



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Sofia da Silva Coutinho

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Cláudia Gama e da Dra. Rosa Cartaxo Lima e Monografia intitulada “Interações parasita-microbiota intestinal e os seus efeitos no hospedeiro” sob a orientação da Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Sofia da Silva Coutinho

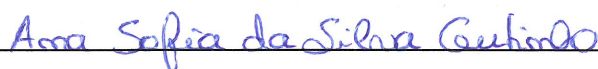
Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Cláudia Gama e da Dra. Rosa Cartaxo Lima e  
Monografia intitulada “Interações parasita-microbiota intestinal e os seus efeitos no  
hospedeiro” sob a orientação da Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa,  
referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da  
Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de  
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Ana Sofia da Silva Coutinho, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º2018279282, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Interações parasita-microbiota intestinal e os seus efeitos no hospedeiro” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

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

Coimbra, 1 de setembro de 2023



(Ana Sofia da Silva Coutinho)

## **Agradecimentos**

Finalizada esta etapa, onde cresci pessoal e profissionalmente, resta-me deixar umas palavras de apreço a todos aqueles que contribuíram para que fosse uma caminhada tão bonita e memorável.

A Coimbra, a cidade que me viu crescer e que se tornou ainda mais especial.

À minha família, um pilar essencial na minha vida, que nunca me deixou desistir e me apoiou de forma desmedida.

À Carolina, Fábio e Sara, a família de Coimbra que eu escolhi e que estiveram sempre presentes, com um abraço e uma palavra amiga, quando mais precisava.

À Mariana, Marisa e Luana, as minhas companheiras nesta intensa viagem e que a tornaram mais fácil e risonha, Coimbra ficou mais bonita com vocês.

À Diana, Mariana, Telma e Beatriz, as amigas de todas as horas, que me aconselharam e torceram diariamente pelo meu sucesso.

À equipa maravilha da Farmácia Cortesão – Dra. Rosa, Dra. Teresa, Dr. Diogo, Dra. Gabriela, Dr. Francisco, Dr. Rafael e Dra. Luzia, que me ensinaram tanto e onde fui tão feliz.

A todos os colegas que tive a oportunidade de conhecer na Bluepharma, com quem aprendi bastante e que me integraram tão bem na empresa, em especial à Dra. Cláudia, Dra. Isabel, Dra. Maria Inês, Dra. Marta, Dra. Ana Paula e Dra. Sara.

À Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues de Sousa, pela excelente orientação que me prestou e por estar sempre disponível para me ajudar.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e respetivos docentes e não docentes, que contribuíram de forma essencial na minha formação.

A todos, do fundo do coração, o meu mais sincero,

Obrigado.

## Índice

### Parte I – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Bluepharma.....	9
2.1. Controlo de qualidade.....	9
2.1.1 Rotina.....	10
2.1.2. Microbiologia.....	11
3. Análise SWOT.....	11
3.1. Pontos Fortes.....	12
3.1.1. “Família Blue”.....	12
3.1.2. Autonomia.....	12
3.1.3. Gestão de tempo.....	13
3.1.4. Conhecimento mais aprofundado no Microsoft Excel.....	13
3.1.5. Metodologia <i>Kaizen</i> .....	13
3.1.6. Comunicação interna.....	14
3.2. Pontos Fracos.....	15
3.2.1. Duração do estágio.....	15
3.2.2. Registos e documentação.....	15
3.3. Oportunidades.....	15
3.3.1. Formação constante.....	15
3.3.2. Familiarização com outras áreas da IF além do CQ.....	16
3.3.3. Contextualização do trabalho de um farmacêutico numa IF.....	16
3.4. Ameaças.....	17
3.4.1. Exigência do mercado de exportação.....	17
3.4.2. Pouco contacto prático com equipamentos.....	17
4. Considerações Finais.....	18
5. Bibliografia.....	19
Anexos.....	20

### Parte II – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	22
1. Introdução.....	23
2. Farmácia Cortesão.....	24
3. Análise SWOT.....	24
3.1. Pontos Fortes.....	24
3.1.1. Equipa técnica.....	24
3.1.2. Utentes.....	25
3.1.3. Automatização da farmácia.....	25
3.1.4. Colaboração com o Lar de Meãs e Quimbres.....	26
3.1.5. Plano de estágio.....	26
3.2. Pontos Fracos.....	27
3.2.1. Falta de preparação para o atendimento.....	27
3.2.2. Denominação Comum Internacional (DCI) e Nome Comercial.....	27

3.3. Oportunidades .....	27
3.3.1. VALORMED .....	27
3.3.2. Formações.....	28
3.3.3. Sistemas informáticos .....	28
3.4. Ameaças.....	28
3.4.1. Medicamentos esgotados.....	28
3.4.2. Mercado competitivo .....	29
4. Casos Práticos.....	30
5. Considerações Finais.....	33
6 . Bibliografia .....	34

**Parte III – Monografia intitulada "Interações parasita-microbiota intestinal e as suas interações no hospedeiro"**

Índice de Figuras.....	36
Índice de Tabelas.....	36
Lista de Abreviaturas .....	37
Resumo .....	38
Abstract .....	39
1. Introdução.....	40
2. Microbiota intestinal .....	40
2.1. Composição da microbiota .....	40
2.2. Funções da microbiota .....	41
2.2.1. Metabólica .....	42
2.2.2 – Imunológica .....	43
2.2.3 - Neurológica .....	45
3. Parasitas como causadores da disbiose intestinal .....	45
3.1. Protozoários .....	46
3.1.1. <i>Toxoplasma gondii</i> .....	47
3.1.2. <i>Entamoeba histolytica</i> .....	51
3.1.3. <i>Giardia duodenalis</i> .....	55
4. Microbiota como fator importante para prevenir futuras infeções.....	58
4.1. Prebióticos .....	59
4.2. Probióticos .....	60
4.3. Transplante de Microbiota Fecal.....	60
4.4. <i>Blastocystis</i> .....	61
4.4.1. Ciclo de vida.....	61
4.4.2. Efeito na microbiota.....	62
5. Considerações Finais.....	63
6. Bibliografia.....	64

# Parte I

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

**Bluepharma – Indústria Farmacêutica, SA**



## **Abreviaturas**

**BPF** – Boas Práticas de Fabrico

**CQ** – Controlo de Qualidade

**CSA** – Agar de Caseína e Soja

**FTIR** – Espetroscopia de Infravermelho

**IF** – Indústria Farmacêutica

**LM** – Laboratório de Microbiologia

**LOD** – Perda por Secagem

**NAPP** – Solução Peptona-Tamponada de Cloreto de Sódio

**SDA** – Agar de Dextrose-Sabouraud

**SOPs** – *Standard Operating Procedures*

**SWOT** – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

**TAMC** – *Total Aerobic Microbial Count*

**TLC** – Cromatografia de Camada Fina

**TYMC** – *Total Yeast and Mold Count*



## I. Introdução

O farmacêutico, como agente de saúde, tem o dever de salvaguardar a melhoria da qualidade de vida da população, garantindo uma elevada qualidade nos produtos que fabrica. Ao longo dos cinco anos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, ficou claro que nós, futuros farmacêuticos, podemos contribuir para o bem-estar da população atuando nos mais diversos setores da saúde.

No que diz respeito à Indústria Farmacêutica (IF), o reconhecimento do farmacêutico nesta área tem sido notório nos últimos anos, que tem crescido exponencialmente com os avanços tecnológicos. A industrialização da produção de medicamentos tem potenciado a descoberta de novos medicamentos, mais seguros e mais eficazes, aumentando a esperança média de vida e a qualidade da mesma. O desenvolvimento destes medicamentos começa logo nas fases primordiais de investigação e termina na sua produção em massa. Ao longo destas etapas, a supervisão farmacêutica assegura o conhecimento técnico-científico e o respeito pelas boas práticas de fabrico<sup>1</sup>.

Posto isto, esta foi uma área do curso que desde cedo suscitou o meu interesse e que considerei importante experienciar antes de finalizar os estudos. Quando tomei conhecimento da oportunidade de estagiar na prestigiada empresa, Bluepharma, reconhecida pela sua inovação e excelência, resolvi candidatar-me ao estágio no departamento do Controlo de Qualidade (CQ). Depois de ter sido selecionada, passei primeiramente pelo Controlo de Qualidade de Rotina, finalizando a minha aprendizagem no Laboratório de Microbiologia (LM).

O meu Estágio Curricular foi orientado pela Dra. Cláudia Gama em colaboração com Dra. Isabel Duarte sob tutoria de Dra. Maria Inês Pratas e, posteriormente, em colaboração com Dra. Marta Madeira sob tutoria de Dra. Ana Paula Reis. O estágio teve a duração de 3 meses, de janeiro a março, com horário rotativo semanal entre as 7h30 e as 16h e entre as 14h30 e as 23h.

O presente relatório foi elaborado por meio de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), com o principal objetivo de realizar uma avaliação crítica dos procedimentos de aprendizagem e da aplicação prática de conhecimentos teóricos, mas também dar a conhecer algumas experiências que foram cruciais para o meu desenvolvimento enquanto futura farmacêutica.

## **2. Bluepharma**

A história da Bluepharma Indústria Farmacêutica iniciou-se em 2001 com a compra da unidade industrial pertencente à multinacional alemã *Bayer*, sediada em São Martinho do Bispo, Coimbra<sup>2</sup>. A empresa preza-se pela inovação, destacando-se pela sua unidade de produção excepcional, formação dos seus colaboradores e experiência e dinamismo da sua equipa de gestão<sup>3</sup>.

“A investigação e o desenvolvimento de medicamentos de elevado valor acrescentado e a contínua aposta na qualidade e inovação dos seus processos de produção e comercialização” é a missão da Bluepharma, estimando valores como Profissionalismo, Competência, Honestidade, Integridade, Transparência e Compromisso<sup>3</sup>.

Atualmente é uma empresa que conta já com mais de 750 colaboradores, uma vez que ao longo dos últimos 20 anos passou de uma única unidade industrial para um grupo farmacêutico de 20 empresas<sup>3</sup>.

A atividade da Bluepharma passa pelas mais variadas fases da cadeia de valor do medicamento, revelando uma cultura voltada para a inovação e tecnologia, apresentando soluções para o desenvolvimento de produtos graças à sua experiência na produção e comercialização, principalmente de sólidos orais<sup>4</sup>.

É uma empresa reconhecida pela sua cultura de qualidade, garantindo de forma sistemática a qualidade dos medicamentos que produz e distribui. Preocupa-se também com questões ambientais e condições de trabalho dos seus colaboradores, avaliando e monitorizando as metas de Qualidade, Meio Ambiente, Saúde e Segurança no Trabalho que são definidas no início de cada ano. Estas políticas estão em conformidade com a Qualidade, Sistemas de Ambiente, Saúde e Segurança, suportados pelas Boas Práticas de Fabrico (BPF), pelo EMAS, e pela restante legislação aplicável<sup>5</sup>.

### **2.1. Controlo de qualidade**

De acordo com as BPF, as indústrias farmacêuticas necessitam de um departamento de controlo de qualidade para garantir medicamentos seguros, eficazes e com qualidade. O controlo de qualidade na IF é constituído por procedimentos que estão corretamente documentados e validados com o intuito de avaliar a conformidade, ou não conformidade, dos medicamentos com os requisitos descritos nas suas especificações. Estas verificações aplicam-

se da matéria-prima ao produto acabado, sendo sempre obrigatório estudar os casos resultantes de não conformidades, seguindo-se da aprovação ou rejeição do medicamento<sup>6</sup>.

Na Bluepharma, o departamento de CQ é composto pelo laboratório Físico e Químico e pelo Laboratório de Microbiologia, ambos com o objetivo de avaliar princípios ativos, excipientes e formas farmacêuticas acabadas, monitorizando e assegurando os devidos padrões de qualidade. Os dois laboratórios estão devidamente equipados com tecnologias avançadas, cumprindo de forma rígida os protocolos internos, *Standard Operating Procedures* (SOPs), e métodos da Farmacopeia, documentos estes que orientam a execução das mais variadas operações por todos os operadores.

### **2.1.1 Rotina**

Tendo passado primeiramente pelo CQ Rotina, tive a possibilidade de acompanhar variados métodos físico-químicos realizados a matérias-primas, produtos intermédios e produtos acabados. De todos os ensaios desempenhados destaca-se o método Karl Fischer, Espetroscopia de Infravermelho (FTIR), Finura de Dispersão, Espetroscopia Ultravioleta, Desagregações, Cromatografia de Camada Fina (TLC), Pesos Médios, Durezas, Friabilidades e Perda por Secagem (LOD).

#### Método Karl Fischer

O método Karl Fischer é utilizado para determinar a quantidade de água presente numa amostra. Consiste numa titulação volumétrica de uma amostra diluída num álcool, o metanol, com o titulante, o reagente de Karl Fischer<sup>7</sup>.

O ensaio iniciava-se com a montagem da bureta que continha o reagente e com o enchimento do vaso de titulação com metanol. Posto isto, colocava-se o solvente a acondicionar e homogeneizava-se e pesava-se a quantidade desejada de amostra e adicionava-se depois ao vaso de titulação, garantindo sempre a maior rapidez possível entre estes passos para evitar que a amostra ganhasse água neste espaço de tempo. De seguida, era só dar início à medição no *software Tiamo*. O reagente era adicionado pela bureta automática e o ponto final era detetado e medido pelo titulador automático (Figura 1). Finalmente, os resultados eram analisados e era verificado se estes estavam de acordo com as especificações.

Este é um método bastante automatizado e simples, permitindo uma estimativa do teor de água presente nas amostras de forma exata e rápida.

## **2.1.2. Microbiologia**

No LM consegui ter uma noção geral relativamente à preparação de meios de cultura, análise da água purificada, análise microbiológica de amostras, identificação de microorganismos e validação de métodos analíticos.

### Análise microbiológica de amostras

Diariamente chegavam diferentes tipos de amostras que eram analisadas de forma a garantir a conformidade dos lotes produzidos no que diz respeito à sua qualidade e segurança microbiológica. De notar que, como se analisavam apenas amostras para produção de medicamentos sólidos orais, não estéreis, as especificações microbiológicas não eram tão restritas como seria se assim se tratasse de outro tipo de medicamentos.

Começávamos por pesar 10 g de amostra para um balão com 100mL de Solução Peptona-Tamponada de Cloreto de Sódio (NAPP) pH 7.0. Este meio tinha como função garantir a solubilidade da amostra para a etapa seguinte, podendo as especificações dos protocolos das amostras exigirem mais diluições seguidas desta. Posto isto, eram realizados ensaios quantitativos, como o *Total Aerobic Microbial Count* (TAMC) e *Total Yeast and Mold Count* (TYMC), ou qualitativos, dependendo das exigências previamente aprovadas em todos os protocolos.

No caso dos ensaios quantitativos, era utilizado um meio de crescimento diferente para o TAMC e TYMC, o Agar de Caseína e Soja (CSA) e o Agar de Dextrose-Sabouraud (SDA), respetivamente, e as amostras eram realizadas em duplicado quer para cada meio, quer para cada fator de diluição. Os resultados destes ensaios tinham de estar de acordo com os limites exigidos nas especificações da amostra.

No que diz respeito aos ensaios qualitativos, estes eram realizados com o intuito de procurar microrganismos específicos, de acordo com as especificações de cada amostra relativamente ao meio de cultura e tempo de incubação.

## **3. Análise SWOT**

A análise SWOT é um método a que muitas empresas recorrem para debaterem determinados projetos. No meu relatório irei fazer referência, numa perspetiva interna, aos aspetos que contribuirão positivamente para o meu estágio (Pontos Fortes) e aos que poderão ter afetado negativamente o mesmo (Pontos Fracos). Numa perspetiva externa, irei

expor vantagens que permitiram o meu desenvolvimento profissional (Oportunidades) e alguns aspetos que ameaçaram este mesmo desenvolvimento (Ameaças).

### **3.1. Pontos Fortes**

#### **3.1.1. “Família Blue”**

Desde o meu primeiro dia de estágio que pude experienciar o espírito de equipa, bom ambiente de trabalho e cooperação que caracteriza tão bem a empresa. Os estagiários foram recebidos pela equipa dos Recursos Humanos com uma Sessão de Acolhimento que foi essencial para nos contextualizar sobre algumas normas de funcionamento e dinâmica de trabalho da empresa. Neste primeiro contacto fomos logo bem integrados e começámos a conhecer novos colegas de trabalho.

Muitas outras atividades ao longo do estágio permitiram a criação de relações mais próximas com os colegas e tornar o ambiente de trabalho mais agradável. Um bom exemplo é o “*Breakfast with the CEO*”, um momento de proximidade e partilha de conhecimento entre os colaboradores e a administração que era realizado mensalmente. O Dr. Paulo Barradas recebia alguns colaboradores com um pequeno-almoço, desfrutando todos deste momento com uma conversa sobre os colaboradores e a empresa, perspetivas futuras, aspetos a melhorar, sugestões ou apenas curiosidades que gostassem de ver discutidas com o Presidente da Bluepharma. Existiam também dias temáticos que eram celebrados com decorações, jogos e atividades, como aconteceu no Dia dos Namorados, no Carnaval e no Dia Internacional da Mulher.

Além destas dinâmicas, a empresa realiza todos os verões o *BlueFun*, um dia relaxado e divertido fora das instalações que é dedicado aos seus colaboradores. Tem também uma equipa de corrida, os *Bluerunners*, da qual qualquer colaborador pode fazer parte e participar nas mais variadas atividades promovidas por esta equipa.

#### **3.1.2. Autonomia**

A autonomia que me foi dada como estagiária foi muito importante para a evolução das minhas competências nesta área. Depois dos primeiros tempos de integração, aprendizagem de Boas Práticas Laboratoriais, leitura de SOPs e acompanhamento das variadas tarefas realizadas pelas minhas formadoras, foi-me dada liberdade para começar a executar as tarefas sozinha, permitindo-me consolidar tudo o que tinha aprendido até então.

Assim, considero que a confiança depositada no estagiário foi, sem dúvida, um ponto forte no meu estágio. Permitiu-me adquirir conhecimentos mais rapidamente, testar a minha destreza em determinadas tarefas laboratoriais e sentir-me útil na empresa, o que me manteve motivada e a trabalhar com gosto.

### **3.1.3. Gestão de tempo**

Este estágio contribuiu para me tornar mais disciplinada e gerir melhor o meu tempo. Tinha de organizar o meu dia consoante as amostras, reagentes e equipamentos disponíveis, e a necessidade de resultados, de forma a conseguir cumprir as minhas tarefas todas dentro do prazo. Quando voltar a trabalhar numa área tão exigente em termos de organização do tempo útil, certamente estarei mais preparada e já conhecerei algumas estratégias e metodologias que me ajudaram neste sentido.

### **3.1.4. Conhecimento mais aprofundado no Microsoft Excel**

O dia-a-dia no estágio exigia um contacto permanente com o Microsoft Office Excel, uma vez que quase todos os dados eram transferidos para documentos neste formato. Tivemos algumas formações para aprendermos a utilizar melhor este programa e com esta ajuda, consegui alargar o meu conhecimento relativamente a esta ferramenta.

Seguramente considero que este é um ponto forte do meu estágio, já que atualmente o Excel é muito utilizado pela grande maioria das empresas e, neste estágio, consegui melhorar a minha *performance* no mesmo.

### **3.1.5. Metodologia Kaizen**

A metodologia *Kaizen* é utilizada em todas as dinâmicas da empresa. É uma palavra japonesa com duas partes, “*kai*” que significa mudança e “*zen*” que significa bom, que juntas significam melhoria. As abordagens *Kaizen* são baseadas no conceito de melhoria contínua, uma prática que visa diminuir o desperdício, melhorar a eficiência e qualidade, em que toda a equipa deve estar envolvida<sup>8</sup>.

Esta cultura de melhoria contínua é praticada por todos os setores da Bluepharma, através da otimização de processos, redução de custos e tempo, e eliminação de desperdícios. No caso específico dos laboratórios, todos os locais de armazenamento de materiais, equipamentos e reagentes estavam organizados e devidamente identificados com etiquetas, permitindo um acesso mais rápido aos mesmos. Cada equipamento tinha o respetivo *LogBook*

associado onde era necessário registar cada utilização com uma breve explicação da tarefa realizada, data e assinatura, o que tornava o rastreamento de erros em análises ou equipamentos mais simples.

Diariamente eram realizadas reuniões *Kaizen* com as equipas do turno da manhã e tarde. Estas reuniões eram feitas com o objetivo de cada colaborador atualizar o resto da equipa sobre o decorrer do seu trabalho, já que muitas das vezes com a troca de turnos era necessário dar continuidade às análises iniciadas da parte da manhã. Discutiam-se também eventuais problemas no laboratório, eram expostas dúvidas, preocupações e onde se trocavam ideias-chave para desempenhar corretamente as tarefas diárias.

Além destas reuniões diárias, no último dia da semana era apresentado o plano de trabalho da semana seguinte, em que constavam as tarefas individuais e tarefas de equipa, como a calibração e limpeza de equipamentos. Este plano semanal era debatido para garantir que todos os colaboradores estavam de acordo e para ser possível eventuais mudanças no plano consoante necessidades pontuais.

Esta metodologia permitiu-me experienciar um ambiente de trabalho organizado e harmonioso.

### **3.1.6. Comunicação interna**

Outro ponto forte do meu estágio foi a facilidade de comunicação entre departamentos. Todos tínhamos uma conta no Microsoft Teams e era através desta ferramenta que comunicávamos com colegas e assistíamos a reuniões *Kaizen* quando havia impossibilidade de assistir presencialmente.

Além desta ferramenta, tínhamos disponível um *email* da empresa em que recebíamos todo o tipo de comunicações necessárias sobre formações, atividades, auditorias e informações sobre avarias gerais de sistemas ou máquinas.

Tínhamos também acesso a um *SharePoint* que servia como um portal interno da empresa que possibilitava o acesso a várias plataformas como o Sucess Factors, onde realizávamos várias formações *online* e respetivos exames, o Veeva Vault, onde tínhamos acesso a documentos como SOPs e procedimentos analíticos, o ServiceDesk, onde podíamos realizar pedidos de material de laboratório ao departamento de Segurança e Saúde no Trabalho ou comunicar problemas informáticos com o departamento de Informática.

## **3.2. Pontos Fracos**

### **3.2.1. Duração do estágio**

Na minha perspetiva um dos pontos fracos foi a duração do estágio. Considero que os 3 meses de estágio em Indústria Farmacêutica foram o necessário para me integrar no funcionamento da empresa, mas serviram apenas como uma breve introdução ao mundo da produção de medicamentos. Era necessário mais tempo para estar a par de mais procedimentos e conceitos, poder ter um contacto mais próximo com os outros departamentos da IF e ter um maior crescimento enquanto futura farmacêutica.

No meu caso em específico, como tive dois meses no CQ Rotina e depois um mês no CQ Microbiologia, senti que o tempo neste último departamento não foi suficiente, consegui ter uma noção geral, mas precisava de mais tempo de estágio para interligar e praticar tudo o que tinha aprendido.

### **3.2.2. Registos e documentação**

Um grande pilar da empresa, que garante a qualidade dos seus produtos e serviços que presta, é o seu forte sistema de registo e documentação. Na Bluepharma todas as atividades realizadas nos laboratórios têm de ser explicitamente registadas em *LogBooks*, datadas e rubricadas pelo operador. Com alguma periodicidade todos os *LogBooks* são verificados para garantir que todas as tarefas foram realizadas de acordo com os procedimentos e BPF e, posteriormente, arquivados.

No entanto, enquanto estagiária por um curto período, senti que estas tarefas tiravam tempo útil e diminuía a produtividade do trabalho. Em algumas circunstâncias, eram registos extensos e demorados que, se fossem mais automatizados, contribuía para um melhor aproveitamento de tempo.

## **3.3. Oportunidades**

### **3.3.1. Formação constante**

No plano de integração dos estagiários estava incluído um conjunto de formações obrigatórias, que nos instruíam para estarmos habilitados a trabalhar na empresa. Formações em Melhoria Contínua, Segurança no Trabalho, Boas Práticas Laboratoriais, introdução a conceitos informáticos e plataformas da empresa, metodologia *Kaizen* e Assuntos Regulamentares. No final das formações tínhamos um exame de carácter obrigatório onde éramos avaliados de forma a perceber se tínhamos ficado esclarecidos quanto aos conceitos



apresentados e no caso de termos dúvidas e não conseguirmos passar no exame era marcada uma reunião com o formador para nos esclarecer.

Além disto, a minha orientadora de estágio inscrevia-me em todas as formações relacionadas com o Controlo de Qualidade, nomeadamente de revisão de procedimentos analíticos, apresentações de novas técnicas de análise e formações de manuseamento de equipamentos.

Os estagiários eram também incluídos em formações mais gerais de outros departamentos com o intuito de adquirirmos o máximo de conhecimentos. Tive formações no departamento de Desenvolvimento Analítico, *Scale Up* e Produção. Estas permitiram-me consolidar aprendizagens e adquirir novas no que diz respeito ao circuito do medicamento.

### **3.3.2. Familiarização com outras áreas da IF além do CQ**

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de conhecer os mais variados setores que integram a empresa através da iniciativa *Lights on*. Consistia numa visita guiada em que nos podíamos inscrever para irmos conhecer o modo de funcionamento de outras unidades da empresa como a Embalagem, Produção, Investigação, entre outras. Isto permitiu-me ter uma ideia mais clara de como funciona uma Indústria Farmacêutica e suscitou-me curiosidade em conhecer melhor algumas das outras áreas da indústria. Além da partilha de saberes permite também aproximar colaboradores de diferentes áreas.

### **3.3.3. Contextualização do trabalho de um farmacêutico numa IF**

A possibilidade de estagiar numa Indústria Farmacêutica esclareceu-me relativamente à aplicação prática de conhecimentos teóricos que obtive ao longo do curso e que, até então, ainda não tinha conseguido perceber de que forma encaixariam no contexto profissional do farmacêutico. Conceitos abordados nas Unidades Curriculares de Assuntos Regulamentares, Gestão e Garantia da Qualidade, Métodos Instrumentais de Análise e Tecnologia Farmacêutica foram muito oportunos para o meu estágio, tendo agora uma perspetiva diferente da aplicabilidade destes mesmos conceitos.

Antes da realização deste estágio tinha uma ideia pré-concebida muito diferente da realidade de trabalho nesta área, tendo ficado claro que existem muitas mais valências de um farmacêutico que podem ser aplicadas na IF do que as que pensava que seriam possíveis. Desta forma, consegui perceber se para a minha atividade profissional esta seria uma área que futuramente gostaria de exercer.

### **3.4. Ameaças**

#### **3.4.1. Exigência do mercado de exportação**

O crescimento da empresa, nomeadamente a nível do mercado de exportações, trouxe mais exigências nas etapas do circuito do medicamento. Os requisitos dos compradores requerem a um controlo mais minucioso dos parâmetros de qualidade, eficácia e segurança, levando a uma maior frequência de auditorias e a uma sobrecarga de atividades que são realizadas pelos colaboradores, que têm de estar em constante atualização das alterações exigidas.

Este melhoramento de técnicas, procedimentos e equipamentos, obriga a uma constante atualização de documentos e normas, que dificultam a aprendizagem de quem ainda está a tentar perceber a forma de funcionamento deste mundo farmacêutico.

#### **3.4.2. Pouco contacto prático com equipamentos**

A falta de contacto com equipamentos utilizados a nível industrial durante os cinco anos de curso tornou o meu processo de aprendizagem e manuseamento dos mesmos menos intuitivo e mais demorado.

## 4. Considerações Finais

A Indústria Farmacêutica é uma das diversas áreas de atuação do farmacêutico. Finalizado o meu estágio nesta área, tendo em conta as nossas polivalências e facilidade de adaptação, concluo que este é um setor da saúde muito interessante de trabalhar futuramente e com várias perspetivas de progressão a nível profissional.

A Bluepharma, pela sua inovação, excelência e distinção, teve um contributo muito importante no meu crescimento enquanto futura farmacêutica. Estou mais elucidada relativamente ao ciclo de vida do medicamento, mas também aprendi a trabalhar em equipa, a ser persistente e a fazer uma melhor gestão do meu tempo.

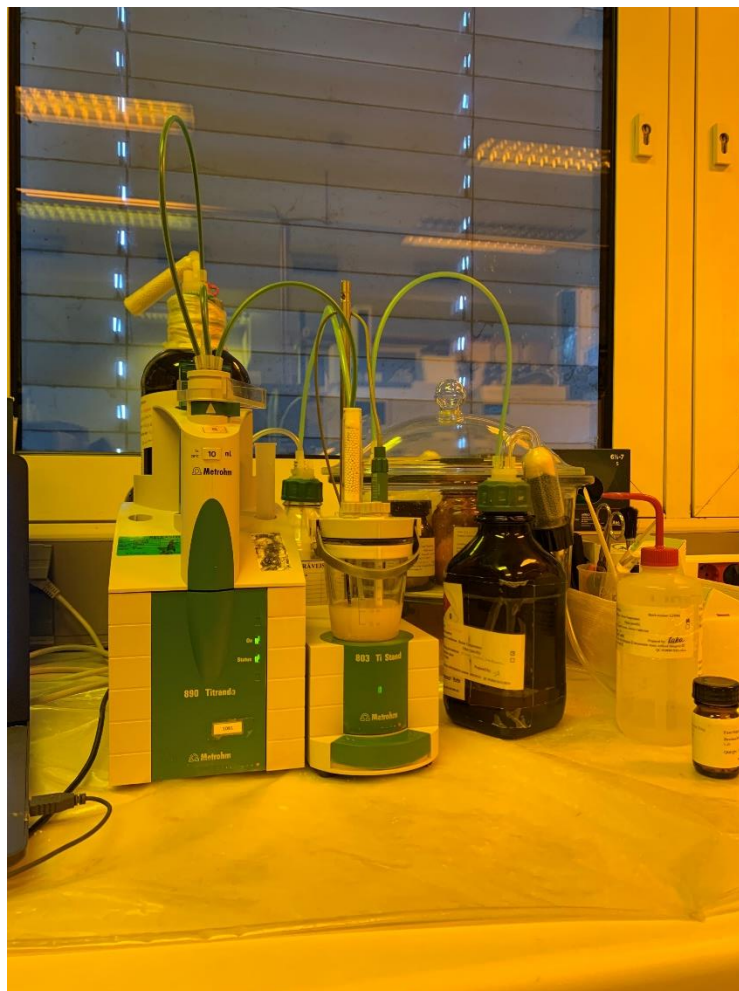
Ao longo dos cinco anos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas pude desenvolver conhecimentos que foram indispensáveis para a realização deste estágio com sucesso.

Tenho a agradecer a todos os meus colegas que me acolheram tão bem, em especial à Dra. Cláudia Gama, Dra. Isabel Duarte e à Dra. Maria Inês Pratas, com quem tive o enorme prazer de aprender e tornaram a minha passagem pela Bluepharma mais bonita. À equipa da Microbiologia, em especial à Dra. Marta Madeira, Dra. Ana Paula Reis e Dra. Sara Silvestre, que num mês me conseguiram mostrar como é bom trabalhar nesta equipa e me fizeram sentir em casa.

## 5. Bibliografia

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Indústria farmacêutica** [Consultado a 25 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/industria-farmaceutica/>
2. BLUEPHARMA – **Projetos financiados** [Consultado a 25 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.bluepharmagroup.com/pt/contactos/projectos-financiados>
3. BLUEPHARMA – **Empresa** [Consultado a 25 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.bluepharmagroup.com/pt/sobre-nos/empresa>
4. BLUEPHARMA – **Inovação** [Consultado a 25 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.bluepharmagroup.com/pt/sobre-nos/inovacao>
5. BLUEPHARMA – **Capacidade industrial** [Consultado a 25 de abril de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.bluepharmagroup.com/pt/desenvolvimento-do-negocio/capacidade-industrial>
6. INFARMED – **Legislação farmacêutica compilada, Título II, Capítulo II** [Consultado a 25 de abril de 2023]. Disponível na Internet: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067108/portaria\\_42\\_92.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067108/portaria_42_92.pdf)
7. BRUTTEL, Peter; SCHLINK, Regina – Water Determination by Karl Titration. **Metrohm** (2006)
8. GOYAL, Simran ; LAW, Elizabeth - An introduction to Kaizen in health care. **British Journal of Hospital Medicine**. ISSN 1759-7390. 80:3 (2019) 168-169.

## Anexos



**Figura I** – Titulador automático utilizado para a determinação da água pelo método Karl Fischer.  
(Fonte: Autoria própria)

# Parte II

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

**Farmácia Cortesão**



Farmácia Cortesão

## **Abreviaturas**

**DCI** – Denominação Comum Internacional

**FFUC** – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

**OTC** – *Over The Counter*

**PIM** – Preparação Individualizada da Medicação

**SWOT** – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## I. Introdução

A importância do farmacêutico no contexto da Saúde Pública tem vindo a ser reconhecida exponencialmente nos últimos anos, especialmente na Farmácia Comunitária. A prática farmacêutica passou de ser tão focada nos medicamentos e substâncias medicamentosas e passou a focar-se mais no cidadão. A acompanhar esta evolução, a dispensa propriamente dita do medicamento deixou de ter a importância que tinha e os serviços de apoio à comunidade foram ganhando espaço no atendimento farmacêutico.

Pela sua privilegiada relação de proximidade com os utentes, o farmacêutico tem um papel essencial na promoção da literacia em saúde, particularmente no uso racional e correto dos medicamentos, na adesão à terapêutica e no combate ao desperdício. Deve ainda estar atento para detetar situações de risco, identificar precocemente doenças e promover um estilo de vida mais saudável.

Os farmacêuticos comunitários estão cada vez mais preocupados em assegurar um maior número de serviços essenciais para a saúde dos seus utentes, quer a nível preventivo, quer a nível de tratamento. Especificamente, através de Acompanhamento Farmacoterapêutico, em que é feita periodicamente uma revisão e otimização da terapêutica com o objetivo de alcançar determinados objetivos terapêuticos. Podem também prestar serviços de Preparação Individualizada da Medicação (PIM) para promover a adesão à terapêutica. Dispõem ainda das ferramentas e qualificação necessárias para a determinação de alguns parâmetros como a pressão arterial, glicémia, colesterol, índice de massa corporal, cálculo de risco cardiovascular, entre muitos outros testes que podem ser realizados de forma cómoda e rápida<sup>1</sup>.

No plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) está incluindo a realização de um Estágio Curricular em Farmácia Comunitária. Este estágio permite estabelecer uma conexão entre o contexto de aprendizagem e a atividade profissional, aplicando os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo dos cinco anos de estudo no contexto da vida real. É uma etapa crucial para nós, futuros farmacêuticos, estarmos preparados para a entrada no mercado de trabalho enquanto profissionais de saúde devidamente formados.

O meu Estágio Curricular foi realizado na Farmácia Cortesão, sob a orientação da Diretora Técnica Dra. Rosa Cartaxo Lima, durante os meses de abril a julho de 2023.

O presente relatório foi elaborado por meio de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), com o principal objetivo de realizar uma avaliação crítica



dos procedimentos de aprendizagem e da aplicação prática de conhecimentos teóricos, mas também dar a conhecer algumas experiências que foram cruciais para o meu desenvolvimento enquanto futura farmacêutica.

## **2. Farmácia Cortesão**

A Farmácia Cortesão localiza-se na Rua do Padroeiro, em São Silvestre, Coimbra.

A entrada da farmácia dispõe de uma rampa para permitir uma maior facilidade de entrada a pessoas com mobilidade reduzida. Dentro do estabelecimento existe uma zona ampla de atendimento onde podem ser encontrados lineares com produtos sazonais, produtos para bebé e mamã, dermocosmética, suplementos alimentares, produtos veterinários e possui 4 balcões de atendimento. Tem um gabinete de atendimento, onde são realizados os serviços farmacêuticos, uma zona de *backoffice*, onde é dada a entrada de encomendas, uma casa de banho, um gabinete da direção, um laboratório, onde são preparados manipulados, e um armazém, onde são guardados os excessos de medicamentos e outros produtos.

O horário de funcionamento da farmácia é de segunda a sexta-feira das 9h às 19h30, sábados das 9h às 13h e domingos e feriados das 10h às 12h30.

## **3. Análise SWOT**

A análise SWOT é um método a que muitas empresas recorrem para debaterem determinados projetos. No meu relatório irei fazer referência, numa perspetiva interna, aos aspetos que contribuíram positivamente para o meu estágio (Pontos Fortes) e aos que poderão ter afetado negativamente o mesmo (Pontos Fracos). Numa perspetiva externa, irei expor vantagens que permitiram o meu desenvolvimento profissional (Oportunidades) e alguns aspetos que ameaçaram este mesmo desenvolvimento (Ameaças).

### **3.1. Pontos Fortes**

#### **3.1.1. Equipa técnica**

A equipa técnica da Farmácia Cortesão é uma equipa jovem, dinâmica e competente. Desta equipa fazem parte 5 Farmacêuticos (a Direta Técnica, Dra. Rosa Cartaxo Lima, Dra. Teresa Nunes, Dr. Diogo Sousa, Dra. Gabriela Antunes e Dra. Luzia Tavares) e 2 Técnicos de Farmácia (Dr. Francisco Teixeira e Dr. Rafael Macedo). O espírito de equipa, profissionalismo,

boa-disposição e simpatia são palavras-chave imprescindíveis para fazer uma breve caracterização da equipa. Desde o meu primeiro dia de estágio que todos os profissionais me acolheram e integraram nesta “equipa maravilha”. Deram-me liberdade para questionar, errar, aprender e crescer, não só profissionalmente, mas de forma pessoal.

Todos eles me inculiram a importância de prezar a relação de proximidade que existe na farmácia com os seus utentes, transmitiram conhecimento e conceitos importantes, motivaram-me a melhorar, ajudaram-me gradualmente a aumentar a minha confiança no atendimento e a destacar as minhas qualidades.

Sem dúvida que o sentimento de dever cumprido e sucesso ao finalizar os quatro meses de estágio se devem, em grande parte, à equipa da Farmácia Cortesão. Proporcionaram-me uma experiência enriquecedora e bastante produtiva.

### **3.1.2. Utentes**

Uma parte considerável dos utentes da Farmácia Cortesão tem acompanhado ao longo dos vários anos o desenvolvimento da farmácia e da sua equipa técnica, tendo por isso uma “Ficha de Utente” já criada. Esta relação de fidelização e proximidade com os seus utentes permite aos profissionais de saúde realizarem um acompanhamento mais pessoal dos seus utentes, sendo mais fácil perceber situações que indiquem algum tipo de patologia, e um atendimento mais seguro porque já estão a par do histórico do utente.

No entanto, por ser uma farmácia com uma boa reputação na zona e que está a par das novas tendências e produtos, acaba por atrair novos clientes diariamente o que é vantajoso, não só a nível económico, mas também a nível profissional. Esta heterogeneidade de utentes, quer a nível de faixa etária, condição socioeconómica e patológica permite-nos atuar em situações bastante diversas, o que promove uma constante necessidade de atualização do conhecimento e uma adaptação do atendimento consoante o utente que se apresenta na farmácia.

Assim, posso concluir que não só tive a oportunidade de fazer um acompanhamento e estudo mais próximo de alguns utentes, mas experienciar atendimentos mais desafiantes diariamente.

### **3.1.3. Automatização da farmácia**

A farmácia dispunha de um equipamento, o CashGuard®, que servia como caixeiro e que realizava todas as tarefas relacionadas com dinheiro físico, nomeadamente trocos e

devoluções de dinheiro, ficando cada movimento registado no sistema da máquina. Este equipamento facilitava bastante na parte final do atendimento, minimizando alguns erros humanos que podiam ser cometidos com trocos, mas permitia também que o fecho de caixa no final do dia fosse bastante mais simples pois fazia contagem automática do dinheiro físico e, caso houvesse algum tipo de dúvida com algum pagamento, eram facilmente consultados os movimentos.

#### **3.1.4. Colaboração com o Lar de Meãs e Quimbres**

A Farmácia Cortesão tem uma parceria com o Lar de Meãs e Quimbres. Ao longo da semana, consoante necessário por parte das instituições, eram realizadas entregas da medicação aos utentes desses mesmos estabelecimentos.

Comecei logo no início do meu estágio a tratar deste tipo de pedidos, que não exigiam a mesma celeridade e destreza na sua preparação, já que eram apenas uma “simulação” de um atendimento e podia demorar o meu tempo a trabalhar com o Sifarma<sup>®</sup> e a procurar os medicamentos.

Com a realização destas tarefas, quando comecei a atender ao balcão senti-me mais confiante e estava mais preparada.

#### **3.1.5. Plano de estágio**

Iniciei o meu estágio com a apresentação das instalações, da equipa técnica, modo de funcionamento da farmácia e serviços realizados. Foi-me explicado como iria funcionar o meu estágio, começando nos primeiros dias com uma vertente mais observacional, passando para tarefas de *backoffice* e culminando com o atendimento ao público.

Numa fase inicial comecei, então, com tarefas de *backoffice* como receção de encomendas e posterior arrumação de medicamentos. Quando estava mais ambientada com o sistema informático, comecei a tratar de devoluções e regularizações das mesmas, a gerir reservas e a fazer encomendas. Além destas tarefas, comecei por aprender a realizar PIM, a preparar os pedidos dos lares, a acompanhar as tarefas de disposição de lineares e tratamento de campanhas. A nível do atendimento, fui acompanhando os que eram realizados por vários colegas de equipa.

Numa fase mais avançada, além de continuar as tarefas que já fazia anteriormente, foi-me dada mais liberdade. Comecei a realizar alguns serviços disponíveis na farmácia, como medição da pressão arterial e medição da glicémia. Iniciei o atendimento ao público,

primeiramente acompanhada e depois sozinha. Fiquei responsável pela gestão de alguns lineares.

Todas as etapas tiveram o seu tempo e passei progressivamente pelas várias fases de estágio. As tarefas iniciais de *backoffice*, como a arrumação de medicamentos e outros produtos, eram cruciais para um bom funcionamento do atendimento, já que este poderia ser mais demorado graças a produtos mal-arrumados e stocks errados.

Em todas as fases pude contar com a ajuda de toda a equipa técnica, sempre disponíveis para esclarecer qualquer dúvida e ajudarem quando tinha maior dificuldade.

## **3.2. Pontos Fracos**

### **3.2.1. Falta de preparação para o atendimento**

Ao longo dos cinco anos do MICEF, a formação teórica na área do medicamento é de excelência. Um estudante deste curso sai devidamente preparado a nível da Farmacologia, que tem uma componente muito forte. No que diz respeito a áreas como a Veterinária, Ortopedia e Puericultura, senti alguma dificuldade no aconselhamento aos utentes.

Além da dificuldade que tive em aconselhar em determinadas áreas, também senti dificuldade a nível da comunicação. Nos primeiros tempos estava mais nervosa e pouco à vontade no diálogo com os utentes, pelo que considero que teria sido relevante termos algum tipo de preparação prévia a este nível antes de realizarmos atendimento ao público, formações de estratégias de comunicação e de postura corporal teriam sido importantes.

### **3.2.2. Denominação Comum Internacional (DCI) e Nome Comercial**

Depois de cinco anos de curso a usar a DCI, ao chegar à farmácia senti alguma dificuldade inicial em associar os princípios ativos aos seus nomes comerciais. Com o atendimento esta dificuldade foi, progressivamente, melhorando.

## **3.3. Oportunidades**

### **3.3.1. VALORMED**

O contributo dos farmacêuticos na preservação do ambiente é muito importante. Este pode ser feito através da participação em diversos programas de reciclagem, como campanhas de recolha de radiografias, ou de gestão de resíduos, como o VALORMED.

A Farmácia Cortesão faz parte do conjunto de farmácias que participa nas recolhas de VALORMED. É um programa sem fins lucrativos que é responsável pela gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso de origem doméstica<sup>2</sup>.

Atualmente, é uma iniciativa com muita aderência por parte dos utentes da farmácia, tendo começado inicialmente por ser introduzida e promovida pela equipa técnica, mas sendo já uma prática habitual pela maioria dos utentes.

### **3.3.2. Formações**

Ao longo do meu estágio recebi várias formações, *online* e presenciais, das mais variadas áreas. Foi uma forma útil de ficar a conhecer melhor os produtos e poder aconselhá-los com maior segurança e de forma mais esclarecedor para o utente. Consegui consolidar conhecimentos e preencher alguns falhas de informações em determinadas gamas de produtos.

Nomeadamente na área dos suplementos alimentares e dermocosmética senti que as formações foram realmente aproveitadoras. A grande oferta deste tipo de produtos pode tornar a escolha de um deles na hora do aconselhamento ao utente mais complicada. Assim, conhecendo características chave dos produtos, ingredientes importantes e contra-indicações, consegui realizar aconselhamentos mais direcionados à necessidade de cada utente.

### **3.3.3. Sistemas informáticos**

O meu estágio foi realizado numa fase de transição de sistemas informáticos, o que me permitiu ainda ter algum contacto com o Sifarma 2000<sup>®</sup>, que ainda é utilizado para *backoffice*. O módulo de atendimento é já realizado no novo Sifarma<sup>®</sup>.

Este processo transitório facilitou a minha aprendizagem com o sistema informático, já que consegui acompanhar o resto da equipa que também estava num processo de auto-aprendizagem, descoberta e em formações, mas também porque este novo sistema é muito mais intuitivo, simples e vem com menos erros.

## **3.4. Ameaças**

### **3.4.1. Medicamentos esgotados**

Um grande obstáculo atualmente na farmácia comunitária são os medicamentos esgotados. Aquando da receção de encomendas esta foi uma questão que me comecei a

aperceber pela falta de inúmeros medicamentos diariamente, mas foi quando passei para o atendimento que percebi a grandeza desta preocupação.

Embora algumas vezes existissem outras opções disponíveis, como acontecia quando esgotava um medicamento de marca e existiam medicamentos genéricos disponíveis, aconteceu de forma recorrente não conseguirmos garantir a continuidade do tratamento farmacológico de vários utentes nossos. O Ozempic<sup>®</sup>, Victoza<sup>®</sup> e Trulicity<sup>®</sup> são exemplos de medicamentos que durante todo o meu estágio estiveram rateados devido à sua indisponibilidade.

Era uma questão complicada de gerirmos, mas a farmácia criou listas internas de espera, organizadas de forma cronológica, para garantir o acesso à medicação da forma mais justa possível.

Estas falhas prejudicam não só os utentes, que são obrigados a suspender ou adiar o início das suas terapêuticas, mas também a farmácia e equipa técnica, que acabou por ficar várias vezes em posições sensíveis com os seus utentes por incapacidade de cumprir com as expectativas e necessidades dos mesmos.

### **3.4.2. Mercado competitivo**

O mercado de produtos de venda não exclusiva em farmácia, como os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) e os *Over The Counter* (OTC), têm sofrido quedas drásticas nas farmácias. A venda destes tipos de produtos passou em grande quantidade para locais como as parafarmácias e as lojas *online*.

De acordo com o Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto, relativamente à possibilidade de venda de MNSRM fora farmácia, é referido no artigo 2 que “a venda de medicamentos fora das farmácias só pode ser feita por farmacêutico ou por técnico de farmácia ou sob a sua supervisão”<sup>3</sup>. Esta realidade de garantia de um profissional qualificado no aconselhamento destes produtos bem sabemos que nem sempre se verifica, pondo em causa a segurança dos utentes e o uso racional de MNSRM.

É importante sensibilizar a população que, embora realmente possam conseguir preços mais acessíveis nesses locais, o aconselhamento informado, esclarecedor e seguro que seria de esperar que fosse realizado, não acontece. Desde informações relativas a possíveis interações, contra-indicações e posologia ficam por dar a conhecer ao utente, podendo afetar não só a sua saúde, mas a própria eficácia do produto comprado.

Aconteceu-me algumas vezes durante o meu estágio, utentes deslocarem-se à farmácia para pedirem aconselhamento nas mais variadas áreas, principalmente em dermocosmética e suplementação alimentar e, finalizado o aconselhamento, referirem que iriam comprar os produtos “numa loja mais barata”. Esta realidade vem demonstrar que as pessoas realmente confiam no farmacêutico e recorrem a ele para se aconselharem, mas nem sempre valorizam o seu trabalho.

Isto realça a necessidade de dignificação do trabalho do farmacêutico, um profissional de saúde de carácter indispensável na sociedade e de elevada competência.

## **4. Casos Práticos**

### **Caso I**

Uma senhora de 50 anos dirigiu-se à farmácia porque lhe tinha aparecido uma “marca” na zona lombar que lhe provocava muita comichão, sensação de formigueiro e dor, referiu que estava de férias e não se podia dirigir ao seu centro de saúde. No gabinete, ao analisar a zona afetada vi erupções cutâneas unilaterais na zona lombar que me pareceram características de uma manifestação de Zona. Expliquei-lhe a importância de quando voltasse de férias ir ao médico para impedir o agravamento da situação e prevenir futuras complicações. Para atenuar os sintomas que me tinha descrito anteriormente aconselhei: Ducray® Diaseptyl Spray, que tem digluconato de clorexidina a 0,2% para limpar e desinfetar as erupções cutâneas de forma suave<sup>4</sup>, Fucidine® creme, com ácido fusídico, um antibiótico tópico para evitar co-infeções bacterianas, um creme gordo com ceramidas para acalmar a pele, o Cera Ve® Moisturising Cream, e um medicamento para alívio das dores, sugeri-lhe o Paracetamol 500mg uma vez que tomava anticoagulantes orais.

Como medidas não farmacológicas mencionei a utilização de roupas largas, aplicação de compressas frias sobre as erupções, evitar o tocar diretamente nas erupções, tentando cobri-las sempre que possível, fazer uma correta lavagem das mãos após o contacto com as mesmas e evitar o contacto com grupos de risco e pessoas que não tiveram varicela.

### **Caso II**

Uma utente dirigiu-se à farmácia referindo que estava a ir à casa de banho urinar com elevada frequência e que lhe causava ardor, fez referência também que nos últimos meses esta situação andava a ser recorrente. Como acompanhávamos o histórico da senhora, sabia que

tinha começado a tomar o Forxiga recentemente pelo que a alertei para a necessidade de ir ao seu médico e fazer referência à possibilidade de este medicamento lhe poder estar a causar infeções urinárias recorrentes.

Para tratamento dos sintomas da infeção urinária aconselhei, o suplemento Systelle<sup>®</sup>, com extrato de Uva-ursina, reconhecido pelas suas atividades antisséticas, antibacterianas e diuréticas<sup>5</sup>, um gel de limpeza íntima, o Lactacyd<sup>®</sup> Pharma com prebióticos, especialmente desenvolvido para mulheres com tendência a infeções vaginais, uma vez que ajuda a repor a flora vaginal<sup>6</sup>, e outras medidas não farmacológicas como fazer uma correta higiene, evitar longos períodos sem urinar e beber bastante água.

### **Caso III**

Uma jovem de cerca de 25 anos recorreu à farmácia para aconselhamento de uma rotina de *skincare*. Apresentava algumas características na pele que indicavam que tinha rosácea, pois tinha alguma vermelhidão na zona central do rosto e pequenos vasos sanguíneos visíveis. Depois de lhe ter feito algumas questões, referiu-me que a sua pele era bastante intolerante a produtos com cheiro forte.

Comecei por lhe explicar que para uma boa rotina de pele não precisava de muitos produtos, desde que garantisse 3 passos essenciais: Limpeza, Hidratação e Proteção. Para o primeiro passo aconselhei um gel de limpeza delicado, o Sensibio Gel Moussant da Bioderma<sup>®</sup>, adequado para peles sensíveis. No que diz respeito à hidratação, recomendei um hidratante que acalmasse a pele e prevenisse e trata-se a vermelhidão, o creme Sensibio AR da Bioderma<sup>®</sup>. Finalmente, alertei para a importância da utilização diária de proteção solar, já que o sol é um dos fatores desencadeantes de vermelhidão, recomendei-lhe o Foto Ultra Redness da Isdin<sup>®</sup>.

Além disto, sugeri algumas medidas gerais, nomeadamente que devia evitar fatores desencadeantes de rubor como o álcool e comidas muito picantes e evitar mudanças de temperatura bruscas e exposição excessiva ao sol.

### **Caso IV**

Um jovem deslocou-se à farmácia queixando-se de que tinha estado 3 dias na praia e lhe tinham aparecido umas borbulhas em algumas zonas do corpo, nomeadamente no peito, antebraço e pernas. Referiu que lhe causava muita comichão e pediu uma solução porque ainda queria fazer mais uns dias de praia.



Recomendei-lhe a toma de um comprimido diário de um anti-histamínico oral para alívio dos sintomas, a cetirizina, preferencialmente à noite já que lhe poderia causar sonolência. Aconselhei a utilização da Água Termal da La Roche Posay<sup>®</sup>, com propriedades calmantes e reparadoras da pele sensibilizada, para aplicar quando sentisse maior desconforto nas zonas afetadas, e do creme Intensive Baume da gama Atoderme da Bioderma<sup>®</sup>, um creme ultracalmante e nutritivo, sem perfume e indicado para a pele sensível, para utilizar depois do banho<sup>7</sup>.

Elucidei-o de que deveria ser uma reação alérgica à exposição solar, pelo que seria importante nos dias seguintes evitar a exposição nas horas de muito calor. Para prevenir de uma situação semelhante no verão seguinte, indiquei um tratamento com beta-caroteno, como o BioActivo Caroteno, pelo menos 1 mês antes da exposição solar.

### **Caso V**

Um senhor dirige-se à farmácia queixando-se que ultimamente lhe tinham aparecido uma descamação da pele entre os dedos dos pés, que lhe ardia, provoca muita comichão e tinha mau cheiro.

Contextualizei-o de que muito provavelmente se trataria de pé de atleta e reforcei a importância de seguir o tratamento que lhe recomendaria de seguida para evitar futuras complicações. Indiquei-lhe o Canesten<sup>®</sup> pó, um antifúngico cutâneo com clotrimazol, para colocar nas meias e calçado, de preferência de manhã, e a versão em creme deste mesmo antifúngico, o Canesten<sup>®</sup> creme, para aplicar topicamente em toda a zona afetada 2 a 3x por dia. Realcei também a importância de seguir algumas medidas não farmacológicas, não só para o tratamento ser mais eficaz, mas para prevenção de uma reinfeção. Era importante trocar de sapatos diariamente ou se ficassem molhados, usar preferencialmente meias de algodão, secar de forma cuidadosa os pés depois do banho, especialmente os espaços interdigitais, e evitar partilhar calçado e toalhas.

## **5. Considerações Finais**

Finalizados quatro produtivos meses de estágio em Farmácia Comunitária, ficou claro que o papel do farmacêutico comunitário vai muito além da dispensa do medicamento e tem uma importância inquestionável na literacia da população relativamente a questões de saúde.

As aprendizagens teóricas obtidas nestes cinco anos de curso foram consolidadas neste estágio, tendo ficado claro que um estudante de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas tem à sua disposição tudo o que é necessário para ser um excelente profissional de saúde, bem-sucedido, competente e qualificado.

Uma etapa terminada com enorme motivação para ser uma boa profissional, com vontade de continuar a aprender e a meter em prática todos os ensinamentos que apreendi neste estágio, sempre com o objetivo de ajudar a população e contribuir da melhor forma possível para o seu bem-estar.

Termino com mais uma palavra de gratidão aos meus colegas, e amigos, Dr. Diogo, Dra. Gabriela, Dr. Francisco, Dr. Rafael, Dra. Teresa e Dra. Luzia, e um agradecimento especial à Dra. Rosa. O contributo desta equipa técnica nesta etapa tão importante do meu percurso académico foi essencial para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

## 6. Bibliografia

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Farmácia comunitária** [Consultado a 9 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. VALORMED – **Posicionamento** [Consultado a 9 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://valormed.pt/quem-somos/posicionamento/>
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE – **Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto**. Diário da República, Série I-A. n.º 156/2005 (2005), p. 4763-4765.
4. DUCRAY – **Diaseptyl spray a 0,2%** [Consultado a 9 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.ducray.com/pt-pt/p/spray-a-0-2-3282779392174-2a18b894>
5. TILLMAN – **Systemelle** [Consultado a 9 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://tilmanportugal.com.pt/systemelle/>
6. LACTACYD – **Lactacyd pharma com prebióticos** [Consultado a 9 de junho de 2023]. Disponível na Internet: [https://www.lactacyd.pt/product/lactacydr-pharma-com-prebioticos?gclid=CjwKCAjwo9unBhBTEiwAipCIIwrkxsoRFSaDsRWnON9m3nDXhlt72LkzjjNjNFp3hMpm4KSibqaHwhoCX8EQA\\_vD\\_BwE&gclidsrc=aw.ds](https://www.lactacyd.pt/product/lactacydr-pharma-com-prebioticos?gclid=CjwKCAjwo9unBhBTEiwAipCIIwrkxsoRFSaDsRWnON9m3nDXhlt72LkzjjNjNFp3hMpm4KSibqaHwhoCX8EQA_vD_BwE&gclidsrc=aw.ds)
7. BIODERMA – **Atoderm intensive baume** [Consultado a 9 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.bioderma.pt/os-nossos-produtos/atoderm/intensive-baume>

# **PARTE III**

Monografia

**“Interações parasita-microbiota intestinal e os seus efeitos  
no hospedeiro”**

## Índice de Figuras

Figura 1 – Ciclo de vida de <i>T. gondii</i> .....	47
Figura 2 – Forma crónica e latente da inflamação induzida por uma infeção por <i>T. gondii</i> ..	50
Figura 3 – Ciclo de vida de <i>E. histolytica</i> .....	53
Figura 4 – Ciclo de vida de <i>G. duodenalis</i> .....	56
Figura 5 – Ciclo de vida de <i>Blastocystis</i> .....	61

## Índice de Tabelas

Tabela 1 – Bactérias que se encontram no intestino humano como residentes ou patogénicas....	41
--	----

## **Lista de Abreviaturas**

**AGCCs** – Ácidos Gordos de Cadeia Curta

**AMPs** – Peptídeos Antimicrobianos, do inglês *Antimicrobial Peptides*

**BHE** – Barreira Hematoencefálica

**CEIs** – Células Epiteliais Intestinais

**DII** – Doença Inflamatória Intestinal

**FAO** – Food and Agriculture Organization

**FNT** – Fator de Necrose Tumoral

**GLP-1** – Peptídeo 1 Semelhante ao Glucagon, do inglês *Glucagon-like peptide-1*

**IgA** – Imunoglobulina A

**IL-12** – Interleucina 12

**INF-gama** – Interferão gama

**ON** – Óxido Nítrico

**PYY** – Peptídeo YY

**RNS** – Espécies reativas de azoto, do inglês *Reactive Nitrogen Species*

**ROS** – Espécies reativas de oxigénio, do inglês *Reactive Oxygen Species*

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**SNE** – Sistema Nervoso Entérico

**SO** – Stress Oxidativo

**TGI** – Trato Gastrointestinal

**TLR-11** – Recetor *Toll-like 11*, do inglês *Toll-like Receptor 11*

**TMF** – Transplante de Microbiota Fecal

**Treg** – Células T reguladoras

**WHO** – World Health Organization

## **Resumo**

A microbiota intestinal é um ecossistema complexo formado por uma vasta comunidade microbiana de bactérias, vírus, fungos, eucariotas, archaea e parasitas, possuindo um papel crucial no funcionamento saudável do organismo dos seres humanos. Uma situação de disbiose na microbiota intestinal pode afetar a sua estrutura e funções, podendo conseqüentemente despoletar situações patológicas. A interação da microbiota intestinal com os parasitas tem vindo a suscitar cada vez mais interesse, uma vez que há várias evidências de que esta pode modular a resposta imunológica e produzir metabolitos com impacto no processo de infeção. O conhecimento sobre este fator protetor da microbiota intestinal pode facilitar a sua utilização com o intuito de prevenir e tratar infeções parasitárias, trazendo benefícios para a saúde pública mundial.

**Palavras-chave:** microbiota intestinal; parasitas; infeções parasitárias; disbiose; saúde pública.

## **Abstract**

The intestinal microbiota is a complex ecosystem formed by a vast microbial community of bacteria, viruses, fungi, eukaryotes, archaea and parasites, and plays a crucial role in the healthy functioning of the human body. A situation of dysbiosis in the intestinal microbiota can affect its structure and functions, which can consequently trigger pathological situations. The interaction of the intestinal microbiota with parasites has been attracting increasing interest, as there is several evidence that it can modulate the immune response and produce metabolites with an impact on the infection process. Knowledge about this protective factor of the intestinal microbiota can facilitate its use to prevent and treat parasitic infections, bringing benefits for global public health.

**Keywords:** intestinal microbiota; parasites; parasite infection; dysbiosis; public health.



## **I. Introdução**

A microbiota intestinal desempenha um papel crucial no funcionamento saudável do organismo, principalmente nos seres humanos. As infecções parasitárias podem causar um desequilíbrio na microbiota intestinal do hospedeiro, resultando na alteração de vários processos que contribuem para a homeostase, incluindo alteração das respostas imunológicas, a indução de processos inflamatórios, de distúrbios neurológicos, entre outros.

A relação entre a microbiota e os parasitas é bidirecional. Os parasitas podem alterar a composição das comunidades bacterianas da microbiota intestinal, influenciando o seu normal funcionamento, e a microbiota participa no processo de infecção, dificultando ou facilitando a colonização e persistência do parasita. A microbiota pode afetar diretamente a patogenicidade por meio de interações entre bactérias e parasitas ou indiretamente, alterando a produção de certos metabolitos e, assim, criando um ambiente mais ou menos favorável para a sua proliferação e crescimento. Desta forma, a microbiota intestinal pode ser um alvo interessante de estudo para o tratamento e prevenção de infecções parasitárias.

Desta forma, vou abordar ao longo deste trabalho a microbiota intestinal e caracterizá-la, fazendo referência a algumas das importantes funções que desempenha no corpo humano. Vou também incluir alguns parasitas que considere interessantes de explorar pelas suas complexas interações com a microbiota intestinal, terminando com algumas perspectivas futuras no que diz respeito ao papel da microbiota na prevenção e tratamento de infecções parasitárias.

## **2. Microbiota intestinal**

### **2.1. Composição da microbiota**

A microbiota intestinal é um ecossistema complexo formado por uma vasta comunidade microbiana de bactérias, vírus, fungos, eucariotas, archea e parasitas<sup>1</sup>. O intestino é o *habitat* de um número substancial de diversos microorganismos em que a relação comensal, simbiótica ou patogénica é importante para a saúde do hospedeiro. Esses microorganismos têm evoluído simultaneamente com os seus hospedeiros, acompanhando o seu desenvolvimento e mantendo a sua estabilidade e diversidade, desempenhando um papel importante nas mais variadas funções essenciais do organismo ao longo de toda a vida<sup>1</sup>.

O microambiente intestinal favorece principalmente o crescimento de bactérias de 5 Filos: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria e Proteobacteria (Tabela 1).

Entre estes grupos, os Bacteroidetes e Firmicutes constituem mais de 90% da população total microbiana<sup>2</sup>.

**Tabela I** – Bactérias que se encontram no intestino humano como residentes ou patogénicas.  
(Adaptada de Desselberger, 2018)<sup>2</sup>

<b>Bactérias</b>	
Filos	Géneros
Proteobacteria	<i>Brucella, Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Haemophilus, Pseudomonas, Klebsiella, Proteus, Heliobacter, Campylobacter</i>
Bacteroidetes	<i>Bacteroides</i>
Firmicutes	<i>Bacillus, Staphylococcus, Streptococcus, Lactobacillus, Enterococcus, Clostridium</i>
Actinobacteria	<i>Bidifidobacterium</i>
Fusobacteria	<i>Fusobacterium</i>

A composição da microbiota intestinal pode ser alterada e modulada por fatores como a idade, dieta, género, localização geográfica, etnia, prática de exercício e consumo de medicamentos<sup>1</sup>. Estes fatores também podem facilitar a colonização e persistência de microorganismos potencialmente patogénicos, que geram produtos tóxicos envolvidos na fisiopatologia de inúmeras doenças crónicas e degenerativas humanas<sup>3</sup>. Alterações num destes fatores pode levar a um contexto de disbiose, resultante de alterações qualitativas ou quantitativas na microbiota ou na sua atividade metabólica.

A microbiota é ainda caracterizada por um conjunto de fatores que permitem uma colonização eficaz, nomeadamente de enzimas de modo a utilizar os nutrientes disponíveis e a capacidade de escapar aos bacteriófagos e de adaptação ao sistema imunológico do hospedeiro<sup>4</sup>.

## **2.2. Funções da microbiota**

O papel preponderante da microbiota intestinal na saúde humana advém da sua ação numa variedade de mecanismos fisiológicos, nomeadamente através do seu papel na modulação da barreira intestinal e do metabolismo do hospedeiro, na regulação imunológica local e sistémica e no desenvolvimento neuronal. Desta forma, alterações na composição e atividade da microbiota intestinal estão envolvidas no desenvolvimento de inúmeras doenças<sup>5</sup>.

### 2.2.1. Metabólica

A microbiota intestinal atua a nível do nosso sistema digestivo, intervindo na digestão de certos alimentos que ingerimos, já que o nosso organismo não possui todas as enzimas necessárias para a digestão completa. Contribui, portanto, na digestão de algumas fibras alimentares, ácidos biliares, proteínas e polifenóis<sup>5</sup>.

No caso específico das fibras alimentares, uma parte das fibras da nossa dieta sofre um processo de fermentação pela microbiota intestinal, nomeadamente por Firmicutes e Bacteroidetes, resultando na libertação de gases, produção de ácidos gordos de cadeia curta (AGCCs), ácidos orgânicos e álcoois<sup>6</sup>. Os AGCCs, como o butirato, acetato e propionato, são importantes fontes de energia para as células do intestino e da microbiota e também têm efeitos benéficos na saúde geral do hospedeiro<sup>6</sup>.

Os AGCCs ligam-se ao recetor acoplado à proteína G (GPCR-41 e GPCR-43), que é expresso nas células enteroendócrinas L e, posteriormente, induzem a secreção do peptídeo I semelhante ao glucagon (GLP-I) e do peptídeo YY (PYY). Ambos contribuem para o aumento do gasto energético, redução da ingestão alimentar (efeito no cérebro - saciedade induzida por PYY) e melhoria do metabolismo da glicose e secreção de insulina (efeito no pâncreas - biossíntese de insulina induzida por GLP-I)<sup>7</sup>.

O acetato é encontrado no sangue e serve como fonte de energia para tecidos periféricos, lipogénese e biossíntese de colesterol no fígado. O butirato serve como fonte de energia para os colonócitos, regula a homeostase energética, estimulando as células enteroendócrinas intestinais a produzirem leptina a partir dos adipócitos, incluindo a produção de GLP-I, e reduz o efeito de metabolitos tóxicos de ácidos biliares e fenóis. O propionato geralmente atravessa os colonócitos e é transportado para o fígado onde é convertido a acetato<sup>8,9</sup>.

Em relação aos sais biliares, sabe-se que são ácidos sintetizados no fígado para a excreção do excesso de colesterol. A transformação dos sais biliares é realizada principalmente por bactérias anaeróbias dos géneros *Bacteroides*, *Eubacterium* e *Clostridium* e de bactérias aeróbicas dos Filos Actinobacteria e Proteobacteria. Os ácidos biliares primários são convertidos pela microbiota intestinal em ácidos biliares secundários que atuam no recetor I de ácidos biliares acoplado à proteína G para promover a libertação de GLP-I, aumentando a termogénese no tecido adiposo. Um exemplo de um ácido biliar primário é o ácido quenodesoxicólico e de ácidos biliares secundários são o ácido litocólico e ácido taurolitocólico<sup>10</sup>.

### 2.2.2. Imunológica

A microbiota intestinal interage com o sistema imune para manter uma resposta imunológica adequada. O trato gastrointestinal (TGI) é a estrutura que permite esta interação, sendo o ambiente intestinal um ecossistema em que ocorrem interações biológicas e bioquímicas a vários níveis entre parasitas, comunidade microbiota e a resposta imune do hospedeiro<sup>11</sup>.

A interação da microbiota intestinal com as células intestinais epiteliais (CIEs) tem um papel preponderante na homeostase do TGI. A microbiota intestinal e os seus metabolitos podem atuar na integridade da barreira intestinal através da ativação de algumas vias de sinalização nas CIEs. Por outro lado, as CIEs, incluindo as células de Paneth e células caliciformes, formam uma camada de proteção separando a microbiota das células imunes do hospedeiro, evitando uma resposta imunológica excessiva e regulam a composição da microbiota através do fornecimento de fontes de energia alternativas e da libertação de algumas moléculas como hormonas e muco<sup>12</sup>. Assim, as CIEs, mantêm a homeostase e previnem a inflamação no TGI. Assim, a microbiota intestinal consegue aumentar o seu mecanismo de defesa a nível do epitélio intestinal e reduzir a permeabilidade do mesmo, formando uma barreira física mucosa<sup>12</sup>.

A primeira barreira imunológica consiste na camada de muco, peptídeos antimicrobianos (AMPs) e Imunoglobulina Humana A (IgA) secretora<sup>5</sup>.

#### Camada de muco

A camada de muco é formada pela glicoproteína mucina que é produzida pelas células caliciformes e que vai formar uma camada gelatinosa e viscosa sobre o epitélio intestinal, protegendo-o da aderência direta de microorganismos ao epitélio. Além disso, atua como lubrificante e auxilia o transporte do conteúdo do lúmen, sem prejudicar o revestimento epitelial. A mucina atua não só como uma barreira, mas também fornece uma fonte direta de hidratos de carbono e péptidos para os microrganismos comensais<sup>13,14</sup>.

#### AMPs

Os peptídeos antimicrobianos são secretados por CIEs, incluindo enterócitos, células caliciformes e células de Paneth, desempenhando um papel essencial na restrição do acesso de microrganismos comensais e patogénicos ao epitélio. Os AMPs, como as defensinas, catelicidinas e lectinas do tipo C, são pequenas proteínas catiónicas que permanecem, principalmente, retidas na camada de muco. Os AMPs ligam-se a membranas celulares de microrganismos carregadas negativamente ou atacam a parede celular por meio de ações

enzimáticas, rompendo a membrana externa ou interna do microrganismo. As defensinas são os principais AMPs e são classificadas em  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\theta$  defensinas<sup>5</sup>.

### IgA

A IgA secretora serve como terceira linha de defesa e protege as células epiteliais intestinais contra toxinas entéricas e microrganismos patogênicos. O reconhecimento imunitário diferencial de patógenos e comensais mantém a tolerância imunitária e ativação das células presentes nas placas de Peyer, folículos linfoides ou lâmina própria. A IgA atua tanto na prevenção de infecções quanto na manutenção da homeostase da microbiota comensal<sup>5,106</sup>.

### Metabolitos produzidos pela microbiota na imunidade

Qualquer modificação na microbiota tem efeitos na resposta imune do hospedeiro já que a microbiota intestinal metaboliza substratos e origina produtos que interferem com a sobrevivência de diferentes parasitas e com o *outcome* das infecções<sup>16</sup>. Desta forma, os metabolitos produzidos pela microbiota desempenham um papel significativo na modulação da resposta imune. Esses metabolitos podem influenciar a função das células imunes, regular a inflamação e contribuir para a manutenção da homeostase imunológica. Alguns exemplos de metabolitos produzidos pela microbiota e os seus efeitos na imunidade são:

**AGCCs:** como já referido anteriormente, são produzidos pela fermentação de fibras alimentares por bactérias que pertencem à microbiota intestinal. Possuem propriedades anti-inflamatórias e podem regular a função das células imunes, promovendo a diferenciação e função das células T reguladoras (Tregs), que ajudam a manter a função imunológica. Também inibem a produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células imunes, reduzindo assim a inflamação e atuam na regulação da produção de muco e do pH do lúmen<sup>17</sup>.

**Poliaminas:** As poliaminas são de natureza policatiônica. Existem três fontes principais de poliaminas: alimentos, biossíntese celular e biossíntese microbiana no intestino. As principais poliaminas são a putrescina, espermidina e espermina sintetizadas a partir da arginina pela enzima arginase I, que converte a arginina em ornitina. A ornitina descarboxilase sintetiza a putrescina a partir da ornitina, enquanto outras enzimas sequencialmente convertem a putrescina em espermidina e espermina<sup>18</sup>. A arginase I e a sintase do óxido nítrico competem pela arginina para produzir poliaminas ou óxido nítrico para equilibrar as respostas imunes, fornecendo benefícios imunológicos ao hospedeiro<sup>18</sup>.

### 2.2.3. Neurológica

A microbiota intestinal também afeta o cérebro humano, estando em sincronização e ajudando a coordenar as funções do nosso corpo. Esta relação é conhecida como o eixo intestino-cérebro (*gut-brain axis*) e permite uma comunicação bidirecional entre o intestino e o cérebro<sup>19</sup>. O intestino está ligado ao cérebro através do sistema nervoso entérico (SNE) que é constituído pelo sistema nervoso parassimpático (nervo vago) e simpático (gânglios pré-vertebrais) e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal<sup>20</sup>. O SNE é considerado o “segundo cérebro” e é formado por milhões de neurónios, sendo dividido em dois tipos de gânglios: os plexos mioentéricos e os plexos submucosos. As atividades da microbiota intestinal podem controlar o SNE, bem como o sistema nervoso central (SNC), através de: produção, expressão e renovação de neurotransmissores e fatores neurotróficos, através da manutenção da barreira intestinal e integridade das “*tight junctions*”, da modulação dos aferentes sensoriais entéricos, da produção de metabolitos bacterianos e da regulação imune da mucosa<sup>19,20</sup>.

Mais de 90% da serotonina e 50% da dopamina são originadas no intestino e são produzidas principalmente pela microbiota intestinal. Esses dois neurotransmissores desempenham um papel importante na transmissão de mensagens para o cérebro, nomeadamente na regulação de estados de humor, felicidade e prazer<sup>21</sup>. Metabolitos bacterianos, particularmente os AGCCs, induzem a triptofano hidroxilase I com libertação de serotonina no intestino<sup>21</sup>.

## 3. Parasitas como causadores da disbiose intestinal

A estrutura da comunidade microbiana tem uma influência considerável na imunidade do hospedeiro, pelo que a rutura do equilíbrio da microbiota intestinal e a consequente interação com o sistema imunológico pode perturbar a homeostase do hospedeiro e a sua suscetibilidade a doenças, determinando o processo de infeção por patógenos intestinais.

Existem vários tipos de parasitas, nomeadamente protozoários, helmintos e ectoparasitas, sendo que cada parasita ou grupo de parasitas apresenta algumas características próprias como o ciclo de vida e a forma como infetam o hospedeiro.

Embora alguns helmintos possam causar doenças graves, a maioria das infeções são assintomáticas, o que reflete o longo histórico de evolução e adaptação com o hospedeiro humano. De forma semelhante, embora alguns dos protozoários encontrados no intestino humano sejam patogénicos é importante salientar que alguns, como por exemplo *Blastocystis* spp., são encontrados com elevada prevalência em populações saudáveis<sup>22</sup>.

### 3.1. Protozoários

Há uma grande variedade de protozoários que colonizam o trato gastrointestinal humano, sendo um grupo bastante heterogêneo relativamente à forma de invasão do hospedeiro, à sua localização celular e à especificidade dos hospedeiros que infeta<sup>23</sup>. Alguns parasitas, incluindo *Giardia duodenalis*, adaptam-se a mais do que um tipo de hospedeiro. Há ainda protozoários que são conhecidos como comensais, não provocando nenhum tipo de doença no hospedeiro (ex. *Entamoeba coli* e *E. hartmanni*). Outros protozoários intestinais, como *Blastocystis* spp., pontualmente podem ser responsáveis por diarreia<sup>23</sup>. Em geral, os protozoários patogênicos mais prevalentes são: *Blastocystis* spp, *G. duodenalis*, o complexo *Entamoeba histolytica/E. díspar* e *Cryptosporidium* spp<sup>24, 25, 26</sup>.

As infecções parasitárias intestinais por protozoários têm um peso considerável nas doenças infecciosas a nível mundial, constituindo um problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento. Estas doenças continuam a ser um problema negligenciado devido à sua prevalência ser maior nesses países.

Uma vez que a composição da população das bactérias intestinais consegue modular a progressão das infecções intestinais por protozoários, a regulação dos diferentes componentes da microbiota poderá ser utilizada para prevenir ou atenuar estas infecções. A interação dos parasitas com a comunidade bacteriana da microbiota intestinal é um sistema interativo complexo. Uma modificação da microbiota tem efeito na resposta imune do hospedeiro, em parte porque estes parasitas e a microbiota metabolizam substratos de forma interativa e geram produtos que se afetam mutuamente. Os produtos da microbiota podem interferir com a sobrevivência e fisiologia dos parasitas e, conseqüentemente, com o *outcome* de inúmeras infecções parasitárias<sup>27, 28, 29</sup>. Da mesma forma, os parasitas intestinais produzem continuamente moléculas que podem alterar o ambiente intestinal e, conseqüentemente, causar uma alteração na estrutura da microbiota. É importante salientar que o ambiente intestinal é um ecossistema em que ocorrem interações bioquímicas e biológicas a vários níveis entre os parasitas, as comunidades bacterianas e a resposta imunológica do hospedeiro<sup>23</sup>.

Infeções intestinais causadas por protozoários do Filo Apicomplexa têm sido detetadas a nível mundial, sendo que pelo menos 1/3 da população já foi exposta a pelo menos um destes parasitas. Estudos recentes no México sugerem que dois destes parasitas, *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium parvum*, estão cada vez mais presentes em crianças com menos de 5 anos de idade<sup>30</sup>.

### 3.1.1. *Toxoplasma gondii*

Uma infecção por *T. gondii* pode provocar diarreia leve a moderada e autolimitada em indivíduos imunocompetentes, mas o mesmo não se verifica em indivíduos imunocomprometidos, sendo frequentemente um microrganismo oportunista letal nestes casos<sup>23</sup>.

#### Ciclo de vida

Os únicos hospedeiros definitivos de *T. gondii* são membros da família Felidae. Estes libertam os oocistos não esporulados nas fezes em grande quantidade (Figura 1)<sup>31</sup>. Os oocistos precisam de 1 a 5 dias no meio ambiente para esporular e tornarem-se infecciosos. Os hospedeiros intermediários, incluindo aves e roedores, infetam-se após a ingestão de material contaminado com oocistos, sendo que estes se transformam em taquizoítos logo após a sua ingestão<sup>31</sup>. Os taquizoítos localizam-se no tecido neuronal e muscular e desenvolvem-se em cistos teciduais. Os gatos são infetados após consumirem hospedeiros intermediários que contêm cistos teciduais, mas também se podem infetar diretamente pela ingestão de oocistos esporulados<sup>31</sup>.

Os seres humanos podem ser infetados por várias vias: através do consumo de carne mal cozinhada de animais com cistos teciduais, consumo de alimentos ou água contaminados com fezes de gato ou por amostras ambientais contaminadas com oocistos esporulados, transfusão de sangue ou transplante de órgãos, por via transplacentária da mãe para o feto<sup>31</sup>.

Quando o hospedeiro humano é infetado, o parasita consegue disseminar-se no intestino e invadir a lâmina própria, acabando por alcançar o sistema nervoso e tecido muscular, onde podem permanecer durante toda a vida do hospedeiro sob a forma de cistos teciduais<sup>31</sup>.

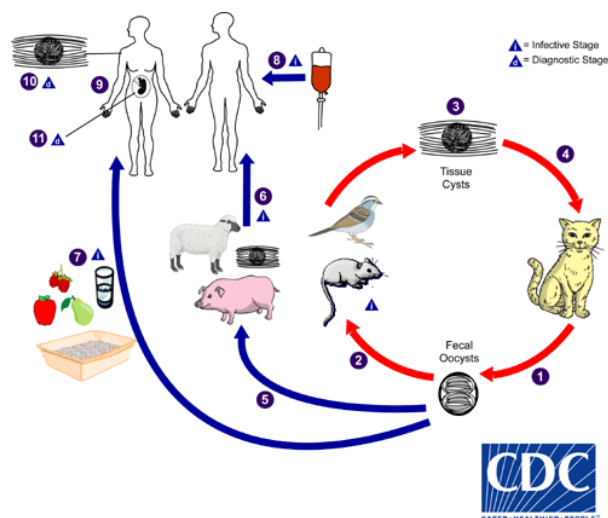


Figura 1 – Ciclo de vida de *T. gondii* (31).



Este parasita induz uma resposta imune caracterizada pela produção de Interferão-gama (INF-gama) e Interleucina-12 (IL-12) que, embora seja essencial para o controlo do parasita, pode ser prejudicial para o próprio hospedeiro<sup>23</sup>. No caso da infeção em modelos de rato, a resposta Th1 excessiva resultou numa elevada mortalidade por provocar, secundariamente, inflamação do íleo. No entanto, embora o parasita promova doenças inflamatórias em várias espécies de animais, não provoca uma inflamação do íleo no ser humano, já que o nosso organismo tem escassez de recetores *Toll-like receptor II* (TLR-II), recetores estes que são importantes na ativação do sistema imunológico inato quando é detetada a presença do parasita, sendo estas respostas imunológicas cruciais nessa patologia intestinal<sup>23, 32</sup>.

A principal citocina para o controlo da infeção por *T. gondii* é o INF-gama que é expresso durante a resposta imune inata e adaptativa e tem inúmeras funções. Além de desencadear a resposta Th1 para a produção de outras citocinas, estimula também a produção de óxido nítrico (ON), espécies reativas de oxigénio (ROS), AMPs e as GTPases ligadas à imunidade, o que, em conjunto, contribui para a inibição do crescimento do parasita<sup>23</sup>. As citocinas pró-inflamatórias produzidas na resposta imunológica contra o parasita são o fator de necrose tumoral (FNT), IL-1 beta e IL-18, que atraem para o local da infeção algumas células essenciais ao seu controlo<sup>23</sup>.

Os microrganismos comensais são determinantes na fisiopatologia de doenças mediadas por *T. gondii*. A ausência de bactérias intestinais comensais impediu o desenvolvimento de inflamação no íleo quando ratos selvagens foram infetados por *T. gondii*, o que suporta a hipótese de que a microbiota intestinal contribui para o desenvolvimento de imunopatologia no intestino<sup>23</sup>. Na ausência de TLR II, em ratos manipulados geneticamente, uma infeção por via oral por este parasita não levou a inflamação do íleo, aparentemente porque a resposta Th1 provocada pelas bactérias intestinais é mais eficiente. Desta forma, a eliminação de alguns fatores que contribuem para o desenvolvimento da resposta Th1 diminuem os efeitos negativos de imunopatologia durante uma infeção intestinal por este parasita<sup>23</sup>.

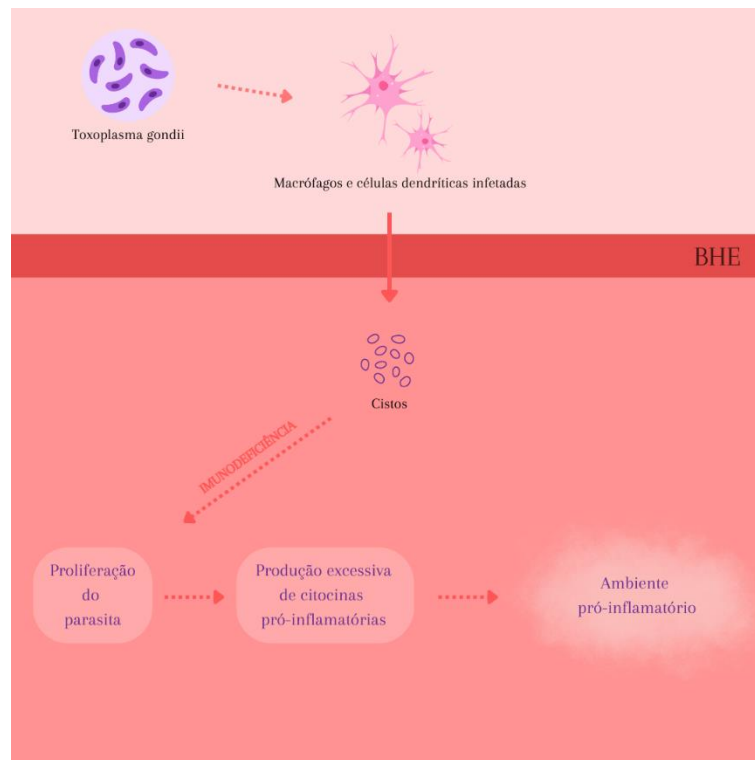
Durante uma infeção por *T. gondii* há alterações significativas na composição da microbiota intestinal. Mais especificamente, há uma diminuição dos Bacteroidetes e Firmicutes, seguido de uma predominância significativa, mas temporária, de Enterobacteriaceae, particularmente, de *Escherichia coli*. Este perfil da microbiota foi descrito em inúmeros modelos de ratos com inflamação do íleo e em humanos diagnosticados com Doença Inflamatória Intestinal (DII)<sup>23</sup>. Embora o aumento da população intestinal de *E. coli* em ratos infetados por

via oral por *T. gondii* possa provocar uma inflamação intestinal letal, uma infecção por *T. gondii* na presença de níveis elevados de outras populações de comensais não é letal. A expansão da população de *E. coli* intestinal durante uma infecção por *T. gondii* desencadeia uma resposta Th1 intensa, causando elevados níveis de INF-gama, levando a lesões severas nos tecidos bem como a perda de células de Paneth e AMPs. O mesmo padrão de imunopatologia é observado em pacientes com DII<sup>23</sup>.

### Neurotoxoplasmose

A neurotoxoplasmose é causada pelo protozoário *T. gondii*. A doença é contraída através da ingestão de oocistos esporulados ou cistos localizados no músculo ou tecido nervoso de mamíferos infetados<sup>33</sup>. Este parasita consegue reproduzir-se em vários tipos de células, incluindo células cerebrais, persistindo ao longo da vida do seu hospedeiro.

O contacto inicial do parasita com as células do hospedeiro envolve moléculas de superfície e moléculas de adesão de leucócitos. A efetividade da resposta imunológica do hospedeiro é evidenciada pela baixa incidência dos sintomas da doença, apesar da seroprevalência global deste parasita ser de aproximadamente 30%<sup>33</sup>. A interação de *T. gondii* com o hospedeiro envolve um elevado número de proteínas e vias de sinalização. Quando um indivíduo infetado passa por uma fase em que o seu sistema imunológico está mais comprometido, os cistos teciduais localizados no cérebro podem reativar-se e produzir uma neurotoxoplasmose, potencialmente letal (Figura 2). A ativação das células da glia por interação com *T. gondii* favorece a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias como a IL-1a, IL-6, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, CXCL10, CCL2, CCL3, CCL4 e IFN-gama. Os astrócitos com poucos recetores de IL-6 ou *glial fibrillary acidic protein* perdem a sua capacidade de controlar o parasita, resultando numa dispersão da inflamação por todo o cérebro, que pode ser fatal<sup>33</sup>. A inflamação excessiva cerebral e, conseqüentemente, lesões neuronais são prevenidas pela autorregulação de astrócitos e neurónios através da secreção de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-27 e o *transforming growth factor beta*, sendo que estas citocinas têm atividade imunossupressora e influenciam a atividade das células T<sup>33</sup>.



**Figura 2** – Forma crônica e latente da inflamação induzida por uma infecção por *T. gondii*. O parasita infeta macrófagos e células dendríticas e atravessa a barreira hematoencefálica (BHE). Os cistos teciduais conseguem sobreviver por vários anos e induzir uma resposta pro-inflamatória de baixo nível. Numa situação de imunodeficiência, os cistos proliferam e ativam fortemente os astrócitos e as células da glia. Desta forma, esta ativação excessiva gera um ambiente pro-inflamatório que danifica os neurónios e a BHE. (Adaptada de Alloo [et al.], 2022)<sup>33</sup>

### Neuroinflamação

Muitos dos protozoários associados a doenças de elevada mortalidade e morbidade conseguem invadir o cérebro e provocar disfunções neuropatológicas. Na maioria dos casos, os mecanismos que causam a neuroinflamação estão ainda por determinar. Contudo, as citocinas pró-inflamatórias e as quimiocinas libertadas por astrócitos e células da microglia ativados foram identificadas como fatores-chave nestes processos neuropatofisiológicos. Os astrócitos e as células da microglia são componentes fundamentais do SNC, uma vez que ajudam na regulação da homeostase e a manutenção da integridade a BHE, atuando como células imunes residentes do SNC, tendo um papel crucial nas respostas imunes locais inatas e em processos inflamatórios, particularmente durante a invasão parasitária e a lesão dos tecidos<sup>33</sup>.

Ainda que *T. gondii* seja conhecido por perturbar a microbiota intestinal, a ligação com a inflamação cerebral resultante da infecção ainda não está totalmente esclarecida. No entanto, foi descrita uma alteração na composição da microbiota durante o processo de infecção,

provocada por bactérias Gram negativas como as Enterobacterias que agravaram a inflamação do íleo através de alterações no metabolismo do triptofano, nos níveis de dopamina e uma diminuição de células T reguladoras. Esta inflamação do íleo em ratos infetados por *T. gondii* foi associada a elevados níveis de permeabilidade intestinal, elevada translocação de bactérias, meningite moderada a leve e alterações cognitivas e comportamentais, comparativamente com ratos *germ-free*<sup>33</sup>.

#### Papel da microbiota na inflamação

Tem sido sugerido que uma microbiota eubiótica ajuda a manter ou restaurar a homeostase da BHE e a prevenir processos inflamatórios no cérebro. Várias moléculas de sinalização produzidas pela microbiota permitem que os microrganismos comuniquem com o sistema imune do hospedeiro e que sejam produzidas citocinas em resposta aos microrganismos<sup>34</sup>. A maioria dessas moléculas atua nas células gliais e pode modular a inflamação. De facto, os AGCCs podem influenciar o eixo intestino-cérebro através de vários mecanismos. Podem inibir a histona desacetilase, resultando na regulação negativa da produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. O acetato pode atravessar a BHE e o butirato pode restaurar a integridade da barreira. Os AGCCs também podem reverter fenótipos microgliais disfuncionais<sup>33</sup>.

Além disso, foi descrita a influência da microbiota intestinal por meio da síntese de vários neurotransmissores e neuromoduladores com papéis cruciais na comunicação intestino-cérebro. Algumas bactérias são capazes de produzir aminoácidos como o ácido gama-aminobutírico, o principal neurotransmissor inibitório do SNC. Pode também controlar a produção de outros neurotransmissores através da regulação do glutamato, que pode ser neurotóxico em níveis elevados. Recentemente, compostos derivados da superfície bacteriana, como os peptidoglicanos, surgiram como potenciais reguladores-chave das interações microbiota-cérebro<sup>33</sup>.

#### **3.1.2. *Entamoeba histolytica***

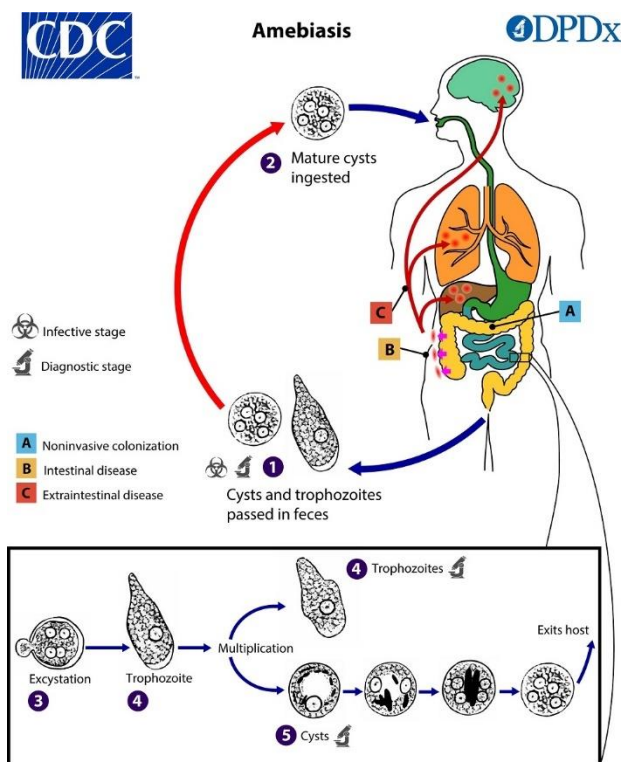
A amebíase é adquirida através da ingestão de comida ou água contaminada com cistos, a forma infecciosa de *Entamoeba histolytica*<sup>35</sup>. A seguir ao desenquistamento, os trofozoítos migram para o intestino grosso resultando ou numa colonização assintomática (90% das infeções) ou causando diarreia com sangue (disenteria amebiana). Por razões desconhecidas, os trofozoítos podem tornar-se virulentos e invasivos, causando a disenteria amebiana ou migrar para o fígado através da veia porta, onde causam lesão hepatocelular. Os trofozoítos proliferam no lúmen intestinal e fagocitam a flora intestinal residente, preferencialmente

espécies como *Lactobacillus ruminu*<sup>36</sup>. Até há pouco tempo, a interação entre *E. histolytica* e a microbiota intestinal podia ser caracterizada como uma simples interação parasita-hospedeiro. No entanto, estudos recentes salientam a complexa interação que ocorre entre o parasita e a microbiota bem como o seu papel na resistência do parasita a fatores ambientais presentes no intestino<sup>37</sup>, associados à produção de ROS e espécies reativas de azoto (RNS), e na patogenicidade da amebíase<sup>35</sup>.

### Ciclo de vida

Os cistos e trofozoítos são eliminados nas fezes, sendo que os cistos são normalmente encontrados em fezes sólidas, enquanto os trofozoítos são normalmente encontrados em fezes diarreicas<sup>38</sup>. A infecção por *Entamoeba histolytica*/*E. dispar* ocorre por meio da ingestão de cistos maduros em alimentos, água ou mãos contaminados com fezes, também podendo ocorrer durante a atividade sexual com a exposição a cistos infecciosos na matéria fecal (Figura 3)<sup>38</sup>. O desencistamento ocorre no intestino delgado e os trofozoítos são libertados, migrando para o intestino grosso<sup>38</sup>. Os trofozoítos podem permanecer confinados ao lúmen intestinal (infecção não invasiva) com os indivíduos a continuarem a eliminar cistos nas fezes (portadores assintomáticos), invadir a mucosa intestinal (doença intestinal, i.e., disenteria amebiana) ou invadir vasos sanguíneos, atingindo locais extraintestinais como fígado, cérebro e pulmões (doença extraintestinal)<sup>38</sup>.

Os trofozoítos multiplicam-se por fissão binária e produzem cistos e ambas as formas são eliminadas nas fezes. Os cistos podem sobreviver dias a semanas no meio ambiente e permanecer infecciosos devido à proteção que lhes é conferida pela parede cística. Os trofozoítos eliminados nas fezes são rapidamente destruídos e, se ingeridos, não sobreviveriam à exposição ao ambiente gástrico<sup>38</sup>.



**Figura 3** – Ciclo de vida de *E. histolytica* <sup>(38)</sup>.

Em indivíduos assintomáticos, a colonização da mucosa intestinal por *E. histolytica* manifesta uma relação comensal com o hospedeiro em que a excreção de quistos e de trofozoítos ocorre durante todo o ciclo de vida do parasita. Estudos epidemiológicos de indivíduos em zonas endêmicas sugerem que a maioria dos indivíduos infectados são transportadores assintomáticos de quistos e apenas uma minoria é suscetível de desenvolver doença<sup>23</sup>. Embora a maioria das infecções seja assintomática, em alguns casos pode ocorrer doença intestinal invasiva que se manifesta com várias semanas de cólicas, dor abdominal, diarreia aquosa ou com sangue e perda de peso<sup>39</sup>. Também foram descritos casos com doença extra-intestinal disseminada, como abscesso hepático, pneumonia, pericardite purulenta e amebíase cerebral<sup>39,40</sup>. Estima-se que cerca de 50 milhões de pessoas sejam afetadas mundialmente por este parasita, principalmente nos países em desenvolvimento, sendo responsável por mais de 100.000 mortes por ano<sup>41</sup>.

Há evidências que a presença de *E. histolytica* induz alterações consideráveis na estrutura da população da microbiota intestinal no hospedeiro humano. Na zona norte da Índia, realizou-se um estudo em indivíduos positivos para *E. histolytica* e observou-se uma diminuição significativa de *Bacteroides*, *Clostridium coccoides* subgrupo, *Clostridium leptum* subgrupo, *Lactobacillus*, *Campylobacter* e *Eubacterium*, e um aumento significativo em *Bifidobacterium*<sup>42</sup>.

Numa avaliação da composição da microbiota em populações rurais de Cameroon, foi descrita uma forte relação entre a presença de *E. histolytica* e alguns grupos bacterias da microbiota intestinal. Sete Filos foram significativamente diferentes em amostras de indivíduos infetados e saudáveis, sendo que nos indivíduos infetados apresentaram uma maior frequência de Firmicutes e menor frequência de Bacteroidetes<sup>43</sup>.

Por outro lado, crianças do Bangladesh com infecção assintomática por *E. histolytica* tiveram uma menor abundância de *Prevotella copri*, uma espécie associada a inflamação intestinal, do que crianças com diarreia<sup>44</sup>.

Ao longo das últimas décadas, tornou-se evidente que a patogenicidade de *E. histolytica* está diretamente ligada à interação do parasita com a microbiota intestinal. Esta interação é bastante seletiva já que apenas bactérias com moléculas específicas de reconhecimento são ingeridas pelo parasita<sup>35</sup>. Foi reportado que a associação com bactérias específicas intestinais altera a estrutura da superfície de *E. histolytica* e que a fagocitose de bactérias patogénicas potencia a citopatogenicidade de *E. histolytica*. Por exemplo, quando os trofozoítos estão na presença de *E. coli* (EPEC)O55 enteropatogénica ou de *Shigella dysenteriae* aumentam a expressão de *Gal/GalNAc lectin* à superfície celular, aumentam a atividade da cisteína protease e resistência ao stress oxidativo (SO)<sup>35</sup>.

#### Resposta de *E. histolytica* ao stress oxidativo

As espécies reativas de oxigénio desempenham um papel crucial ao desencadear stress oxidativo nas células. As ROS são capazes de provocar oxidação de biomoléculas essenciais como DNA, proteínas, lípidos, afetando a sua estrutura e função, e inibem algumas funções celulares. No intestino grosso, os trofozoítos invasivos de *E. histolytica* são expostos a ROS, resultantes de flutuações na tensão de oxigénio no lúmen intestinal e da produção por células do sistema imune<sup>35</sup>.

O SO leva à oxidação de centenas de proteínas no parasita, incluindo as proteínas envolvidas na homeostase *redox*, metabolismo de lípidos, metabolismo de pequenas moléculas, metabolismo de derivados de carboidratos e biossíntese de compostos organoazotados<sup>45</sup>. A oxidação destas proteínas frequentemente leva à sua inibição, como já foi reportado para enzimas glicolíticas, fatores de virulência como *Gal/GalNAc lectin* que são essenciais para a ligação do parasita à célula e arginase, uma enzima que catalisa a conversão da L-arginina a L-ornitina, um precursor da síntese de poliaminas<sup>45</sup>. As poliaminas são consideradas essenciais para o crescimento e sobrevivência de parasitas unicelulares, incluindo *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Plasmodium* e *Entamoeba*. A putrescina, foi associada à resistência de SO e um dos

mecanismos é baseado na sua natureza policatiónica que impede o emparelhamento com ácidos nucleicos e fosfolípidos membranares. A importância da putrescina e outras poliaminas na resistência de *E. histolytica* ao SO foi proposta, mas evidências experimentais ainda são escassas.

O stress oxidativo induz uma forte inibição da síntese de proteínas no parasita<sup>45</sup>. Ao nível da transcrição, o SO induz uma complexa resposta no parasita que envolve a modulação de um elevado número de genes que codificam proteínas com funções na translação, de sinalização e regulação, processos metabólicos e de reparação, metabolismo energético, resposta ao stress e transporte. Assim, a resistência ao SO contribui para o potencial patogénico de *E. histolytica*<sup>35</sup>.

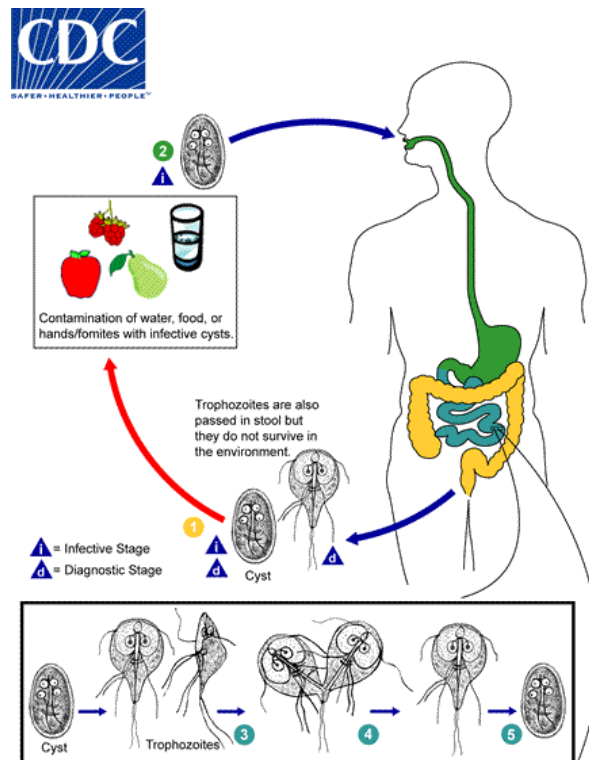
### **3.1.3. *Giardia duodenalis***

O protozoário *Giardia duodenalis* é um dos parasitas enteropatogénicos humanos mais comuns a nível mundial, infetando uma média de 2% dos adultos e 8% das crianças em países desenvolvidos e acima de 33% dos indivíduos nos países em desenvolvimento<sup>46</sup>. As infeções por *G. duodenalis* também são comuns em gado e animais de companhia e são um problema considerável de saúde pública e económica. A infeção pode causar uma doença autolimitada, a giardíase, caracterizada por diarreia, dores de barriga, inchaço, perda de peso e má absorção<sup>46</sup>.

#### Ciclo de vida

Os cistos são formas resistentes e são responsáveis pela transmissão da giardíase. Tanto os cistos quanto os trofozoítos podem ser encontrados nas fezes (fases de diagnóstico) (Figura 4)<sup>47</sup>. A infeção ocorre pela via fecal-oral através da ingestão de cistos em água e alimentos contaminados ou através de mãos ou fómite. No intestino delgado, o desencistamento liberta trofozoítos, em que cada cisto produz dois trofozoítos. Os trofozoítos multiplicam-se por fissão binária longitudinal, permanecendo no lúmen do intestino delgado proximal onde podem ficar livres ou aderentes à mucosa através do seu disco de sucção ventral<sup>47</sup>. O encistamento ocorre quando os parasitas transitam em direção ao cólon. O cisto é a forma morfológica mais encontrada em fezes não diarreicas. Como os cistos são infeciosos quando eliminados nas fezes, a transmissão de pessoa para pessoa e animal-pessoa é possível<sup>47</sup>.





**Figura 4** – Ciclo de vida de *G. duodenalis*. (47)

*G. duodenalis* é um bom exemplo para demonstrar a importância da barreira intestinal, microbiota comensal, camada mucosa e epitélio intestinal, no contexto de inúmeras doenças gastrointestinais. Foi demonstrado que *Giardia* tenta evitar esta barreira através de estratégias diretas ou indiretas, que incluem alterações significativas na estrutura do biofilme da microbiota do hospedeiro, da camada de muco e do epitélio intestinal<sup>46</sup>.

Este parasita através de proteases secretoras/excretoras de cisteína pode induzir alterações a nível do biofilme da microbiota intestinal do hospedeiro. Estas alterações do biofilme permite a invasão de bactérias, o que resulta em apoptose epitelial e translocação de bactérias pela barreira epitelial intestinal. Além disto, estas comunidades disbióticas estimulam a produção excessiva da citocina pro-inflamatória IL-1beta. Assim, o parasita causa uma disbiose persistente, possibilitando a predisposição de indivíduos infetados a doenças gastrointestinais<sup>48</sup>.

Um estudo avaliou o impacto da infeção por *Giardia* na microbiota intestinal de ratos e demonstrou que a colonização do intestino delgado pelo parasita gera uma disbiose de bactérias comensais aeróbias e anaeróbias. A colonização foi associada a elevados níveis de microorganismos aeróbios (Proteobacteria) e baixos níveis de anaeróbios (Firmicutes e Melainabacteria). O estudo propõe que a disbiose resultante pode ser diretamente mediada pelo metabolismo anaeróbio de *Giardia* e/ou indiretamente mediada pela estimulação da inflamação intestinal. Assim, a alteração da diversidade dos microrganismos comensais devido

à infecção por *Giardia* pode ser a causa ou a consequência de alterações inflamatórias e metabólicas em todo o intestino<sup>49</sup>.

Alterações funcionais e estruturais na microbiota intestinal foram demonstradas durante o decorrer das infecções por este parasita, incluindo a ruptura da estrutura do biofilme microbiano, alteração da virulência em espécies comensais e alteração da abundância e diversidade de outras espécies. Por outro lado, a disbiose da microbiota desempenha um papel importante na patogenicidade da *Giardia*, influenciando a colonização e respostas imunológicas<sup>50</sup>.

A suscetibilidade à infecção por *Giardia* varia significativamente entre diferentes faixas etárias em humanos e em modelos animais, o que provavelmente se deve, pelo menos em parte, a alterações na composição da microbiota relacionadas com a idade, bem como com alterações imunológicas do hospedeiro. Em populações humanas, crianças com idade entre os 6 meses e os 5 anos de idade demonstram uma maior suscetibilidade à infecção por *Giardia*. A microbiota de crianças humanas é diferente da dos adultos e está em constante evolução ao longo dos primeiros anos de vida<sup>46</sup>.

#### Interações microbiota-sistema imune

A *G. duodenalis* é um enteropatógeno não invasivo que não induz uma resposta inflamatória exagerada. Ainda assim, tanto as respostas imunes inatas como as adaptativas são requeridas para o controlo e eliminação de *Giardia*<sup>46</sup>. As citocinas IL-6 e IL-17, bem como a IgA secretora são cruciais para combater a infecção<sup>46</sup>. As células CD4+ e CD8+ desempenham um papel importante na eliminação do parasita e na sua patogenicidade, respetivamente<sup>46</sup>. Em adição, os mastócitos e os macrófagos parecem também desempenhar um papel na destruição do parasita, enquanto o ON e os AMPs produzidos por células intestinais podem ter efeito direto ou indireto citostático contra os trofozoítos de *Giardia*<sup>46</sup>.

Estudos recentes demonstraram que *Giardia* é capaz de modular a imunidade do hospedeiro, podendo clivar diretamente as quimiocinas e citocinas produzidas pelo hospedeiro, resultando em respostas imunes atenuadas. Além disto, *Giardia* pode evitar a imunidade adaptativa do hospedeiro através da expressão de proteínas de superfície específicas<sup>46</sup>.

#### Alteração do muco intestinal

*Giardia* é capaz de alterar o muco intestinal. Em ratos infetados com *G. duodenalis*, foi observado uma diminuição significativa da camada de muco na zona do cólon. *In vitro*, *G. duodenalis* degradou a mucina humana, MUC2, de uma forma dependente da protease de

cisteína. Assim, durante a infecção, o parasita pode causar despolimerização localizada da matriz do gel de mucina e, potencialmente, facilitar a translocação tanto de parasitas como de bactérias comensais. Isto é consistente com os estudos que referem que *Giardia* promove a invasão de bactérias comensais *in vivo*. Adicionalmente, *G. duodenalis* (strain GS/M) alterou a expressão tanto do MUC2 como do MUC5ac, duas mucinas secretoras predominantes no intestino. Especificamente *in vivo*, a expressão de MUC2 e MUC5ac foram aumentadas no cólon, enquanto na parte proximal do jejuno, a MUC2 foi aumentada e a MUC5ac foi diminuída. As alterações *in vitro* na expressão do gene da mucina foram relatadas como sendo dependentes da protease de cisteína de *Giardia*. Em ratos com deficiência em MUC2, ou seja, com uma fraca barreira de muco no intestino delgado e grosso, a carga de *Giardia* foi significativamente elevada, quando comparada com a de ratos selvagens. Assim, a presença de uma camada de muco funcional protege contra a colonização do parasita<sup>46, 51</sup>.

Embora a relação causa-efeito entre a disbiose e a rutura da mucosa no contexto das infecções por *Giardia* ainda necessite de investigação adicional, tudo indica que existe uma relação recíproca onde a rutura do muco leva à disbiose e vice-versa. A disbiose na giardíase pode resultar em alterações das propriedades do muco, incluindo de padrões de glicosilação e penetrabilidade. Alterações nas populações de bactérias mucolíticas podem resultar na alteração da degradação do muco ao longo do intestino, mesmo em regiões do intestino, como o intestino grosso, onde este parasita não coloniza, mas ainda assim tem influência<sup>51</sup>. Variações individuais na estrutura do muco e composição como resultado de variabilidade na microbiota intestinal individual pode impactar a suscetibilidade à colonização por *Giardia* e à severidade dos sintomas. Estes efeitos podem persistir algum tempo depois da clearance do parasita, podendo potencialmente contribuir, pelo menos em parte, para o desenvolvimento de doenças pós-infecção<sup>46</sup>.

#### **4. Microbiota como fator importante para prevenir futuras infecções**

Uma vez que diferentes composições da microbiota podem ser favoráveis ou não à colonização do hospedeiro pelo parasita, a modulação da microbiota pode potencialmente ser utilizada como alvo terapêutico. Por exemplo, a modulação da microbiota pode impedir ou suprimir disfunções imunológicas através do controlo de respostas imunes exageradas contra os antigénios não patogénicos, como acontece em reações alérgicas ou em doenças autoimunes<sup>52</sup>. Inúmeros estudos realçam a importância de certos componentes da microbiota na proteção do hospedeiro contra respostas alérgicas e de hipersensibilidade, bem como de

outras disfunções imunológicas<sup>23</sup>. Desta forma, o estudo das características das diferentes interações entre protozoários e bactérias pode ser útil para o *design* de estratégias para tratar a disbiose provocada por protozoários patogênicos e/ou uma resposta imune excessiva.

O avanço notável na tecnologia, nomeadamente a nível do sequenciamento genómico e da bioinformática, possibilitou um estudo mais aprofundado da microbiota, levando a alguns avanços importantes nesta área.

Podem ser utilizadas várias estratégias para promover alterações na composição da microbiota e desta forma, restaurar a sua homeostase, nomeadamente através de prebióticos, probióticos, transplante da microbiota fecal de um dador saudável ou infeção por *Blastocystis*. Qualquer uma destas intervenções pode ser benéfica em modificar a interação das bactérias com parasitas, afetar o seu comportamento patogénico e o *outcome* da doença no hospedeiro.

#### 4.1. Prebióticos

Gibson e Roberfroid, em 1995, definiram prebióticos como uma classe de compostos que estimulam o crescimento e/ou atividade de um número limitado de bactérias benéficas (*Lactobacilli* e/ou *Bifidobacteria*) no cólon, melhorando a saúde do hospedeiro<sup>53</sup>. No entanto, essa definição agora foi ampliada e incluiu substâncias de carboidratos e não carboidratos que conferem benefícios à saúde mediados pela microbiota.

A Food and Agricultural Organization (FAO) definiu os prebióticos como um componente alimentar não viável que confere um benefício à saúde do hospedeiro associado à modulação da microbiota<sup>54</sup>. Os prebióticos mais estudados até agora são a inulina, fruto-oligossacarídeos e a oligofrutose. Além destes, outros prebióticos também importantes são oligossacarídeos, como o xilo-oligossacarídeos, ciclodextrinas, palatinose, entre outros<sup>55</sup>. Os prebióticos foram reportados como redutores de obstipação, promotores de redução ou ganho de peso, manutenção dos níveis de glucose e lípidos e como agentes anticarcinogénicos<sup>1</sup>. Os prebióticos induzem uma estimulação seletiva da microbiota do hospedeiro, uma vez que são substratos fermentados seletivamente, estimulando o crescimento e atividade do microrganismo de interesse e, assim, contribuem para um bom estado de saúde<sup>1</sup>. Os prebióticos podem ser incluídos na dieta pelo consumo de fibras alimentares como a pectina, presente em maçãs e morangos, a hemicelulose, presente em grãos integrais, vegetais com folha, cenouras e oligossacarídeos<sup>1</sup>. O mecanismo protetor dos prebióticos envolve a modulação da microbiota intestinal, indução da proliferação das células enteroendócrinas L, alteração da secreção de peptídeos intestinais e alterações na resposta inflamatória<sup>1</sup>.

## 4.2. Probióticos

A World Health Organization (WHO) e a FAO, definiram os probióticos como microorganismos vivos que, quando são administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios na saúde do hospedeiro<sup>56</sup>. O consumo de probióticos pode ser uma medida preventiva para manter a microbiota intestinal saudável, uma vez que foram reconhecidos como medidas terapêuticas na manutenção da saúde e prevenção de inúmeras doenças, podendo atuar a nível da aterosclerose, cancro, infeções por *Helicobacter pylori*, melhoria da intolerância à lactose, e prevenindo ou reduzindo os efeitos da dermatite atópica<sup>1</sup>.

Os probióticos desempenham o seu papel no corpo humano através de alterações nas comunidades da microbiota intestinal, supressão de patógenos, estimulação da proliferação e diferenciação de células epiteliais e fortificação da barreira intestinal<sup>57</sup>.

São principalmente as espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacteria*, produtoras de ácido láctico, que são classificadas como probióticos, mas é necessário cuidado na seleção dos microrganismos para se obter o efeito clínico desejado, já que nem todos os probióticos são benéficos em todas as circunstâncias<sup>1</sup>. Foi relatado que o uso excessivo de probióticos específicos, nomeadamente de *Lactobacillus rhamnosus*, causa bacteremia, sepsis ou endocardite em indivíduos com inflamações graves nos órgãos digestivos<sup>58</sup>. Assim, é importante usar quantidades adequadas de probióticos atendendo às especificidades dos pacientes.

## 4.3. Transplante de Microbiota Fecal

O transplante de microbiota fecal (TMF) é um método em que é preparada uma solução de material fecal do dador e é administrada diretamente no intestino do recetor de forma a alterar rapidamente a diversidade da microbiota do recetor, repondo a homeostase da microbiota e induzindo efeitos benéficos na saúde do recetor<sup>1</sup>.

Recentemente vários estudos relataram o efeito benéfico do TMF no tratamento de doenças inflamatórias do intestino, obesidade e outras doenças metabólicas. Num estudo randomizado e controlado foram incluídas 75 pessoas com colite ulcerosa ativa e foram tratadas semanalmente com TMF ou com enema de água durante 6 semanas, tendo sido demonstrado que houve remissão em 24% nos indivíduos tratados com TMF e 5% nos indivíduos tratados com água como controlo<sup>59</sup>.

No que diz respeito à segurança do TMF, apenas algumas pessoas que participaram em diferentes estudos tiveram sintomas ligeiros de tonturas, diarreia e febre<sup>1</sup>. No entanto, é necessário realizar estudos mais aprofundados desta técnica, nomeadamente no que diz respeito

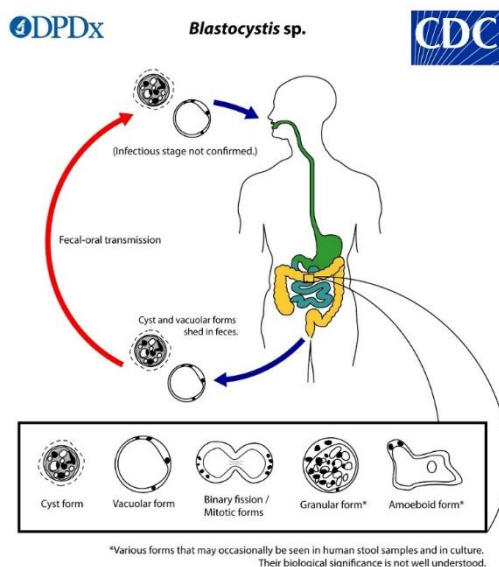
aos seus mecanismos de ação, e é preciso otimizar as metodologias utilizadas, incluindo a triagem de doadores, preparação de fezes e vias de administração, com o objetivo de melhorar a eficácia e segurança, contribuindo para uma melhor aplicação clínica.

#### 4.4. *Blastocystis*

O protozoário *Blastocystis* é um parasita com elevada prevalência e que está distribuído mundialmente<sup>60</sup>. Foi demonstrado que *Blastocystis* é transmitido por via fecal-oral, por exemplo, através de água contaminada<sup>61</sup>. As taxas de infecção humana estão entre 1- 60% ou até 100%, dependendo da localização geográfica, situação económica, e outros. A infecção por *Blastocystis* pode afetar mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo<sup>62</sup>. O seu significado clínico e de saúde pública ainda permanece incerto, principalmente porque é comum tanto em pessoas saudáveis como em pacientes que sofrem de sintomas intestinais, incluindo a diarreia e síndrome do intestino irritável<sup>63</sup>.

##### 4.4.1. Ciclo de vida

*Blastocystis* apresenta vários estágios evolutivos, podendo apresentar-se sob formas vacuolar, granular, multivacuolar, ameboide e cística. Apresenta diferentes formas de replicação, sendo a mais comum a fissão binária<sup>64</sup>. No entanto, não se conhece bem o seu ciclo de vida e vias de transmissão. Tudo indica que o cisto de parede espessa, presente nas fezes humanas, é a forma responsável pela transmissão externa por via fecal-oral, de pessoa para pessoa, de pessoa para animal, ou indiretamente, através da ingestão de água ou alimentos contaminados (Figura 5)<sup>65</sup>.



**Figura 5** - Ciclo de vida de *Blastocystis* (65).

#### 4.4.2. Efeito na microbiota

O efeito que a disbiose da microbiota intestinal exerce sobre a resposta imune humana pode manifestar-se como uma situação inflamatória no organismo. Portanto, numa microbiota co-infetada com alguns protozoários, por exemplo *Blastocystis* spp, o potencial anti-inflamatório deste parasita e o aumento da diversidade bacteriana provocada por ele, podem exercer um efeito terapêutico no tratamento de doenças inflamatórias crônicas intestinais ou outras doenças autoimunes<sup>23</sup>. Uma infecção por *Clostridium difficile*, DII primária, Doença de Crohn's e Colite Ulcerativa, estão associadas a uma diminuição da diversidade da microbiota intestinal que leva a uma situação de disbiose. Assim o parasita *Blastocystis* pode ser uma ajuda interessante na reposição da homeostase na composição bacteriana<sup>66</sup>.

De acordo com um estudo recente que foi realizado numa população rural no estado de Morelos no México, indivíduos assintomáticos infetados com *Blastocystis* demonstraram uma maior diversidade nas bactérias da microbiota intestinal com elevados níveis dos gêneros *Alistipes*, *Oscillospira* e *Ruminococcus*, e com níveis reduzidos de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Prevotella*<sup>23</sup>. A presença de *Blastocystis* e a microbiota associada não induziu um estado inflamatório. Pelo contrário, observou-se um estado anti-inflamatório, caracterizado por uma baixa concentração de marcadores inflamatórios fecais<sup>23</sup>.

Outro estudo realizado em pacientes com *Blastocystis*, foi demonstrado que os pacientes tinham maior abundância de *Clostridia*, *Ruminococcaceae* e *Prevotellaceae*, enquanto indivíduos *Blastocystis-free* estavam enriquecidos com *Enterobacteriaceae*. Como a inflamação do trato gastrointestinal inferior está associada a uma diminuição dos membros de *Clostridia* e a um aumento de *Enterobacteriaceae* anaeróbias facultativas, os resultados sugerem uma associação entre a colonização do *Blastocystis* e uma microbiota saudável<sup>67</sup>.

Há cada vez mais evidências sobre a atividade anti-inflamatória resultante da colonização intestinal pelo protozoário *Blastocystis*. No entanto, é necessário determinar o papel do protozoário no processo de doença e estudar as condições sob as quais o parasita pode induzir uma resposta anti-inflamatória<sup>22, 68</sup>.

Se *Blastocystis* é patogênico ou não pode depender dos seus efeitos na microbiota intestinal. Mais estudos são necessários com foco na influência da colonização intestinal de *Blastocystis* na composição bacteriana da microbiota em indivíduos saudáveis assintomáticos e doentes com DII. Deve ser dada particular atenção à associação da infecção por *Blastocystis* e a presença de biomarcadores relacionados com a produção de radicais livres, stress oxidativo e inflamação<sup>23,68</sup>.

## 5. Considerações Finais

As infecções parasitárias continuam a ser um problema de saúde pública. A falta de tratamentos efetivos e a emergência de parasitas resistentes destaca a necessidade urgente de novas terapêuticas para estas doenças.

Uma vez que composições distintas da microbiota podem ser favoráveis ou desfavoráveis para a colonização do hospedeiro por parasitas, a modulação da microbiota pode potencialmente ser utilizada para fins terapêuticos. O estudo das interações dos parasitas com a microbiota intestinal pode ser uma abordagem inovadora para descobrir novos alvos de ação. De facto, nos últimos anos, tem sido estudado o efeito da microbiota intestinal nas doenças induzidas por parasitas, bem como o desenvolvimento de prebióticos, probióticos e técnicas de transplante fecal para prevenir e diminuir a progressão da doença.

O papel de *Blastocystis* na relação parasita-hospedeiro indica que este poderá ser um parasita benéfico no intestino, contudo há algumas evidências que apontam no sentido oposto, podendo ser responsável por patologia intestinal. O estudo deste parasita, nomeadamente sobre os mecanismos através dos quais modula a microbiota intestinal, poderá trazer informações relevantes relativamente a esta temática.



## 6. Bibliografia

1. GOMAA, Eman Zakaria - Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. **Antonie van Leeuwenhoek**. ISSN 1572-9699. 113:12 (2020) 2019-2040.
2. DESSELBERGER, Ulrich - The mammalian intestinal microbiome: composition, interaction with the immune system, significance for vaccine efficacy, and potential for disease therapy. **Pathogens**. ISSN 2076-0817. 7:3 (2018) 57.
3. IPCI, Kagan [et al.] - The possible mechanisms of the human microbiome in allergic diseases. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**. ISSN 1434-4726. 274:2 (2016) 617-626.
4. LEY, Ruth E. ; PETERSON, Daniel A. ; GORDON, Jeffrey I. - Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. **Cell**. ISSN 0092-8674. 124:4 (2006) 837-848.
5. ADAK, Atanu ; KHAN, Mojibur R. - An insight into gut microbiota and its functionalities. **Cellular and Molecular Life Sciences**. ISSN 1420-9071. 76:3 (2018) 473-493.
6. LOUIS, Petra ; FLINT, Harry J. - Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**. ISSN 1462-2920. 19:1 (2016) 29-41.
7. FAN, Yong ; PEDERSEN, Oluf - Gut microbiota in human metabolic health and disease. **Nature Reviews Microbiology**. ISSN 1740-1534. 19:1 (2020) 55-71.
8. SANNA, Serena [et al.] - Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. **Nature Genetics**. ISSN 1546-1718. 51:4 (2019) 600-605.
9. FREELAND, Kristin R. ; WOLEVER, Thomas M. S. - Acute effects of intravenous and rectal acetate on glucagon-like peptide-1, peptide YY, ghrelin, adiponectin and tumour necrosis factor- $\alpha$ . **British Journal of Nutrition**. ISSN 1475-2662. 103:3 (2009) 460-466.
10. RIDLON, Jason M. ; KANG, Dae-Joong ; HYLEMON, Phillip B. - Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. **Journal of Lipid Research**. ISSN 1539-7262. 47:2 (2005) 241-259.
11. ROUND, June L. ; MAZMANIAN, Sarkis K. - The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. **Nature Reviews Immunology**. ISSN 1474-1741. 9:5 (2009) 313-323.

12. ZHOU, An [et al.] - Crosstalk between the gut microbiota and epithelial cells under physiological and infectious conditions. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 2235-2988. 12 (2022).
13. JOHANSSON, M. E. V. [et al.] - The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. ISSN 1091-6490. 105:39 (2008) 15064-15069.
14. XU, J. - A genomic view of the human-bacteroides thetaiotaomicron symbiosis. **Science**. ISSN 1095-9203. 299:5615 (2003) 2074-2076.
15. MACPHERSON, A. J. - Induction of protective iga by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. **Science**. ISSN 1095-9203. 303:5664 (2004) 1662-1665.
16. BERRILLI, Federica [et al.] - Interactions between parasites and microbial communities in the human gut. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 2235-2988. 2 (2012).
17. MARTIN-GALLAUSIAUX, Camille [et al.] - SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. **Proceedings of the Nutrition Society**. ISSN 1475-2719. (2020) 1-13.
18. ROOKS, Michelle G.; GARRETT, Wendy S. - Gut microbiota, metabolites and host immunity. **Nature Reviews Immunology**. ISSN 1474-1741. 16:6 (2016) 341-352.
19. FUNG, Thomas C.; OLSON, Christine A.; HSIAO, Elaine Y. - Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease. **Nature Neuroscience**. ISSN 1546-1726. 20:2 (2017) 145-155.
20. CARABOTTI, Marilia [et al.] - The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. **Annals of Gastroenterology**. (2015) 203-209.
21. SARKAR, Amar [et al.] - Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. **Trends in Neurosciences**. ISSN 0166-2236. 39:11 (2016) 763-781.
22. CHABÉ, Magali; LOKMER, Ana ; SÉGUREL, Laure - Gut protozoa: friends or foes of the human gut microbiota? **Trends in Parasitology**. ISSN 1471-4922. 33:12 (2017) 925-934.
23. PARTIDA-RODRÍGUEZ, Oswaldo [et al.] - Human intestinal microbiota: interaction between parasites and the host immune response. **Archives of Medical Research**. ISSN 0188-4409. 48:8 (2017) 690-700.
24. OSMAN, Marwan [et al.] - Prevalence and risk factors for intestinal protozoan infections with cryptosporidium, giardia, blastocystis and dientamoeba among schoolchildren in tripoli,

lebanon. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. ISSN 1935-2735. 10:3 (Mar. 2016) e0004496.

25. BOUGHATTAS, Sonia [et al.] - Molecular analysis of the enteric protozoa associated with acute diarrhea in hospitalized children. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 2235-2988. 7 (2017).

26. HIJJAWI, Nawal [et al.] - Prevalence of Cryptosporidium species and subtypes in paediatric oncology and non-oncology patients with diarrhoea in Jordan. **Infection, Genetics and Evolution**. ISSN 1567-1348. 55 (2017) 127-130.

27. DUPAUL-CHICOINE, Jeremy; DAGENAIS, Maryse ; SALEH, Maya - Crosstalk between the intestinal microbiota and the innate immune system in intestinal homeostasis and inflammatory bowel disease. **Inflammatory Bowel Diseases**. ISSN 1078-0998. 19:10 (2013) 2227-2237.

28. LIN, Lan ; ZHANG, Jianqiong - Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. **BMC Immunology**. ISSN 1471-2172. 18:1 (2017).

29. HAAG, Lea-Maxie ; SIEGMUND, Britta - Intestinal microbiota and the innate immune system – A crosstalk in crohn’s disease pathogenesis. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 6 (2015).

30. SANEIAN, Hossein [et al.] - Infection rate of cryptosporidium parvum among diarrheic children in isfahan. **Iran J Pediatr**. 20:3 (2010) 343-347.

31. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Toxoplasmosis** [Consultado a 20 de maio de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/dpdx/toxoplasmosis/index.html>

32. OLGUÍN, Jonadab E. [et al.] - Adoptive transfer of CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells to C57BL/6J mice during acute infection with Toxoplasma gondii down modulates the exacerbated Th1 immune response. **Microbes and Infection**. ISSN 1286-4579. 17:8 (2015) 586-595.

33. ALLOO, Jérémy [et al.] - Parasite infections, neuroinflammation, and potential contributions of gut microbiota. **Frontiers in Immunology**. ISSN 1664-3224. 13 (2022).

34. BAILEY, Michael T. [et al.] - Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. **Brain, Behavior, and Immunity**. ISSN 0889-1591. 25:3 (2011) 397-407.

35. ANKRI, Serge - Entamoeba histolytica—gut microbiota interaction: more than meets the eye. **Microorganisms**. ISSN 2076-2607. 9:3 (2021) 581.
36. IYER, Lakshmi Rani [et al.] - Phagocytosis of gut bacteria by entamoeba histolytica. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 2235-2988. 9 (2019).
37. LEON-CORIA, Aralia ; KUMAR, Manish ; CHADEE, Kris - The delicate balance between Entamoeba histolytica, mucus and microbiota. **Gut Microbes**. ISSN 1949-0984. 11:1 (2019) 118-125.
38. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Amebiasis** [Consultado a 2 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>
39. HAQUE, Rashidul [et al.] - Amebiasis. **New England Journal of Medicine**. ISSN 1533-4406. 348:16 (2003) 1565-1573.
40. CHEEPSATTAYAKORN, Attapon; CHEEPSATTAYAKORN, Ruangrong - Parasitic pneumonia and lung involvement. **BioMed Research International**. ISSN 2314-6141. 2014 (2014) 1-18.
41. XIMÉNEZ, Cecilia [et al.] - Human amebiasis: breaking the paradigm? **International Journal of Environmental Research and Public Health**. ISSN 1660-4601. 7:3 (2010) 1105-1120.
42. VERMA, Anil Kumar [et al.] - Real-time analysis of gut flora in Entamoeba histolytica infected patients of Northern India. **BMC Microbiology**. ISSN 1471-2180. 12:1 (2012) 183.
43. MORTON, Elise R. [et al.] - Variation in rural african gut microbiota is strongly correlated with colonization by entamoeba and subsistence. **PLOS Genetics**. ISSN 1553-7404. 11:11 (2015) e1005658.
44. GILCHRIST, Carol A. [et al.] - Role of the gut microbiota of children in diarrhea due to the protozoan parasite entamoeba histolytica. **Journal of Infectious Diseases**. ISSN 1537-6613. 213:10 (2015) 1579-1585.
45. SHAHI, Preeti [et al.] - Proteomic identification of oxidized proteins in entamoeba histolytica by resin-assisted capture: insights into the role of arginase in resistance to oxidative stress. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. ISSN 1935-2735. 10:1 (2016) e0004340.
46. FEKETE, Elena [et al.] - Giardia spp. and the gut microbiota: dangerous liaisons. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664-302X. 11 (2021).

47. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - **Giardiasis** [Consultado a 2 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>
48. BEATTY, Jennifer K. [et al.] - Giardia duodenalis induces pathogenic dysbiosis of human intestinal microbiota biofilms. **International Journal for Parasitology**. ISSN 0020-7519. 47:6 (2017) 311-326.
49. BARASH, N. R. [et al.] - Giardia colonizes and encysts in high-density foci in the murine small intestine. **mSphere**. ISSN 2379-5042. 2:3 (2017).
50. BEATTY, Jennifer K. [et al.] - Giardia duodenalis induces pathogenic dysbiosis of human intestinal microbiota biofilms. **International Journal for Parasitology**. ISSN 0020-7519. 47:6 (2017) 311-326.
51. AMAT, Christina B. [et al.] - Cysteine protease–dependent mucous disruptions and differential mucin gene expression in giardia duodenalis infection. **The American Journal of Pathology**. ISSN 0002-9440. 187:11 (2017) 2486-2498.
52. IPCI, Kagan [et al.] - The possible mechanisms of the human microbiome in allergic diseases. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**. ISSN 1434-4726. 274:2 (2016) 617-626.
53. GIBSON, Glenn R. ; ROBERFROID, Marcel B. - Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**. ISSN 1541-6100. 125:6 (1995) 1401-1412.
54. PINEIRO, Maya [et al.] - FAO technical meeting on prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**. ISSN 0192-0790. 42 (2008) S156—S159.
55. SEKIROV, Inna [et al.] - Gut microbiota in health and disease. **Physiological Reviews**. ISSN 1522-1210. 90:3 (2010) 859-904.
56. SALMINEN, Seppo [et al.] - The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. ISSN 1759-5053. 18:9 (2021) 649-667.
57. RICHARDS, James L. [et al.] - Dietary metabolites and the gut microbiota: an alternative approach to control inflammatory and autoimmune diseases. **Clinical & Translational Immunology**. ISSN 2050-0068. 5:5 (2016) e82.
58. BOYLE, Robert J. ; ROBINS-BROWNE, Roy M. ; TANG, Mimi Lk - Probiotic use in clinical practice: what are the risks? **The American Journal of Clinical Nutrition**. ISSN 1938-3207. 83:6 (2006) 1256-1264

59. WU, Hsin-Jung ; WU, Eric - The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. **Gut Microbes**. ISSN 1949-0984. 3:1 (2012) 4-14.
60. ALFELLANI, Mohammed A. [et al.] - Variable geographic distribution of Blastocystis subtypes and its potential implications. **Acta Tropica**. ISSN 0001-706X. 126:1 (2013) 11-18.
61. LEELAYOOVA, Saovanee - Drinking water: a possible source of Blastocystis spp. subtype I infection in schoolchildren of a rural community in central Thailand. **Am J Trop Med Hyg**. (2008).
62. SCANLAN, Pauline D. ; STENSVOLD, Christen Rune ; COTTER, Paul D. - Development and application of a blastocystis subtype-specific PCR assay reveals that mixed-subtype infections are common in a healthy human population. **Applied and Environmental Microbiology**. ISSN 1098-5336. 81:12 (2015) 4071-4076.
63. SCANLAN, Pauline D. [et al.] - The microbial eukaryote Blastocystis a prevalent and diverse member of the healthy human gut microbiota. **FEMS Microbiology Ecology**. ISSN 0168-6496. 90:1 (2014) 326-330.
64. POIRIER, Philippe [et al.] - New insights into blastocystis spp.: a potential link with irritable bowel syndrome. **PLoS Pathogens**. ISSN 1553-7374. 8:3 (2012) e1002545.
65. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - **Blastocystis sp.** [Consultado a 5 de junho de 2023]. Disponível na Internet: <https://www.cdc.gov/dpdx/blastocystis/index.html>
66. GIL, Gaby S. [et al.] - Blastocystis sp. infection mimicking Clostridium difficile colitis. **Case Reports in Infectious Diseases**. ISSN 2090-6633. 2016 (2016) 1-2.
67. AUDEBERT, Christophe [et al.] - Colonization with the enteric protozoa Blastocystis is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota. **Scientific Reports**. ISSN 2045-2322. 6:1 (2016).
68. ROJAS-VELÁZQUEZ, Liliana [et al.] - The regulatory function of Blastocystis spp. on the immune inflammatory response in the gut microbiome. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 2235-2988. 12 (2022).