasat P, Gaya MS, Alav I, Webber MA, *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nat Rev Microbiol.* 2023;21(5):280-95.
268. Lyytinen OL, Dapuliga C, Wallinger D, Patpatia S, Audu BJ, Kiljunen SJ. Three novel *Enterobacter cloacae* bacteriophages for therapeutic use from Ghanaian natural waters. *Arch Virol.* 2024;169(8):156.
269. Chung KM, Liao XL, Tang SS. Bacteriophages and Their Host Range in Multidrug-Resistant Bacterial Disease Treatment. *Pharmaceuticals (Basel)* 2023;16(10):1467.
270. Loc-Carrillo C, Abedon ST. Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage* 2011;1(2):111–4.
271. Rezaei AR. Bacteriophages for the Treatment of Resistant Bacterial Infectious Diseases. *Journal of Bacteriology and Virology.* 2024;54(2):84-93.
272. Wdowiak M, Paczesny J, Raza S. Enhancing the Stability of Bacteriophages Using Physical, Chemical, and Nano-Based Approaches: A Review. *Pharmaceutics* 2022;14(9):1936.
273. Badescu B, Buda V, Romanescu M, Lombrea A, Danciu C, Dalleur O, *et al.* Current State of Knowledge Regarding WHO Critical Priority Pathogens: Mechanisms of Resistance and Proposed Solutions through Candidates Such as Essential Oils. *Plants (Basel).* 2022;11(14):1789.
274. Ramsey JT, Shropshire BC, Nagy TR, Chambers KD, Li Y, Korach KS. Essential Oils and Health. *Yale J Biol Med.* 2020;93(2):291-305.
275. Patterson JE, McElmeel L, Wiederhold NP. In Vitro Activity of Essential Oils Against Gram-Positive and Gram-Negative Clinical Isolates, Including Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(12):ofz502.
276. Peter S, Sotondoshe N, Aderibigbe BA. Carvacrol and Thymol Hybrids: Potential Anticancer and Antibacterial Therapeutics. *Molecules.* 2024;29(10):2277.
277. Hajibonabi A, Yekani M, Sharifi S, Nahad JS, Dizaj SM, Memar MY. Antimicrobial Activity of Nanoformulations of Carvacrol and Thymol: New Trend and Applications. *OpenNano.* 2023;13:100170.

278. Usai F, Sotto AD. trans-Cinnamaldehyde as a Novel Candidate to Overcome Bacterial Resistance: An Overview of *In Vitro* Studies. *Antibiotics* (Basel). 2023;12(2):254.
279. Nair A, Mally R, Suvarna V, Khan TA, Momin M, Omri A. Nanoparticles-Attractive Carriers of Antimicrobial Essential Oils. *Antibiotics* (Basel). 2022;11(1):108.
280. Miguel MG, Lourenço JP, Faleiro ML. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles and Essential Oils: A New Tool for Biological Applications. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):6633.
281. Abdallah EM, Alhatlani BY, Menezes RdP, Martins CHG. Back to Nature: Medicinal Plants as Promising Sources for Antibacterial Drugs in the Post-Antibiotic Era. *Plants* (Basel). 2023;12(17):3077.
282. Pan S-Y, Zhou S-F, Gao S-H, Yu Z-L, Zhang S-F, Tan M-K, *et al*. New Perspectives on How to Discover Drugs from Herbal Medicines: CAM's Outstanding Contribution to Modern Therapeutics. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:627375.
283. Alizadehdakhel A, Golzary A. An Environmental Friendly Process for Extraction of Active Constituents from Herbal Plants. *Environmental Energy and Economic Research*. 2020;4(1):69-8.
284. Alope C, Achilonu I. Coping with the ESKAPE pathogens: Evolving strategies, challenges and future prospects. *Microb Pathog*. 2023;175:10596.
285. Mahlapuu M, Håkansson J, Ringstad L, Björn C. Antimicrobial Peptides: An Emerging Category of Therapeutic Agents. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;6:194.
286. Chen N, Jiang C. Antimicrobial peptides: Structure, mechanism, and modification. *Eur J Med Chem*. 2023;255(11537).
287. Bechinger B, Gorr S-U. Antimicrobial Peptides: Mechanisms of Action and Resistance. *J Dent Res*. 2017;96(3):254-60.
288. Kang S-J, Park SJ, Mishig-Ochir T, Lee B-J. Antimicrobial peptides: Therapeutic potentials. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12(12):1477-86.
289. Baxter AA, Lay FT, Poon IKH, Kvensakul M, Hulett MD. Tumor cell membrane-targeting cationic antimicrobial peptides: Novel insights into mechanisms of action and therapeutic prospects. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(20):3809-25.
290. Mathur A, Parihar AS, Modi S, Kalra A. Photodynamic therapy for ESKAPE pathogens: An emerging approach to combat antimicrobial resistance (AMR). *Microb Pathog*. 2023;183:106307.
291. Moura RS, Afonso JPR, Mello DACPG, Palma RK, Oliveira-Silva I, Oliveira RF, *et al*. Antimicrobial Effects of Photodynamic Therapy Delivered via Hydrogels for Inhibiting *Staphylococcus aureus*: A Systematic Review. *Preprints*. 2024: 2024070925.

292. Juan CA, Lastra JMPdl, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4642.
293. Leanse LG, Marasini S, Anjos CD, Dai T. Antimicrobial Resistance: Is There a 'Light' at the End of the Tunnel? *Antibiotics (Basel).* 2023;12(9):1437.
294. Alla RK, Sarangi S, Ganta GK, Abusua F. Photodynamic Therapy: A Distinct Therapeutic Modality. *International Journal of Dental Materials.* 2023;5(2):52-61.
295. Farooqui M, Iqbal Z, Sadiq A, Raziq A, Alshammari MS, Iqbal Q, *et al.* Hospital Pharmacists' Viewpoint on Quality Use of Antibiotics and Resistance: A Qualitative Exploration from a Tertiary Care Hospital of Quetta City, Pakistan. *Antibiotics (Basel).* 2023;12(8):1343.
296. Khadse SN, Ugemuge S, Singh C. Impact of Antimicrobial Stewardship on Reducing Antimicrobial Resistance. *Cureus* 2023;15(12):e49935.
297. Jantarathaneewat K, Camins B, Apisarnthanarak A. The role of the clinical pharmacist in antimicrobial stewardship in Asia: A review. *Antimicrob Steward Healthc Epidemiol.* 2022;2(1):e176.
298. Monmaturapoj T, Scott J, Smith P, Abutheraa N, Watson MC. Pharmacist-led education-based antimicrobial stewardship interventions and their effect on antimicrobial use in hospital inpatients: A systematic review and narrative synthesis. *J Hosp Infect.* 2021;115:93-116.
299. Wickens HJ, Farrell S, Ashiru-Oredope DAI, Jacklin A, Holmes A. The increasing role of pharmacists in antimicrobial stewardship in English hospitals. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(11):2675-81.
300. Dighriri IM, Alnomci BA, Aljahdali MM, Althagafi HS, Almatrafi RM, Altwairqi WG, *et al.* The Role of Clinical Pharmacists in Antimicrobial Stewardship Programs (ASPs): A Systematic Review. *Cureus.* 2023;15(12):e5015.
301. Fukuda T, Tanuma K, Iio S, Saito J, Komura M, Yamatani A. Impact of a Pharmacist-Led Antimicrobial Stewardship Program on the Number of Days of Antimicrobial Therapy for Uncomplicated Gram-Negative Bacteremia in a Community Hospital. *Cureus.* 2021;13(4):e14635
302. Ritchie ND, Irvine SC, Helps A, Robb F, Jones BL, Seaton RA. Restrictive antibiotic stewardship associated with reduced hospital mortality in gram-negative infection. *QJM.* 2017;110(3):155-61.

303. Conceição J, Ramalhinho I, Barata P. A Profissão Farmacêutica. Faro: Universidade do Algarve – Faculdade de Ciências e Tecnologia; 2024.
304. Garau J, Bassetti M. Role of pharmacists in antimicrobial stewardship programmes. *Int J Clin Pharm*. 2018;40(5):948-52.
305. Cantudo-Cuenca MR, Jiménez-Morales A, Plata JEM-dl. Pharmacist-led antimicrobial stewardship programme in a small hospital without infectious diseases physicians. *Sci Rep*. 2022;12(1):9501.
306. Despacho n.º 10901/2022, Diário da República, 2.ª Série, N.º 174, 93-99.
307. Lambert M, Smit CCH, Vos SD, Benko R, Llor C, Paget WJ, *et al*. A systematic literature review and meta-analysis of community pharmacist-led interventions to optimise the use of antibiotics. *Br J Clin Pharmacol*. 2022;88(6):2617-41.
308. Norma específica sobre o uso responsável do medicamento. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos; 2018.
309. Proposals for EU guidelines on the prudent use of antimicrobials in humans. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2017.
310. Esteves MdRSDOdS, Mealha MHdSM. Boas Práticas Regulamentares. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos; 2023.
311. Agência Europeia de Medicamentos (EMA). Amsterdão, Países Baixos: Agência Europeia de Medicamentos (EMA). [28-07-2024]. Disponível em: [https://european-union.europa.eu/institutions-law-budget/institutions-and-bodies/search-all-eu-institutions-and-bodies/european-medicines-agency-ema\\_pt](https://european-union.europa.eu/institutions-law-budget/institutions-and-bodies/search-all-eu-institutions-and-bodies/european-medicines-agency-ema_pt).
312. INFARMED - Apresentação. Lisboa: INFARMED. 2024. [29-07-2024]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/apresentacao>.
313. Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2016.
314. Adebisi YA. Balancing the risks and benefits of antibiotic use in a globalized world: The ethics of antimicrobial resistance. *Global Health*. 2023;19(1):27.
315. Baran A, Kwiatkowska A, Potocki L. Antibiotics and Bacterial Resistance - A Short Story of an Endless Arms Race. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6):5777.
316. Källberg C, Blix HS, Laxminarayan R. Challenges in Antibiotic R&D Calling for a Global Strategy Considering Both Short- and Long-Term Solutions. *ACS Infect Dis*. 2019;5(8):1265-8.
317. Bergkessel M, Forte B, Gilbert IH. Small-Molecule Antibiotic Drug Development: Need and Challenges. *ACS Infect Dis*. 2023;9(11):2062-71.

318. World Health Organization Warns That Antibiotic Innovation Still Insufficient. Philadelphia, United States of America: The Pew Charitable Trusts; 2024. [29/07/2024]. Disponível em: <https://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/articles/2024/07/15/world-health-organization-warns-that-antibiotic-innovation-still-insufficient>.
319. Plackett B. Why big pharma has abandoned antibiotics. *Nature*. 2020;586(7830):S50-S2.
320. Muteeb G, Rehman MT, Shahwan M, Aatif M. Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023;16(11):1615.

