



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Isabel Marques Vinhanova

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Diogo Moura e da Dra. Inês Martins e Monografia intitulada “The effect of antibiotics on the gut microbiota and its relationship with depression” sob orientação da Professora Doutora Catarina Alexandra Reis Vale Gomes 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

Mariana Isabel Marques Vinhanova

Relatórios de Estágio sob a orientação do Dr. Diogo Moura e da Dra. Inês Martins e Monografia intitulada “The effect of antibiotics on the gut microbiota and its relationship with depression” sob orientação da Professora Doutora Catarina Alexandra Reis Vale Gomes 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 2023

Eu, Mariana Isabel Marques Vinhanova, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018298446, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “The effect of antibiotics on the gut microbiota and its relationship with depression” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 7 de setembro de 2023.

Mariana Vinhanova

(Mariana Vinhanova)

Agradecimentos

Gostaria de exprimir o meu profundo e sincero agradecimento a todos aqueles que, nos últimos cinco anos, acompanharam e contribuíram para o meu percurso académico. Em particular, gostaria de agradecer aos meus pais, ao meu irmão e aos meus avós, pelo apoio e incentivo incondicionais; obrigada por nunca me terem deixado desistir, por terem sempre acreditado em mim e por acima de tudo estarem sempre do meu lado, mesmo nos momentos mais difíceis. Sem vocês este percurso não teria sido possível.

Agradeço aos meus amigos de curso e também àqueles que tive a oportunidade de conhecer no decorrer dos estágios. Obrigada por todas as experiências partilhadas, pela cumplicidade, motivação e entreaajuda demonstradas e por todos os bons momentos que passamos.

Gostaria, também, de dirigir uma palavra de agradecimento às entidades que me acolheram no estágio curricular, a Farmácia Moura e o Laboratório Nacional do Medicamento. Deixo uma palavra especial àqueles que me acompanharam de perto durante os respetivos estágios, que contribuíram para esta última etapa do meu percurso e para o trabalho que neste documento apresento. Assim, agradeço:

Ao Dr. Diogo Moura e a toda a equipa técnica da Farmácia Moura, pela amizade, carinho, disponibilidade e atenção que sempre demonstraram e por todos os ensinamentos que me transmitiram.

À equipa da divisão de Produção e do Controlo de Qualidade do Laboratório Nacional do Medicamento, pela forma como me receberam e integraram, em especial à Dra. Joana Pereira, pela simpatia, disponibilidade e ajuda durante todo o meu estágio.

Por último, mas não menos importante, não poderia deixar de agradecer à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, aos docentes e não docentes desta instituição pela formação e valores transmitidos ao longo destes 5 anos, e em especial à Professora Doutora Catarina Gomes, pela orientação e acompanhamento na elaboração da monografia.

A todos vós, o meu sincero obrigada.

Resumo do Documento

O presente documento é o resultado do trabalho teórico e prático desenvolvido no âmbito da unidade curricular “Estágio”, integrada no 2º semestre do 5º ano, no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC). A apresentação, discussão pública e aprovação deste trabalho são condições necessárias para a conclusão do curso e consequente obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

O documento é constituído por três partes. Na primeira e segunda parte são apresentados, respetivamente, o Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária e o Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica. Após uma breve contextualização sobre os locais de estágio, ambos os relatórios tomam a forma de uma análise SWOT (do inglês, *Strengths* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades), *Threats* (Ameças)), sendo feita uma apreciação crítica dos estágios. Adicionalmente, no Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária é feita uma descrição de cinco casos práticos que ocorreram durante o estágio e que considere relevante integrar neste trabalho. Por último, a terceira parte diz respeito à Monografia, intitulada “The effect of antibiotics on the gut microbiota and its relationship with depression”, pretendendo-se perceber de que forma é que os antibióticos impactam a microbiota intestinal e a possível relação com a depressão.

A saúde mental constitui um dos principais desafios de saúde pública na Europa. Em Portugal, verifica-se uma incidência crescente das doenças mentais, nomeadamente depressão. Por outro lado, outra das preocupações da atualidade é o uso indiscriminado de antibióticos. No âmbito do meu estágio em farmácia comunitária, pude constatar o grande consumo de medicamentos antidepressivos e antibióticos, considerando serem temáticas pertinentes para abordar na minha monografia. O farmacêutico comunitário pode e deve ter um papel ativo na gestão da saúde mental da população e no uso racional de antibióticos, pois encontra-se numa estrutura de saúde capaz de prestar cuidados regulares e de proximidade, o que permite gerar um alto nível de confiança entre o utente e o farmacêutico, facilitando a intervenção deste último. Mais concretamente, o farmacêutico deve atuar no sentido de garantir o acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança, bem como educar e prestar apoio ao doente, de forma a aumentar a adesão à terapêutica, acompanhar a eficácia do tratamento e identificar possíveis efeitos adversos.

Palavras-chave: Farmácia Comunitária; Indústria Farmacêutica; Antibióticos; Microbiota Intestinal; Depressão.

Abstract of the Document

The present document is the result of the theoretical and practical work developed within the context of the curricular unit "Internship", integrated in the 2nd semester of the 5th year, in the study plan of the Integrated Master's Degree in Pharmaceutical Sciences (*MICF*, from the Portuguese *Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas*) of the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra (*FFUC*, from the Portuguese *Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra*). The presentation, public discussion and approval of this work are required conditions for the completion of the course and consequent obtention of the Master's degree in Pharmaceutical Sciences.

The document consists of three parts. In the first and second parts are presented, respectively, the Community Pharmacy Internship Report and the Pharmaceutical Industry Internship Report. After a brief contextualization of the places where the internships took place, both reports take the form of a SWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats) analysis and a critical appreciation of the internships is made. Additionally, in the Community Pharmacy Internship Report, a description of five practical cases that occurred during the internship and that I considered relevant to integrate into this work is presented. Lastly, the third part of the work corresponds to the Monograph, entitled "The effect of antibiotics on the gut microbiota and its relationship with depression". In the monograph, it is attempted to understand how antibiotics impact the gut microbiota and the possible relationship to depression.

Mental health is one of the main public health challenges in Europe. In Portugal, there is an increasing incidence of mental illnesses, namely depression. On the other hand, another of the current concerns is the indiscriminate use of antibiotics. As part of my internship in community pharmacy, I was able to see the large consumption of antidepressants and antibiotics, considering them to be relevant themes to be addressed in my monograph. The community pharmacist can and should play an active role in the management of the mental health of the population and in the rational use of antibiotics because he is integrated into a health care structure capable of providing regular and close care, which allows a high level of confidence between the user and the pharmacist, facilitating the intervention of the latter. More specifically, the pharmacist must act to ensure access to quality, effective and safe treatment, as well as educate and support the patient in order to increase adherence to therapy, monitor the effectiveness of treatment and identify possible adverse effects.

Keywords: Community Pharmacy; Pharmaceutical Industry; Antibiotics; Gut Microbiota; Depression.

Índice

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	10
1. Introdução.....	11
2. Estágio na Farmácia Moura.....	11
3. Análise SWOT	12
3.1. Pontos Fortes.....	12
3.1.1. Inclusão em todas as tarefas da farmácia.....	12
3.1.2. Contacto com o atendimento ao público.....	13
3.1.3. Disponibilidade e entreaajuda da equipa	13
3.1.4. Diversidade de serviços prestados ao utente	13
3.2. Pontos Fracos	14
3.2.1. Conhecimento limitado em determinadas áreas.....	14
3.2.2. Sazonalidade do estágio.....	14
3.3. Oportunidades.....	15
3.3.1. Contacto com o Sifarma®	15
3.3.2. Formações	15
3.3.3. Sessão de sensibilização sobre “Doenças Venosas”	16
3.4. Ameaças	16
3.4.1. Venda de MNSRM fora da farmácia	16
3.4.2. Medicamentos esgotados ou rateados	17
4. Casos Práticos	18
Caso Prático 1: Obstipação e hemorroidas.....	18
Caso Prático 2: Afeção ginecológica	19
Caso Prático 3: Perturbação do sono.....	19
Caso Prático 4: Dor de dentes.....	20
Caso Prático 5: Afeção gastrointestinal.....	21
5. Considerações Finais	21
Referências Bibliográficas	22
Anexos.....	23

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas	27
1. Introdução.....	28
2. Laboratório Nacional do Medicamento	28
3. Análise SWOT	29
3.1. Pontos fortes.....	29
3.1.1. Receção e plano de integração no departamento de produção.....	29
3.1.2. Produção de medicamentos da exclusiva responsabilidade do LM	30
3.1.3. Produção de medicamentos na forma de cápsulas, pomadas, soluções e xaropes	32
3.1.4. Contacto com uma grande variedade de equipamentos utilizados nas atividades laboratoriais.....	32
3.1.5. Acompanhamento de estudos de estabilidade.....	32
3.1.6. Ensaio em medicamentos e águas de consumo humano.....	33

3.2.	Pontos fracos	33
3.2.1.	Ausência de um plano de estágio e fluxo de trabalho irregular	33
3.3.	Oportunidades.....	34
3.3.1.	Importância do estágio em indústria farmacêutica.....	34
3.3.2.	Acompanhamento da realização de auditorias externas.....	34
3.3.3.	Formações.....	34
3.3.4.	Participação numa colheita de água de consumo humano	35
3.4.	Ameaças	35
3.4.1.	Ocorrência de trabalhos em simultâneo.....	35
4.	Considerações Finais	36
	Referências Bibliográficas	37
	Anexos.....	39
	Monografia	
	Abstract.....	43
	Resumo.....	44
	Abbreviations.....	45
1.	Introduction.....	47
2.	Depression.....	47
2.1.	Pathophysiology.....	48
2.1.1.	Monoamine hypothesis.....	48
2.1.2.	Neuroendocrine system: HPA axis.....	49
2.1.3.	Neurotrophins and neurogenesis – BDNF hypothesis.....	50
2.1.4.	Glutathione hypothesis.....	51
2.1.5.	Chronic inflammation.....	51
2.1.6.	The endocannabinoid system.....	52
2.2.	Signs and symptoms.....	52
2.3.	Diagnosis and treatment.....	53
2.3.1.	Antidepressant medications	53
3.	The Human Gut Microbiota	54
3.1.	Definition and overview	54
3.2.	How the gut microbiota evolves: from birth to adulthood.....	55
3.3.	Functions of the gut microbiota	57
3.4.	Factors that affect the gut microbiota.....	57
3.4.1.	Antibiotics.....	59
4.	Antibiotic-Induced Changes in the Gut Microbiota	61
5.	The Microbiota-Gut-Brain Axis.....	68
5.1.	Pathways of the MGB axis.....	69
5.1.1.	Neurologic pathway.....	69
5.1.2.	Endocrine pathway.....	70
5.1.3.	Metabolic pathway.....	70
5.1.4.	Immune pathway	71
6.	Evidence of the Relationship Between the Gut Microbiota and Depression.....	72
6.1.	Depressed patients have different gut microbiota from healthy ones.....	72
6.2.	Depressive symptoms can be transmitted following faecal microbiota transplantation.....	72

6.3. Gut microbiota disturbances increase the susceptibilities of depression	73
6.4. Gut microbiota restoration alleviates depression	74
7. Conclusions	75
References.....	76
Annex I.....	88



Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Moura

Orientado pelo Doutor Diogo Moura

Lista de Abreviaturas

DM	Dispositivo médico
FEFO	<i>First expired, first out</i>
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
FM	Farmácia Moura
GLINTT	Global Intelligent Technologies
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamento não sujeito a receita médica
MNSRM-EF	Medicamento não sujeito a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia
MSRM	Medicamento sujeito a receita médica
MUV	Medicamento de uso veterinário
PIM	Preparação individualizada da medicação
PSBE	Produto de saúde e bem-estar
SWOT	<i>Strengths</i> (Forças), <i>Weaknesses</i> (Fraquezas), <i>Opportunities</i> (Oportunidades), <i>Threats</i> (Ameaças)

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), lecionado em várias instituições de ensino superior, de entre as quais a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), é o curso académico que habilita os estudantes para o exercício da profissão farmacêutica.

No âmbito do estágio curricular do curso, o qual dá cumprimento à Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro 2013¹, é obrigatória a realização de um estágio em farmácia comunitária, tendo como objetivo promover o contacto dos estudantes, em contexto simulado de trabalho, com aquela que é a face mais visível da profissão.

O presente relatório diz respeito ao estágio por mim realizado em farmácia comunitária, mais concretamente na Farmácia Moura (FM), de 9 de janeiro de 2023 a 21 de abril de 2023, sob a orientação do Doutor Diogo Moura, farmacêutico substituto, e sob a supervisão da restante equipa técnica.

O relatório compreende essencialmente três partes. Numa primeira parte, figura uma breve descrição da FM e das tarefas nas quais tive a oportunidade de participar. Numa segunda parte, o relatório toma a forma de uma análise *SWOT* (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), apresentando-se uma reflexão crítica sobre os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças do estágio. Na terceira parte, é feita a descrição de 5 casos práticos que ocorreram durante o estágio e que considere relevante integrar neste trabalho.

2. Estágio na Farmácia Moura

A FM situa-se em Tondela, na Praça do Comércio, n.º20. É uma das farmácias mais antigas da cidade, contando com mais de 100 anos de existência. Dispõe de uma localização privilegiada, junto à parte antiga da cidade e na proximidade de estabelecimentos de ensino, restauração e outros de relevo como os Correios, o Tribunal Judicial e um Banco, o que faz com que seja procurada por utentes diversos (residentes, utentes fidelizados, turistas e veraneantes). A equipa técnica da FM é composta por 8 elementos, de entre os quais 3 farmacêuticos e 5 técnicos de farmácia e caracteriza-se pelo seu profissionalismo, competência, dinamismo e simpatia.

A principal atividade de uma farmácia é indubitavelmente a dispensa de medicamentos e de outros produtos de saúde e bem-estar (PSBE). No entanto, a atividade da FM vai além disso, oferecendo uma série de serviços que fazem dela um espaço de promoção para a saúde e prevenção de doença, nomeadamente medição de parâmetros (pressão arterial, glicémia,

colesterol total, triglicéridos, peso corporal e altura), consultas de nutrição e de podologia, administração de injetáveis, testes rápidos de antigénio, preparação individualizada da medicação e entregas ao domicílio.

Ao longo dos 4 meses do meu estágio na FM tive a oportunidade de acompanhar e de realizar, de uma forma geral, todo o trabalho efetuado pela equipa técnica, o que me permitiu ter uma visão global da dinâmica diária de uma farmácia comunitária, bem como seguir o circuito dos medicamentos e PSBE. A título exemplificativo, encontra-se em anexo, (Anexo I), uma lista das tarefas que pude acompanhar e realizar ao longo do meu estágio.

3. Análise SWOT

A análise SWOT que se segue tem por objetivo apresentar e discutir os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças que identifiquei ao longo do meu estágio. Em anexo, (Anexo II), estão compilados de forma esquemática todos estes aspetos.

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Inclusão em todas as tarefas da farmácia

Um dos pontos fortes do meu estágio foi, sem dúvida, a diversidade de tarefas que pude aprender e realizar e que me permitiram ter uma perceção global da dinâmica de uma farmácia.

Os meus primeiros tempos de estágio foram maioritariamente passados na realização de tarefas de *backoffice*, nomeadamente receção de encomendas, arrumação dos produtos, gestão de stocks e prazos de validade, entre outras. A FM executa a preparação individualizada da medicação (PIM), atividade em que também colaborei.

Esta fase inicial foi imprescindível, uma vez que através destas tarefas, me foi possível familiarizar com a grande diversidade de referências existentes na farmácia, bem como começar a associar os princípios ativos aos nomes comerciais dos medicamentos, respetivo *layout* das embalagens e o local onde os mesmos eram arrumados.

Posteriormente, e já com alguma autonomia com o sistema informático, conhecimento da localização dos produtos e dos aspetos a ter em consideração na prestação de um bom atendimento, passei à fase seguinte, o atendimento.

Todas estas atividades permitiram-me alargar a visão sobre o funcionamento interno de uma farmácia e perceber a importância de cada uma delas.

3.1.2. Contacto com o atendimento ao público

A capacidade de diálogo e empatia são essenciais para o bom exercício da profissão farmacêutica. O farmacêutico é um profissional de saúde com um contacto privilegiado de proximidade com os utentes, e para que o atendimento seja de qualidade, são necessárias aptidões sociais e competências de diálogo. Deve ser dada atenção ao discurso e linguagem utilizada, devendo esta ser simples e esclarecedora, uma vez que a maioria dos utentes que visita a farmácia são idosos e pessoas com poucos conhecimentos na área.

Ao longo do meu estágio tive sempre um grande contacto com o atendimento ao público. Numa fase inicial, esse contacto foi maioritariamente observacional, assistindo aos atendimentos realizados pelos elementos da equipa técnica da farmácia. Com o decorrer do estágio, esta postura observacional foi progressivamente substituída por uma postura mais ativa e, por fim, autónoma.

Considero que o grande contacto que tive com o atendimento ao público foi extremamente vantajoso e, por isso, destaco-o como um dos pontos fortes do estágio. É um aspeto para o qual o MICF pouca, ou nenhuma, preparação confere, e por isso só em contexto prático de trabalho, perante diversas situações, é que nos é possível adquirir as competências necessárias para o contacto com os utentes.

3.1.3. Disponibilidade e entreatajuda da equipa

A equipa da FM pauta-se pela boa disposição, simpatia e profissionalismo, o que contribui para um ambiente de trabalho favorável à prestação de serviços aos utentes e conseqüente formação de estagiários. O ambiente de entreatajuda e espírito de equipa permitiu que tivesse o à-vontade necessário para esclarecer qualquer dúvida.

Na minha opinião, uma equipa coesa e sempre disposta a transmitir conhecimentos é a chave para um estágio bem-sucedido. Como tal, este aspeto representou um ponto forte no meu estágio, pois permitiu que rapidamente me sentisse integrada na equipa e, principalmente, confiante na realização das tarefas diárias na farmácia.

3.1.4. Diversidade de serviços prestados ao utente

A FM dispõe de um gabinete de atendimento ao utente onde são prestados vários serviços, o que salienta a polivalência de uma farmácia como local não apenas de dispensa de medicamentos, mas também como prestador de serviços de saúde.

Desde o início do estágio pude acompanhar os membros da equipa na execução destas tarefas, o que me permitiu familiarizar com os aparelhos utilizados, bem como estabelecer um

contacto mais direto com os utentes. Esta interação é uma excelente oportunidade para a intervenção farmacêutica, pois é um espaço que permite uma maior proximidade entre o utente e o farmacêutico.

Considero a minha participação nestes serviços um ponto forte do meu estágio, uma vez que me permitiu colocar em prática alguns conhecimentos, bem como desenvolver as minhas capacidades de comunicação.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Conhecimento limitado em determinadas áreas

O MICF está organizado e estruturado de forma a dar uma formação abrangente e diversificada. No entanto, há determinadas particularidades que não são abordadas ao longo do curso e que se revelam essenciais no decorrer do estágio em farmácia comunitária. Refiro-me por exemplo às áreas de veterinária, dietética e ortopedia.

Ao longo do estágio senti algumas dificuldades no aconselhamento farmacêutico aquando da solicitação de algum produto pertencente às áreas acima mencionadas. Apesar de existirem unidades curriculares no MICF que abordam algumas destas temáticas, verificamos ao longo da prática profissional que estas deveriam ser mais adaptadas à realidade sentida no exercício da profissão no âmbito de farmácia comunitária.

Perante estas dificuldades, senti um grande suporte por parte de toda a equipa da FM, que sempre procurou, com elevada prontidão, esclarecer todas as dúvidas que tinha e me auxiliou nos atendimentos ao público. No entanto, considero ser relevante a valorização destas temáticas no plano curricular, de forma a melhor preparar os estudantes no que diz respeito ao aconselhamento farmacêutico deste tipo de produtos.

3.2.2. Sazonalidade do estágio

Tal como referido inicialmente, o meu estágio decorreu entre 9 de janeiro e 21 de abril de 2023, compreendendo, por isso, maioritariamente meses pertencentes à estação do inverno. Assim sendo, os medicamentos mais requisitados pelos utentes da farmácia foram essencialmente antigripais, pastilhas e xaropes para a tosse, anti-histamínicos e descongestionantes nasais. Por um lado, considero ter sido importante este contacto mais intensivo com esta categoria de produtos, pois pude aprofundar os meus conhecimentos nesta área. No entanto, não tive tanto contacto com outros produtos mais vendidos noutras estações do ano, nomeadamente no verão, tais como protetores solares e cuidados pós-solares, repelentes, pomadas para picadas de insetos, etc.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Contacto com o Sifarma®

O Sifarma® é um *software* utilizado pelas farmácias, que permite melhorar o desempenho da atividade farmacêutica. Foi desenvolvido pela Global Intelligent Technologies (Glintt) e permite auxiliar as farmácias quer nos processos de gestão (p. ex. gestão de *stocks* e encomendas), quer no atendimento. É utilizado por mais de 90% das farmácias em Portugal e faz a gestão do produto desde a sua entrada até à saída, gerando informações detalhadas e organizadas sobre cada medicamento. No seu leque de funcionalidades, está incluída a criação e receção de encomendas, gestão e controlo de *stocks* definindo parâmetros, como, por exemplo, valores mínimos e máximos de *stock*, controlos de prazos de validade e inventário dos produtos.²

Uma das vantagens deste *software* é a possibilidade de fazer a leitura de receitas médicas eletrónicas, permitindo ainda o acompanhamento do histórico do utente, e a deteção de contraindicações e interações medicamentosas, o que oferece segurança no atendimento e maior cuidado prestado na dispensa do medicamento.

Na FM o sistema informático utilizado é o Sifarma®, sendo utilizadas em simultâneo as duas versões atualmente existentes do sistema: Sifarma 2000® e o novo módulo do Sifarma®.

Durante o meu estágio tive a possibilidade de contactar e trabalhar diariamente com ambas as versões e explorar as suas funcionalidades na execução das várias tarefas que desempenhei, o que me permitiu ter uma visão mais integrada e completa do seu funcionamento. Pude ainda constatar algumas vantagens do novo módulo do Sifarma® comparativamente ao Sifarma® 2000. O novo módulo conta com uma apresentação mais intuitiva e novas funcionalidades, nomeadamente o acesso ao histórico de consumo do utente, com a possibilidade de pesquisa de medicamentos ou produtos específicos.

Considero que o contacto que tive com este *software* ao longo do meu estágio foi uma grande oportunidade, uma vez que o Sifarma® é o *software* de farmácia com maior representatividade no mercado nacional e desempenha um papel preponderante no funcionamento das farmácias.

3.3.2. Formações

A área da saúde caracteriza-se por uma constante evolução, decorrente dos avanços científicos, com conseqüente geração de novos conhecimentos. O setor farmacêutico, enquanto parte integrante da área da saúde, está em permanente atualização, o que despoleta a necessidade de formação contínua por parte dos profissionais.

O farmacêutico deve procurar manter atualizadas as suas capacidades técnicas e científicas, com vista a melhorar e aperfeiçoar a sua atividade enquanto profissional e agente de saúde pública.³

Neste sentido, as formações que vão sendo disponibilizadas para os colaboradores da farmácia são de extrema importância, uma vez que permitem que estes vão atualizando o seu leque de conhecimentos e, assim, esteja garantida a qualidade dos serviços prestados à população.

Durante o tempo em que estive na farmácia tive a oportunidade de assistir a várias formações, (Anexo III), quer presencialmente, quer em formato online, o que me permitiu conhecer melhor os produtos que existem na farmácia e adquirir mais segurança e confiança aquando do seu aconselhamento e venda.

Assim sendo, considero que este fator se traduziu numa oportunidade do meu estágio, dado que me permitiu familiarizar com este género de iniciativas, contactar com os delegados de informação médica e, ao mesmo tempo adquirir mais conhecimentos, essencialmente na área de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e outros PSBE.

3.3.3. Sessão de sensibilização sobre “Doenças Venosas”

É muito importante que o farmacêutico, enquanto agente de saúde pública, desenvolva atividades que contribuam para a promoção e educação para a saúde dos utentes e da população em geral.

Neste sentido, no final do meu estágio, foi-me dada a oportunidade de desenvolver uma atividade sobre doenças venosas para apresentar num lar de idosos (Lar Boa Esperança-Caramulo). Mais concretamente, fiz uma breve pesquisa acerca do tema, estruturei uma apresentação com a informação que considerei relevante e tentei adaptar a mensagem e a minha linguagem ao público-alvo a quem se destinava.

Considero que a atividade desenvolvida foi de encontro aos objetivos propostos, pelo que estou bastante satisfeita com a minha participação na preparação e concretização desta sessão de sensibilização.

3.4. **Ameaças**

3.4.1. Venda de MNSRM fora da farmácia

A partir do ano de 2005, os MNSRM passaram a poder ser vendidos ao público fora das farmácias, em locais autorizados pelo Infarmed[®] que cumpram os requisitos legais e regulamentares (Decreto-Lei n.º 134/2005).⁴ Uma vez que este Decreto-Lei não exige que a

supervisão da venda destes medicamentos seja feita por um farmacêutico, são levantadas algumas questões nomeadamente em relação ao uso racional do medicamento. Esta mudança trouxe uma certa banalização dos MNSRM na perspetiva da sociedade e a perceção de que estes são invariavelmente seguros. No entanto, há que consciencializar os utentes que também estes medicamentos têm possíveis efeitos adversos e interações, pelo que o seu uso deverá ser prudente.

Adicionalmente, estes locais de venda de MNSRM, normalmente, fazem parte da estrutura de grandes empresas de retalho, que têm maior capital financeiro. Por esse motivo, têm a capacidade de comprar produtos em maiores quantidades, a preços mais baixos e, por conseguinte, praticar preços mais competitivos e apelativos para o consumidor. Como resultado, estes estabelecimentos competem economicamente com as farmácias, ameaçando a sua estabilidade financeira.

No decorrer do meu estágio, esta ameaça foi visível, havendo uma constante preocupação em acompanhar os preços praticados nesses locais. No entanto, considero que o farmacêutico, enquanto especialista do medicamento, pode marcar a diferença, prestando um bom aconselhamento aos utentes, proporcionando-lhes toda a informação necessária sobre cada medicamento e/ou PSBE, o que irá contribuir para que os utentes fiquem mais satisfeitos com a aquisição do produto, potenciando a probabilidade de voltarem à farmácia.

3.4.2. Medicamentos esgotados ou rateados

Os medicamentos esgotados são aqueles que por motivos diversos se encontram temporariamente indisponíveis, ao passo que os medicamentos rateados são aqueles cuja comercialização se encontra consideravelmente reduzida. Há diversas razões para isto acontecer incluindo falha na produção, distribuição, exportação paralela, entre outros.

A FM estabelece contacto diário com vários fornecedores que contribuem para uma gestão de *stock* eficiente e ausência de ruturas. Desta forma, garante que os medicamentos e produtos de saúde mais procurados pelos utentes se encontram disponíveis para serem vendidos no momento da sua solicitação. Quando o produto não se encontra na farmácia, mas está disponível no fornecedor, facilmente é reservado, se o utente assim o desejar, e estará garantido com a máxima brevidade possível no próprio dia ou no dia seguinte.

No entanto, há situações em que determinados medicamentos não estão em *stock* na farmácia devido a estarem esgotados nos fornecedores com que a farmácia trabalha. Nestes casos não há uma data de previsão de quando é que o produto estará novamente disponível e, por conseguinte, não conseguimos responder às necessidades dos utentes.

Durante o período de tempo em que estive na farmácia, esta situação verificou-se com vários medicamentos nomeadamente com o Inderal[®], Rivotril[®], Trental[®].

Alguns destes constrangimentos foram passíveis de ser contornados, uma vez que estavam disponíveis medicamentos com a mesma substância ativa, dosagem e forma farmacêutica e por isso aconselhava essa alternativa, explicando ao utente que teria o mesmo efeito e que seria melhor fazer a substituição do que não cumprir com a terapêutica.

Contudo, houve outras situações em que não foi possível aconselhar uma alternativa, pela indisponibilidade nos fornecedores. Nestes casos, foi necessário alertar os utentes para falarem com o seu médico, de modo que este prescrevesse outro medicamento com função equivalente, adequado ao quadro clínico de cada um.

No entanto, constatei que apesar do esforço de todos os colaboradores para explicar aos utentes, principalmente aos idosos, que o seu medicamento se encontrava esgotado e que não havia previsão da sua chegada era difícil, porque muitas das vezes eles assumem que se deve a falta de vontade ou incompetência por parte da farmácia, por desconhecerem todo o circuito do medicamento.

Considero que este fator constituiu uma ameaça ao meu estágio, na medida em que não permitiu o pleno desempenho da função do farmacêutico, não conseguindo satisfazer as necessidades dos utentes, e por última instância despoletou um evidente descontentamento e preocupação por parte destes.

4. Casos Práticos

De seguida são apresentados 5 casos práticos exemplificativos de situações com as quais me deparei ao longo do meu estágio e que me permitiram colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo da minha formação.

Caso Prático I: Obstipação e hemorroidas

Utente do sexo feminino, com cerca de 50 anos, dirige-se à farmácia para aviar uma receita médica. Durante o atendimento, refere que o seu principal problema são as hemorroidas, mencionando ter muita dor, desconforto e sangramento, tendo recorrido ao médico que lhe prescreveu Rantudil[®] 60mg (Acemetacina), Daflon[®] 1000mg (Bioflavonoides) e Faktu[®] (Policresuleno + Cloridrato de cinchocaína). Tem uma grande dificuldade em evacuar e por isso toma muitos laxantes. Menciona ainda que atualmente só consegue evacuar com a toma de laxantes.

Após algumas perguntas, a senhora diz beber muito pouca água pois não sente sede e não gosta de beber água “simples”. Foi ainda questionada acerca dos laxantes que costuma tomar, ao qual respondeu que sabe conterem sene na sua composição.

Perante este caso, e após a dispensa dos medicamentos constantes na receita, o aconselhamento feito durante o atendimento contemplou os seguintes aspetos:

- Foi feita menção relativamente à quantidade de água que deveria ser ingerida por dia, dizendo à senhora que era muito importante beber mais água, o que iria contribuir para amolecer as fezes e, por conseguinte, ajudar na evacuação. Adicionalmente, e uma vez que não gosta de água “simples”, sugeri beber chás ou águas aromatizadas. Referi ainda a importância da ingestão de alimentos ricos em fibras (frutas, vegetais, cereais integrais) e a prática regular de exercício físico.

- Alertei a senhora para o facto de os laxantes com sene não serem adequados para situações crónicas, devendo apenas ser utilizados pontualmente e em situações agudas. O aconselhamento que foi feito neste caso foi Dulcosoft® (Macrogol) – laxante osmótico, de forma a tornar as fezes mais moles e, por conseguinte, aliviar os sintomas referidos pela senhora (dor, desconforto, dificuldade em evacuar).⁵

- Por fim, e apercebendo-me que a posologia do Daflon® - 1 comprimido por dia (dose de manutenção), não estava adequada ao problema referido pela senhora, crise hemorroidária, aconselhei-a a tomar a dose de ataque: tomar 1 comprimido 3 vezes ao dia nos 4 primeiros dias, nos 3 dias seguintes 1 comprimido 2 vezes ao dia e em seguida voltar à posologia de manutenção - 1 comprimido por dia.⁶

Caso Prático 2: Afecção ginecológica

Utente do sexo feminino, com 71 anos, dirige-se à farmácia com queixas de uma alergia na zona vaginal, pedindo algo para aliviar os sintomas. Após algumas perguntas, a senhora diz estar assim há alguns dias, tendo feito lavagens com água fervida com a planta malva pois tinha muito prurido. No entanto, e apesar do prurido ter melhorado bastante, menciona continuar com algum ardor, o que a incomoda bastante. Perante esta situação, o meu aconselhamento passou por dispensar um produto para lavagem da zona íntima - Lactacyd® higiene íntima com antisético - e ainda um creme vaginal com clotrimazol - Gino-Hadazin®, dando a indicação que deve ser aplicado uma vez por dia, ao deitar, durante 7 dias consecutivos.⁷ Por fim, informei a utente de que, caso os sintomas persistissem, devia recorrer ao médico.

Caso Prático 3: Perturbação do sono

Utente do sexo masculino, com 55 anos, apresenta-se na farmácia com queixas de insónias. Pede algo para melhorar a sua situação, mencionando desde logo não querer que o produto cause habituação.

Após algumas questões no sentido de tentar perceber se o senhor tinha dificuldade em adormecer e/ou se tinha despertares noturnos, o utente menciona que tem simultaneamente dificuldade em adormecer e despertares noturnos, referindo ainda que trabalha por turnos.

Perante esta descrição, o meu aconselhamento passou por indicar um produto que tivesse ação em ambos os aspetos referidos pelo utente, e por isso recomendei o Arkosono Forte[®], que contém melatonina, valeriana, passiflora e papoila da califórnia. O comprimido é composto por duas camadas, sendo uma de libertação rápida e outra de libertação prolongada. A melatonina e a papoila da califórnia vão permitir diminuir os despertares noturnos, ao passo que a valeriana e a passiflora têm propriedades relaxantes e promotoras do sono.⁸ Indiquei que deveria tomar 1 comprimido por dia, 1 hora antes de ir dormir. Importante mencionar que este produto não causa habituação⁸, indo de encontro a uma das preocupações do utente. Para além disso, como medidas não farmacológicas, recomendei adotar alguns comportamentos antes de ir dormir, por forma a aumentar a qualidade do sono: escurecer o ambiente do quarto, evitar a ingestão excessiva de álcool, refeições pesadas ou doces, café, chá preto, refrigerantes; evitar estímulos luminosos e sonoros, tais como o uso de telemóvel, tablet, computador ou televisão.⁹

Caso Prático 4: Dor de dentes

Utente do sexo feminino, com cerca de 40 anos. Dirige-se à farmácia visivelmente desesperada e desorientada mencionando estar com uma forte dor de dentes. Refere que sente este desconforto desde o dia anterior e que precisa urgentemente de algo que lhe alivie a dor até ir ao dentista.

Neste caso, o aconselhamento passou por dispensar um anestésico local - Dentispray[®] (benzocaína), 50mg/mL, solução gengival- podendo ser aplicado até quatro vezes ao dia.¹⁰ Alertei a senhora para o modo de aplicação, devendo colocar o produto só no local onde sente dor, senão corre o risco de anestesiar a boca toda, perdendo a sensibilidade e podendo morder e ferir a língua. Para além disso, dispensei também Duodix[®] (ibuprofeno + paracetamol), indicando para tomar um comprimido de 6 em 6 horas. Caso esta dose não controle os sintomas, pode tomar dois comprimidos de cada vez, tendo em atenção que não pode exceder os seis comprimidos por dia e o intervalo entre as tomas deve ser, pelo menos,

6 horas.¹¹ Mencionei que podia também aplicar gelo na zona afetada, tendo o cuidado de não o fazer diretamente sobre a pele, de modo a evitar queimaduras. Ao invés pode usar uma bolsa de gel ou de gelo sobre um pano limpo.

Caso Prático 5: Afeção gastrointestinal

Utente do sexo feminino, com 35 anos, dirige-se à farmácia com queixas de uma gastroenterite. Tem vômitos, diarreia e dores de cabeça. Refere desde logo que está a amamentar e questiona acerca do que pode tomar.

Atendendo aos sintomas e ao facto de estar a amamentar, optei por dispensar Bi-Oralsuero® - bebida reidratante à base de sais minerais; tem ainda *Lactobacillus reuteri* no pacote pequeno que vem à parte, que pode ser adicionado à bebida. Como medidas não farmacológicas, alertei para a importância de beber líquidos, de modo a evitar a desidratação, como consequência da diarreia e dos vômitos. No entanto, aconselhei aguardar 30 minutos após o vômito e só depois iniciar a ingestão de água, sendo que esta deve ser bebida à colher e não “aos golos”, de preferência com açúcar ou usar as bebidas de rehidratação.

5. Considerações Finais

O MICE é um curso com uma componente teórica muito forte e diversificada, o que nos permite ter a formação teórica necessária para desenvolver um espírito crítico no momento da dispensa de medicamentos e PSBE, um aconselhamento adequado perante cada caso e uma atitude consciente e ponderada em todo o ato farmacêutico.

Durante o meu estágio na FM tive a oportunidade de contactar com a realidade atual da farmácia comunitária em Portugal e, por conseguinte, de compreender a importância das diversas atividades realizadas numa farmácia, desde o atendimento ao público, às atividades de *backoffice*, bem como da própria gestão e organização da mesma.

Considero que este estágio constituiu uma ferramenta importantíssima na consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo do meu percurso académico, ao mesmo tempo que me permitiu perceber a importância e responsabilidade do Farmacêutico Comunitário para a sociedade, vivenciando na primeira pessoa o impacto do trabalho desenvolvido.

Para finalizar, aprendi que não só importa o que fazemos, mas com quem o fazemos e por isso deixo uma palavra de agradecimento a toda a equipa da FM pela partilha de conhecimentos e pela simpatia e carinho com que sempre me acolheu. Sem dúvida, que foi determinante para o meu desempenho e um pilar essencial para o meu crescimento quer enquanto profissional, quer enquanto pessoa. Levo deste estágio uma experiência gratificante, e da FM um forte sentimento de amizade.

Referências Bibliográficas

1. EUROPEAN COMMISSION - **Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de novembro de 2013.** *Jornal Oficial da União Europeia.* (2013).
2. GLINTT - **Sifarma.** Consultado a 25 de maio de 2023. Disponível na Internet em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>.
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei n.º 288/2001 de 10 de novembro, artigo 83º.** *Diário da República* n.º 261/2001, Série I-A de 10 de novembro de 2001.
4. REPÚBLICA PORTUGUESA - **Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto – Estabelece o regime da venda de medicamentos não sujeitos a receita médica fora das farmácias.** *Diário da República*, nº156/2005, Série I-A de 16 de agosto de 2005, p. 4763-4765.
5. DULCOLAX - **Dulcosoft® Pó para Solução Oral.** Consultado a 25 de maio 2023. Disponível na Internet em: <https://www.dulcolax.com/pt-pt/todos-os-produtos/dulcosoft-po>.
6. INFARMED I.P. - **Resumo das características do medicamento – Daflon 1000 mg, comprimido revestido por película.** Consultado a 25 maio 2023. Disponível na Internet em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>.
7. INFARMED I.P. - **Resumo das características do medicamento – Gino-Hadazin, 10 mg/g, creme vaginal.** Consultado a 25 maio de 2023. Disponível na Internet em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>.
8. ARKOPHARMA - **Arkosono® Forte 8H.** Consultado a 25 de maio de 2023. Disponível na Internet em: <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkosonor-forte-8h>.
9. HOSPITAL DA LUZ – **Higiene do sono.** Consultado a 25 de maio de 2023. Disponível na Internet em: <https://www.hospitaldaluz.pt/pt/dicionario-de-saude/higiene-do-sono>.
10. INFARMED I.P. - **Resumo das características do medicamento – Dentispray, 50 mg/mL, solução dental.** Consultado a 25 maio de 2023. Disponível na Internet em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>.
11. INFARMED I.P. - **Resumo das características do medicamento – Duodix, 200 mg + 500 mg, comprimidos revestidos por película.** Consultado a 25 maio de 2023. Disponível na Internet em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>.

Anexos

Anexo I

Lista das tarefas realizadas no estágio na Farmácia Moura:

- Receção e verificação de encomendas (diárias, instantâneas, manuais) de diferentes fornecedores;
- Realização de encomendas (sobretudo encomendas instantâneas);
- Armazenamento e organização de medicamentos e PSBE de acordo com as suas características e segundo a regra *FEFO* (do inglês, *first expired, first out*);
- Organização de produtos em lineares e gôndolas;
- Controlo mensal dos prazos de validade dos produtos em inventário;
- Verificação periódica de discrepâncias entre *stock* físico e *stock* informático;
- Fecho mensal do receituário e faturação às diferentes entidades;
- Medição da pressão arterial e determinação de parâmetros bioquímicos (colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos e glicemia).
- Dispensa de medicamentos, dispositivos médicos (DM) e PSBE:
 - Dispensa de diferentes tipos de medicamentos: Medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF), psicotrópicos e estupefacientes, medicamentos de uso veterinário (MUV);
 - Dispensa de preparações extemporâneas (por exemplo Clavamox ES[®] e Clavamox DT[®]) após reconstituição das mesmas;
 - Dispensa de diferentes DM e PSBE (como sejam suplementos alimentares, produtos de dermofarmácia e cosméticos, produtos de ortopedia, etc.);
 - Familiarização e dispensa mediante diferentes tipos de receita médica (receita manual, receita eletrónica materializada, receita eletrónica desmaterializada);
 - Dispensa de medicamentos hospitalares;
 - Aconselhamento farmacêutico aquando da dispensa de medicamentos, DM ou PSBE nomeadamente:
 - Transmissão ao utente, quando pertinente, de informação relativa à forma de administração/utilização, posologia e modo

de conservação e armazenamento dos medicamentos, DM ou PSBE;

- Avaliação da possibilidade de ocorrência de interações medicamentosas e/ou reações adversas;
- Transmissão ao utente, quando pertinente, de medidas não farmacológicas a adotar.

- Verificação das caixas da medicação dos utentes do Lar Boa Esperança, instituição para a qual a FM faz a PIM.
- Conferência de faturas e notas de crédito dos fornecedores da farmácia (Plural+Udifar, Empifarma – Produtos Farmacêuticos, S.A., Cooprofar, Alliance Healthcare Portugal).
- Regularização de vendas suspensas.
- Criação de campanhas no Sifarma®.
- Preparação de pedidos para o Lar Boa Esperança, empresas, escolas e para entrega ao domicílio.
- Controlo semanal de temperaturas e humidade.
- Preparação de medicamentos manipulados:
 - Vaselina salicilada a 2%
 - Diprosone pomada com ácido salicílico

Anexo II

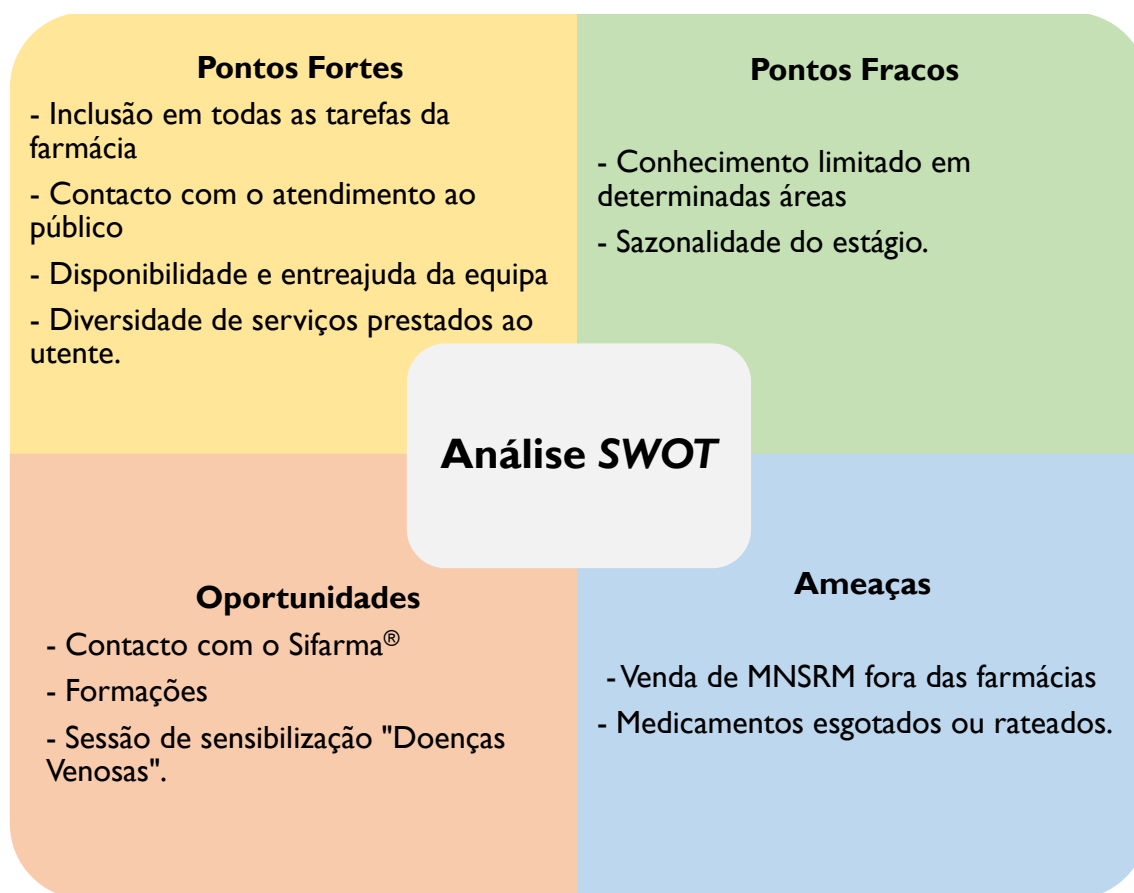


Figura I - Representação esquemática da análise SWOT relativa ao Estágio em Farmácia Comunitária. **Abreviaturas:** MNSRM – Medicamentos não sujeitos a receita médica; SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*.

Anexo III

Lista de formações frequentadas durante o estágio

- Formação Bioderma® – “Pele sensível e sensibilizada”
- Formação Bioderma® – “Protetores Solares e Cuidados pós-solar”
- Formação Arkopharma® – Todas as gamas
- Formação Corine de Farme® – Gamas de bebé e solares
- Formação Mylan® – Milid®, Levotuss®
- Formação Espaço Animal

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Laboratório Nacional do Medicamento

Orientado pela Doutora Inês Martins



Lista de Abreviaturas

ARS	Administração Regional de Saúde
CEME	Chefe do Estado-Maior do Exército
EMGFA	Estado-Maior-General das Forças Armadas
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
GMP	Good Manufacturing Practice
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LM	Laboratório Nacional do Medicamento
LMPQF	Laboratório Militar de Produtos Químicos e Farmacêuticos
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
N/A	Não Aplicável
RAAAI	Regimento de Artilharia Antiaérea I
SABA	Solução Antissética de Base Alcoólica
SICAD	Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e Dependências
SWOT	<i>Strengths</i> (Forças), <i>Weaknesses</i> (Fraquezas), <i>Opportunities</i> (Oportunidades), <i>Threats</i> (Ameaças)

I. Introdução

No âmbito da unidade curricular “Estágio”, inserida no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) proporciona aos seus estudantes a oportunidade de realizar um estágio numa área do domínio farmacêutico para além da Farmácia Comunitária ou Hospitalar (conforme estipulado na Diretiva 2013/55/EU do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013)¹.

Neste sentido, com o intuito de obter uma visão mais alargada das funções que o farmacêutico pode desempenhar e por forma a ter um primeiro contacto com esta vertente profissional, realizei parte do meu estágio curricular em indústria farmacêutica, mais concretamente no Laboratório Nacional do Medicamento (LM), onde tive a possibilidade de integrar as divisões de Produção e de Controlo de Qualidade, durante o período de 2 de maio a 26 de julho de 2023. Em anexo, (Anexo I), encontra-se um organograma da Direção de Produção do LM, com destaque para os grupos de trabalho que integrei.

O presente relatório diz respeito ao estágio por mim realizado no LM, sob orientação da Doutora Inês Martins e supervisão da restante equipa, apresentando-se sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weakness, Opportunities e Threats*), onde são destacados os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças vivenciados ao longo do estágio.

2. Laboratório Nacional do Medicamento

O LM, enquanto laboratório do estado, sediado na Avenida Dr. Alfredo Bensaúde 8A, 1849-012 em Lisboa, foi inaugurado em outubro de 2021 e veio suceder ao Laboratório Militar de Produtos Químicos e Farmacêuticos (LMPQF), em funcionamento desde 1918. É um órgão do Exército, dotado de autonomia administrativa e financeira e património próprio, e funciona na dependência do Chefe do Estado-Maior do Exército (CEME), prestando apoio ao Estado-Maior-General das Forças Armadas (EMGFA) e a todos os ramos das Forças Armadas, bem como aos serviços integrados da administração direta e indireta do Estado no âmbito da área governativa da defesa nacional.

A criação do LM permitiu aumentar a capacidade de produção nacional no setor do medicamento, com o objetivo de garantir a produção estratégica de medicamentos essenciais, e ampliou o âmbito de atuação da instituição, permitindo dar resposta “não apenas às necessidades das Forças Armadas, como também às dos cidadãos”.²

O LM, na qualidade de laboratório do Estado, tem a missão de contribuir para o desenvolvimento da investigação e produção de medicamentos, dispositivos médicos e outros

produtos de saúde, salvaguardando o interesse público e a soberania nacional. No plano militar e operacional tem a missão específica de apoio às Forças Armadas, nomeadamente, a logística farmacêutica militar do medicamento e do dispositivo médico, a cooperação técnico-militar, o desenvolvimento de ações sanitárias, a realização de análises clínicas e, na área assistencial, o apoio farmacêutico à família militar e aos deficientes das Forças Armadas.³

Para além disso, o LM, em articulação com os serviços competentes da área governativa da saúde, constitui reservas estratégicas para situações de emergência, de epidemia ou pandemia, assegurando o seu armazenamento e gestão.³

O serviço de produção do LM corresponde a um organismo de categoria equivalente a farmácia hospitalar, não obstante, considera-se que poderão existir circunstâncias que justifiquem a observância de requisitos regulamentares aplicáveis ao fabrico de medicamentos no âmbito das boas práticas de fabrico (GMP, do inglês Good Manufacturing Practice).⁴

Atualmente, o LM produz, entre outros, medicamentos órfãos para doenças raras e alguns medicamentos abandonados pela indústria farmacêutica. Ativa linhas de produção para responder a emergências ou a roturas de medicamentos e é o único produtor de metadona, que é utilizada em programas de substituição ou de antídotos para a prática militar e civil.⁴

A estrutura de recursos humanos do LM compreende pessoal militar e civil do Exército, de entre os quais, fazem parte farmacêuticos, técnicos de farmácia, bioquímicos, biólogos, assistentes operacionais, assistentes administrativos, entre outros.

3. Análise SWOT

O presente relatório faz uma avaliação do estágio curricular realizado no LM, mais concretamente na divisão de produção e na divisão de controlo de qualidade, por meio de uma análise SWOT, onde são avaliados os pontos fortes, os pontos fracos, as oportunidades e as ameaças experienciadas ao longo deste período. Em anexo, (Anexo II), encontram-se reunidos todos os aspetos que considere relevantes incorporar nesta análise.

3.1. Pontos fortes

3.1.1. Receção e plano de integração no departamento de produção

O estágio curricular representa o início de uma nova etapa académica onde se anseia aprender, desenvolver novas capacidades e aprofundar conhecimentos. No entanto, ao iniciar este percurso, é necessário abandonar a nossa zona de conforto e inserirmo-nos num ambiente de realidade profissional, completamente diferente daquilo que é o ensino teórico na faculdade. Como tal, considereei essencial a receção atenciosa nos meus primeiros dias de

estágio, como ponto impulsionador de motivação e orientação para o trabalho que viria a desenvolver. Foi-me feita uma breve contextualização e apresentação do laboratório, onde tive a oportunidade de compreender a organização estrutural da instituição, nomeadamente, da direção de produção, a qual engloba a divisão de produção e a divisão de controlo de qualidade (Anexo I).

Assim sendo, saliento esta recetividade e disponibilidade de comunicação entre os membros da equipa como um ponto forte do meu estágio. Senti por parte de todos uma genuína vontade de ajudar e uma atitude afável, tendo isso sido fundamental para que me sentisse confortável para questionar e participar nas diversas tarefas propostas.

Iniciei o meu estágio na divisão de produção, mais concretamente na área da garantia da qualidade onde pude contactar e integrar-me de todos os procedimentos operacionais existentes, legislação aplicável à área farmacêutica, nomeadamente “Eudralex, Vol.4 – Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines”⁵, “Decreto-Lei n.º176/2006, de 30 de agosto – Estatuto do Medicamento”⁶, entre outros, o que me possibilitou adquirir uma visão global e bastante abrangente do funcionamento e da dinâmica da unidade, considerando ter sido também um ponto forte do meu estágio e uma mais valia nas etapas seguintes do mesmo.

3.1.2. Produção de medicamentos da exclusiva responsabilidade do LM

O LM abarca na sua missão a resposta às necessidades dos serviços do Ministério da Saúde, nomeadamente na produção de medicamentos cujo abastecimento normal esteja comprometido e se apresentem imprescindíveis na prática clínica hospitalar.

Os produtos a ser produzidos pelo LM poderão ser enquadrados internamente enquanto medicamentos manipulados, medicamentos semi-industriais, ou outros produtos químicos que não são medicamentos. Em anexo, (Anexo III), constam alguns exemplos de medicamentos e produtos não medicamentosos produzidos pelo LM.

A classificação dos medicamentos produzidos no LM em manipulados ou semi-industriais segue uma metodologia, assente num algoritmo de risco, através de um processo gerido pela garantia da qualidade.

O algoritmo subjacente à classificação de risco assenta na ponderação relativa de seis parâmetros, a saber:

1. Via de Administração;
2. Esterilidade;
3. População Alvo;
4. Dossier de Desenvolvimento;
5. Volume de Produção;

6. Prazo de Validade.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de acompanhar a produção de vários medicamentos produzidos exclusivamente no LM, o que considero ter sido um ponto forte, pela relevância que os mesmos desempenham na produção estratégica de medicamentos essenciais, suprimindo as necessidades não cobertas pela indústria farmacêutica, e por outro lado ter tido a possibilidade de assistir a todas as etapas do processo produtivo destes medicamentos.

A título de exemplo menciono dois medicamentos produzidos unicamente no LM e que são de grande importância, dado as patologias a que pretendem dar resposta: Cloridrato de Metadona e Histidinato de Cobre.

A metadona é um agonista opióide forte, sintético, de longa duração de ação. Os opióides são derivados da morfina, atuam em recetores opióides presentes em todo o sistema nervoso central e têm efeitos analgésicos e sedativos potentes.

Atualmente, a principal forma de terapêutica médica para a dependência de opiáceos envolve a administração de metadona, por via oral, a qual permite a redução da mortalidade e a diminuição e cessamento do consumo de opiáceos, nos dependentes destas substâncias.

Existe um protocolo entre o Serviço de Intervenção nos Comportamentos Aditivos e Dependências (SICAD) e o LM para a produção de metadona, a qual é posteriormente distribuída para as diferentes Administrações Regionais de Saúde (ARS) e para a Direção Regional de Saúde da Madeira e Açores.

No LM, o cloridrato de metadona é produzido sob a forma de solução oral e acondicionado em frascos de 1000mL (concentração 1%) e em saquetas de 15mL, com diferentes dosagens: 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100mg.

O LM é também o único produtor de histidinato de cobre, medicamento órfão usado nos casos de doença de Menkes, também conhecida como doença dos cabelos encarapinhados.

A prevalência da doença é desconhecida. No entanto, os últimos dados (2020) indicam que em Portugal estavam diagnosticadas 3 crianças com esta doença.⁷ É uma doença neurodegenerativa, de carácter recessivo, ligada ao cromossoma X, e que por isso afeta principalmente o sexo masculino, sendo que na maioria das vezes tem um prognóstico fatal no 1º ano de vida, se não for tratada. É uma patologia muito rara, associada a uma desordem no transporte do cobre, causada por mutações no gene *ATP7A* e que se caracteriza por neurodegeneração progressiva, anomalias acentuadas do tecido conjuntivo, bem como anomalias na estrutura do cabelo (textura em palha-de-aço) e hipopigmentação.⁸ Os doentes desenvolvem disfunção motora gradual e convulsões.

Esta doença não tem cura, mas o medicamento produzido pelo LM permite aumentar a esperança de vida destas crianças. É um medicamento que necessita de condições especiais de armazenamento, pelo que, assim que é produzido, é colocado numa camara frigorífica.⁸

3.1.3. Produção de medicamentos na forma de cápsulas, pomadas, soluções e xaropes

Durante o tempo em que estive na divisão de produção, pude acompanhar o fabrico de vários medicamentos na forma de cápsulas, pomadas, soluções e xaropes, o que considero ter sido um ponto forte do meu estágio, visto que me permitiu contactar com várias fichas de produção, diferentes matérias-primas, materiais de acondicionamento, equipamentos, processos produtivos, requisitos e salas de produção.

3.1.4. Contacto com uma grande variedade de equipamentos utilizados nas atividades laboratoriais

Na divisão de controlo de qualidade pude acompanhar os trabalhos do grupo de química (laboratório de química e métodos instrumentais de análise) e do grupo de microbiologia (laboratório de microbiologia).

No laboratório de química e métodos instrumentais de análise contactei com muitos equipamentos utilizados nas análises de rotina, nomeadamente HPLC (high performance liquid chromatography), medidor de pH e condutividade, densímetro, espectrofotómetro, titulador automático, karl-fischer, viscosímetro, refratómetro e polarímetro, o que considero ter sido muito proveitoso para o meu futuro profissional, pois adquiri bastante conhecimento, desenvoltura e à-vontade a funcionar com os mesmos.

3.1.5. Acompanhamento de estudos de estabilidade

O objetivo dos estudos de estabilidade é avaliar o impacto de fatores ambientais, como a temperatura e humidade, nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e toxicológicas do medicamento, ao longo do tempo. A informação obtida a partir deste tipo de estudos permite compreender de que forma os referidos fatores podem afetar a qualidade, eficácia e segurança do produto, bem como, estabelecer o prazo de validade e as condições de armazenamento e conservação do mesmo.⁹

Durante a minha permanência na divisão de controlo de qualidade pude acompanhar dois estudos de estabilidade em tempo real que estavam a decorrer no laboratório, designadamente de um manipulado de metadona e risperidona e de um xarope comum com conservantes, o que me permitiu consolidar conhecimentos teóricos e adquirir prática

laboratorial, ao efetuar a determinação de vários parâmetros, tais como doseamento de substância ativa por HPLC, viscosidade, densidade, pH, condutividade, índice de cor, entre outros. Para além dos ensaios realizados no laboratório de química e métodos instrumentais de análise, pude ainda acompanhar os ensaios microbiológicos realizados nestas preparações: pesquisa de *Escherichia coli* e do número total de germes aeróbios viáveis.

3.1.6. Ensaio em medicamentos e águas de consumo humano

Ao longo do meu estágio, mais concretamente na divisão de controlo de qualidade, pude efetuar ensaios quer em medicamentos, quer em águas de consumo humano. No âmbito da análise de medicamentos, realizei vários ensaios, maioritariamente em produto acabado, mas também em matérias-primas. Para além disso, o LM tem ainda capacidade analítica na área do controlo de qualidade de águas, pelo que me foi possível efetuar determinações em águas de consumo humano.

Os ensaios realizados variam consoante o produto e forma farmacêutica. A título de exemplo, as águas de consumo humano seguem formas de colheita e processamento específicos, dando cumprimento a *guidance* própria desta área de atividade. Refiro alguns dos ensaios que executei na análise de águas: controlo de características organolépticas (como aspeto, cheiro, cor, turvação), pH, condutividade, quantidade de ferro, cálcio, magnésio, dureza total, sulfatos, nitratos, alumínio, manganês, cloro livre residual¹⁰, pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli*¹¹, enterococos intestinais¹² e contagem de colónias de germes totais.¹³

Adicionalmente, pude ainda proceder à preparação e controlo de qualidade de meios de cultura, assim como ao controlo de qualidade de testes para deteção de drogas.

Relevo este aspeto como um ponto forte, pois sinto que a execução diária de tarefas de laboratório, ao longo do estágio, me permitiu, não só consolidar e expandir os conhecimentos e competências adquiridos no curso, mas também desenvolver, de forma excepcional, novas competências técnicas e prático-laboratoriais.

3.2. **Pontos Fracos**

3.2.1. Ausência de um plano de estágio e fluxo de trabalho irregular

Considero que um ponto fraco do meu estágio foi a inexistência de um plano que delineasse as várias atividades a executar ao longo do mesmo. Se, por um lado, houve dias em que me foram atribuídas várias tarefas, obrigando-me a uma maior organização e gestão de

tempo, por outro lado, tive dias em que a carga de trabalho era reduzida, havendo vários “tempos mortos”, o que de igual modo, considero ter sido um ponto fraco.

Na minha perspetiva, um plano de atividades estruturado poderia ter ajudado a colmatar o fluxo de trabalho irregular que caracterizou algum do meu período de estágio.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Importância do estágio em indústria farmacêutica

A FFUC permite aos seus alunos realizar parte do estágio curricular numa área diferente de farmácia comunitária e farmácia hospitalar, sendo este um elemento bastante positivo e diferenciador entre os recém-formados farmacêuticos que concorrem a um lugar laboral numa indústria farmacêutica ou na área regulamentar.

De facto, são cada vez mais as oportunidades que vão surgindo na área de indústria farmacêutica, havendo uma diversidade de áreas nas quais o farmacêutico tem um papel de destaque, sendo uma saída profissional que assume uma preponderância cada vez maior na profissão farmacêutica.

Como tal, considero uma mais-valia um estágio nesta área, pois permite aos estudantes alargar a sua visão no que respeita a oportunidades profissionais e aprofundar conhecimentos que poderão vir a ser diferenciadores no mercado de trabalho.

3.3.2. Acompanhamento da realização de auditorias externas

As auditorias são um processo sistemático realizado de forma independente, que pretende verificar se os sistemas e processos são os adequados ao cumprimento dos requisitos de boas práticas bem como outros requisitos aplicáveis.

Durante o meu período de estágio, o LM foi alvo de inspeção por parte do Infarmed®- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde. Encaro esta experiência como uma oportunidade, visto que toda a dinâmica e todos os procedimentos de preparação me eram totalmente desconhecidos. Para além disso, permitiu que me integrasse de muitos procedimentos operacionais, uma vez que uma das tarefas que me foi atribuída relacionou-se com a leitura e análise dos mesmos.

3.3.3. Formações

Devido às exigências da atividade de uma indústria farmacêutica e às particularidades do contexto em que esta atua, torna-se essencial assegurar a formação contínua dos colaboradores, por forma a garantir que possuem o conhecimento necessário à execução das

suas funções. No decorrer do estágio tive a oportunidade de assistir a uma formação da Bruker Portugal subordinada ao tema “Princípios básicos de espectrometria de alta resolução”, considerando ter sido mais um momento de aprendizagem e consolidação de conhecimentos.

3.3.4. Participação numa colheita de água de consumo humano

A divisão de controlo de qualidade foi solicitada a fazer recolhas de água para análise em vários regimentos de infantaria, nomeadamente em Espinho, Vila Real, Abrantes e Queluz.

Após demonstração de interesse da minha parte, e aceitação por parte do responsável da divisão, pude acompanhar a colheita realizada em Queluz, mais concretamente no Regimento de Artilharia Antiaérea I (RAAAI).

Identifico este aspeto como uma oportunidade, uma vez que pude inteirar-me de todo o processo e requisitos necessários neste tipo de colheitas, nomeadamente a desinfeção do local por onde sai a água e a determinação de certos parâmetros no momento e local de colheita, como é o caso do cloro livre. Para além disso, e no caso de se pretender fazer análise microbiológica e análise química, deverá ser efetuada a colheita para análise microbiológica em primeiro lugar. Logo após encher o frasco estéril e sem fechar a torneira, procedemos à colheita para a análise química.

3.4. Ameaças

3.4.1. Ocorrência de trabalhos em simultâneo

Como referi anteriormente, durante a minha permanência na divisão de produção, pude acompanhar os trabalhos desenvolvidos pela equipa de fabrico. No entanto, esta mesma equipa estava dividida e responsável por várias tarefas ao longo do dia, pelo que ocorriam preparações em simultâneo. Assim sendo, muitas das vezes tinha de optar por estar em uma determinada tarefa, em detrimento de outra, o que fez com que não pudesse acompanhar todos os trabalhos realizados. Apesar disso, tentava distribuir o meu tempo, equilibrando entre os vários trabalhos que estavam a decorrer, acompanhando pelo menos alguma parte do processo de fabrico e de seguida juntava-me à outra parte da equipa, podendo assim acompanhar o máximo de trabalhos possível.

Do mesmo modo, na divisão de controlo de qualidade acontecia estarem a ocorrer, em paralelo, trabalhos no laboratório de química e no laboratório de microbiologia, o que me levava a ter que optar por acompanhar determinada atividade em prejuízo de outra. Por outras vezes acontecia também que não conseguia observar as várias análises efetuadas a um produto do início ao fim, acabando por perder informação e não acompanhar o processo na sua totalidade.

4. Considerações Finais

O conteúdo programático do MICF é bastante abrangente, o que permite a formação de profissionais aptos a exercer atividade profissional em diferentes áreas, das quais a indústria farmacêutica constitui um exemplo. O papel do farmacêutico numa indústria farmacêutica é também ele vasto, tendo este a capacidade, do ponto de vista da sua formação, para atuar em diferentes áreas como investigação e inovação, desenvolvimento analítico e galénico, planeamento e gestão de produção, controlo de qualidade, gestão da qualidade, assuntos regulamentares, entre outros.

Optei por realizar parte do meu estágio curricular no LM, não só porque, ao longo do curso, a área de indústria farmacêutica sempre me despertou particular interesse, mas também por considerar que um primeiro contacto com a área nesta etapa seria um fator diferenciador na minha formação académica e posterior entrada no mercado de trabalho.

Este estágio permitiu-me contactar de perto com a atividade de garantia da qualidade, produção e controlo de qualidade no seio de uma indústria farmacêutica, consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo do meu percurso académico, bem como adquirir conhecimentos prático-laboratoriais excecionais.

Em suma, levo do meu estágio no LM uma experiência desafiante e enriquecedora, sentindo por isso, uma enorme satisfação por ter tido a oportunidade de realizar parte do meu estágio numa instituição de relevo, como é o LM.

Deixo um agradecimento muito especial à Dra. Joana Pereira, responsável pela garantia da qualidade, pela sua simpatia, disponibilidade e ensinamentos transmitidos, bem como a toda a equipa que me acompanhou durante o tempo em que estive no LM.

Referências Bibliográficas

1. EUROPEAN COMMISSION - **Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de novembro de 2013.** *Jornal Oficial da União Europeia.* (2013).
2. REPÚBLICA PORTUGUESA – **Inaugurado novo Laboratório Nacional do Medicamento.** Consultado no dia 2 de agosto de 2023. Disponível na internet em: <https://www.defesa.gov.pt/pt/comunicacao/noticias/Paginas/Inaugurado-novo-Laboratorio-Nacional-Medicamento.aspx>.
3. EXÉRCITO PORTUGAL – **Comando da Logística – Laboratório Nacional do Medicamento.** Consultado no dia 2 de agosto de 2023. Disponível na internet em: <https://www.exercito.pt/pt/quem-somos/organizacao/ceme/cmdlog/lnm>.
4. REPÚBLICA PORTUGUESA – **Decreto-Lei nº13/2021, de 10 de fevereiro.** *Diário da República.* (2021). Consultado no dia 2 de agosto de 2023. Disponível na internet em: <https://files.dre.pt/lis/2021/02/02800/0000300019.pdf>.
5. EUROPEAN COMMISSION – **Eudralex – Volume 4 – Good Manufacturing Practice (GMP) guidelines.** Disponível na Internet em: https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/eudralex/eudralex-volume-4_en.
6. REPÚBLICA PORTUGUESA – **Decreto-Lei nº176/2006, de 30 de agosto.** *Diário da República.* (2006). Disponível na Internet em: https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/035-E_DL_176_2006_9ALT.pdf/d2ae048e-547e-4c5c-873e-b41004b9027f.
7. DIÁRIO DE NOTÍCIAS – **O Laboratório Militar já produz 50 medicamentos que salvam vidas mas que não interessam à indústria.** *Diário de Notícias.* (2020). Consultado no dia 3 de agosto de 2023. Disponível na Internet em: <https://www.dn.pt/edicao-do-dia/25-jan-2020/o-laboratorio-militar-ja-produz-50-medicamentos-que-salvam-vidas-mas-que-nao-interessam-a-industria-11742642.html>.
8. RTP – **Laboratório Militar é o único produtor de histidina de cobre, usada em casos de doença de Menkes.** *RTP Notícias.* (2019). Consultado no dia 3 de agosto de 2023. Disponível na Internet em: https://www.rtp.pt/noticias/pais/laboratorio-militar-e-o-unico-produtor-de-histidina-de-cobre-usada-em-casos-de-doenca-de-menkes_vl192401.
9. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Guidelines for stability testing of pharmaceutical products containing well established drug substances in conventional dosage forms (Annex 5).** *World Health Organization Technical Report Series.* 863:863 (1996) 65–80.

10. REPÚBLICA PORTUGUESA – **Decreto-Lei nº152/2017, de 7 de dezembro.** *Diário da República.* (2017). Disponível na Internet em: <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/152-2017-114315242>.
11. ISO 9308-1:2014 – **Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria- Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora.** Disponível na Internet em: <https://www.iso.org/standard/55832.html>.
12. ISO 7899-2:2000 – **Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Membrane filtration method.** Disponível na Internet em: <https://www.iso.org/standard/14854.html>.
13. ISO 6222:1999 – **Water quality – Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium.** Disponível na Internet em: <https://www.iso.org/standard/28960.html>.

Anexos

Anexo I

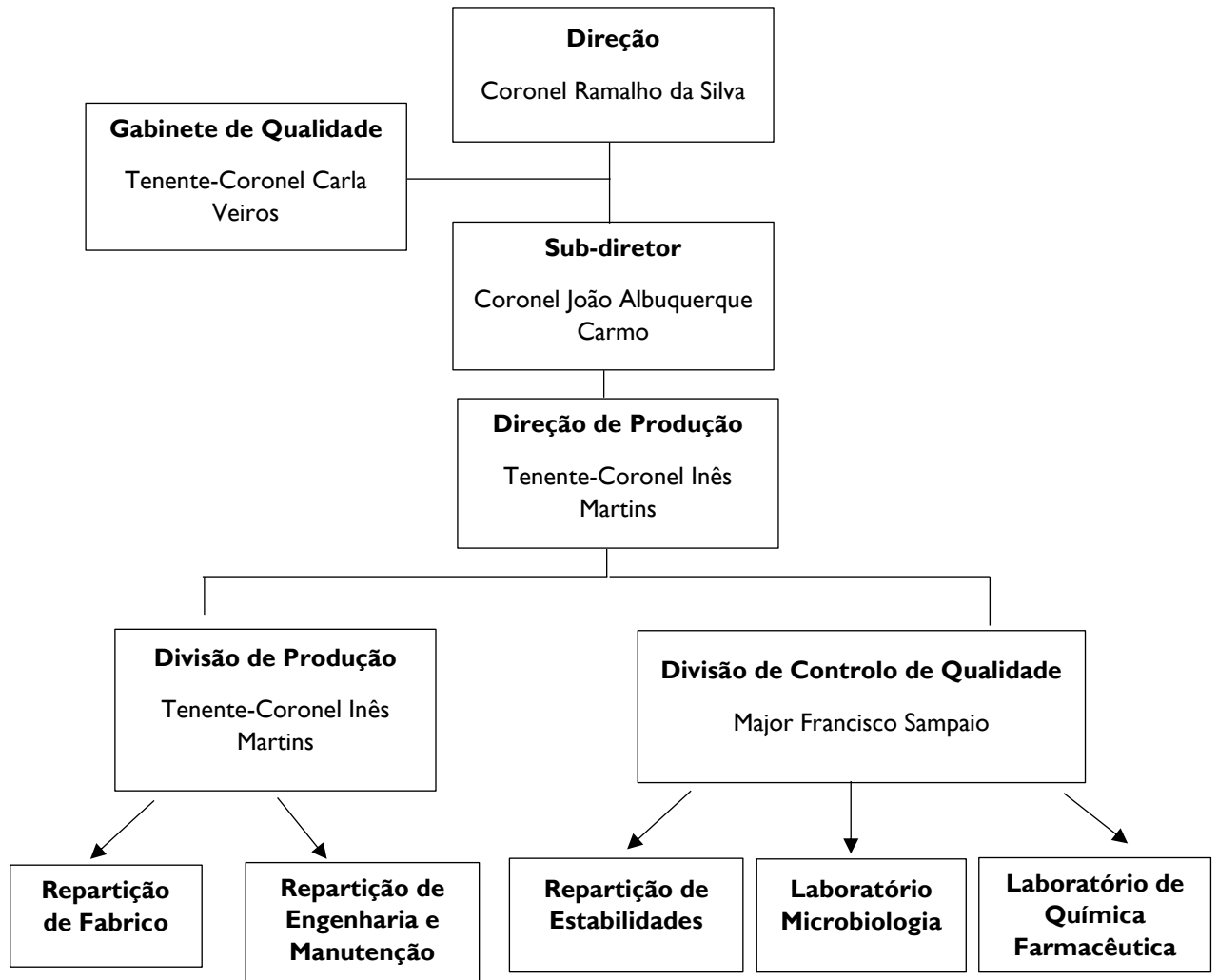


Figura I - Organograma da Direção de Produção do Laboratório Nacional do Medicamento.

Anexo II

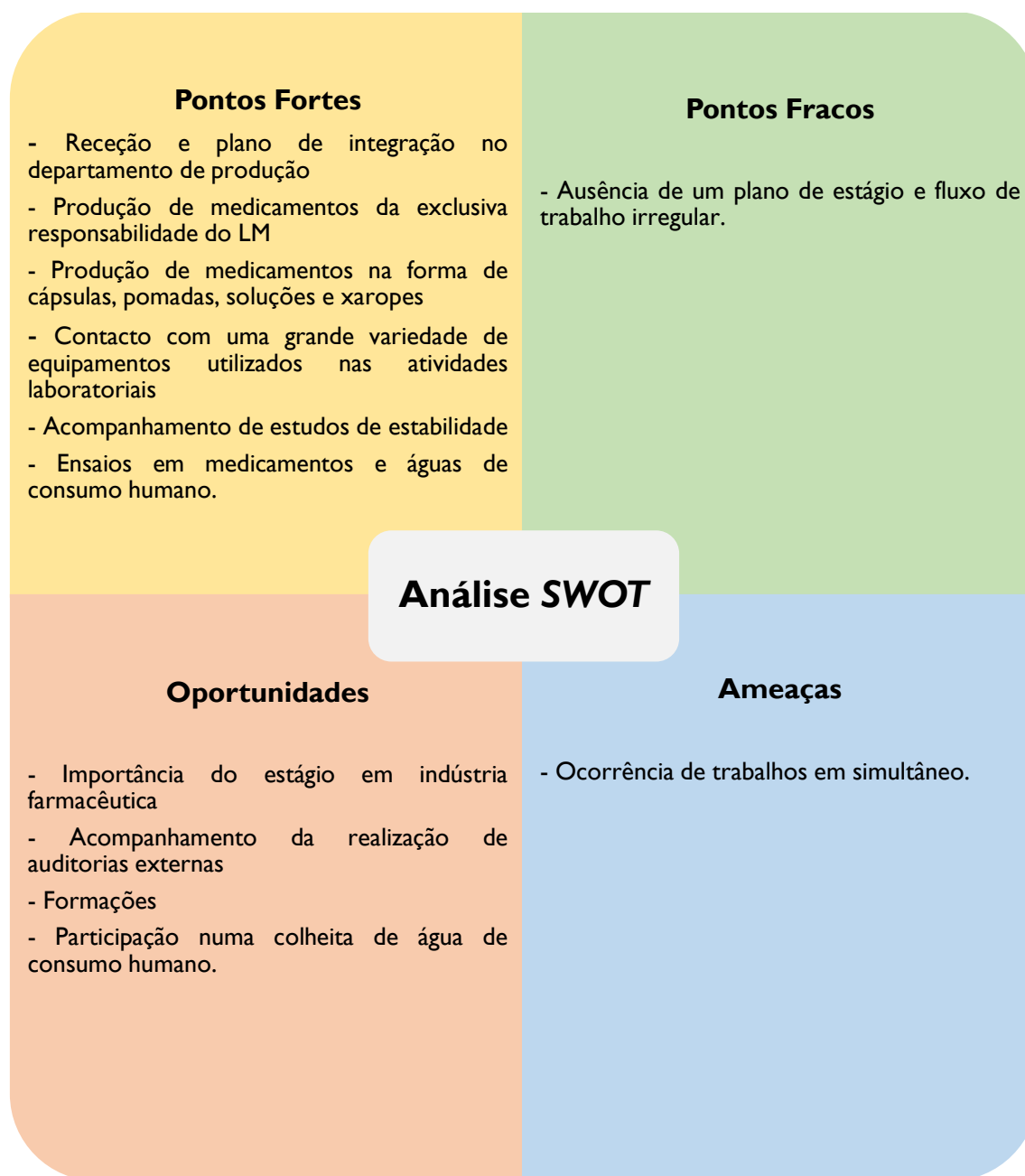


Figura 2 - Representação esquemática da análise SWOT relativa ao Estágio em Indústria Farmacêutica.
Abreviaturas: LM – Laboratório Nacional do Medicamento; SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*.

Anexo III

Tabela I: Exemplos de medicamentos e produtos não medicamentosos produzidos pelo LM.

Classificação de Produtos	Substância ativa	Dosagem	Forma farmacêutica
Medicamento Manipulado	Azul da Prússia	1 mg	Cápsulas e pó para solução oral
	Azul da Prússia	3 mg	Cápsulas e pó para solução oral
	Azul da Prússia	500 mg	Cápsulas
	Histidina Cobre	500 mcg/mL	Solução
	Primaquina	0,125 mg	Cápsulas
	Primaquina	1 mg	Cápsulas
	Fosfato de Cloroquina	15 mg	Cápsulas
	Fosfato de Cloroquina	30 mg	Cápsulas
	Altrenogest	4 mg/mL	Cápsulas
	Lactato de magnésio	500 mg	Cápsulas
	Carbonato de cálcio	500 mg	Cápsulas
	Gluconato de ferro	300 mg	Cápsulas
Ácido Tricloroacético	80%	Solução	
Medicamento Semi-Industrial	Cloridrato de Metadona	1%	Solução oral
	Cloridrato de Metadona	30 – 100 mg	Solução oral
	Cloridrato de Cocaína	10%	Pomada
	Isoniazida	300 mg	Cápsulas
	Isoniazida	0,68%	Solução oral
	Nome do produto	Dosagem	Apresentação
Produto não medicamentoso	Solução Antisséptica de Base Alcoólica (SABA), etanol 80% (v/v)	N/A	Frascos de plástico
	Testes de Droga, solução	N/A	Ampolas

Abreviaturas: LM – Laboratório Nacional do Medicamento; N/A – Não aplicável; SABA – Solução Antisséptica de Base Alcoólica.

Monografia

*“The effect of antibiotics on the gut microbiota
and its relationship with depression”*

Doutora Catarina Alexandra Reis Vale Gomes

Abstract

In the past two decades, the gut microbiota has been recognised as a fundamental player in orchestrating host physiology and pathology. The normal gut microbiota comprises two major phyla, namely Bacteroidetes and Firmicutes, and impacts specific functions of the host, particularly in the metabolism of nutrients, xenobiotics, and drugs; maintenance of the structural integrity of the gut mucosal barrier; immunomodulation and protection against pathogens. Notably, the influence of the microbiota is not limited to the intestine and affects the physiology of most host organs, namely the brain.

Alterations in the gut microbiota, characterized by a change in the quantity and diversity of bacteria in the gut, also called dysbiosis, were suggested to increase the risk of several psychiatric conditions, such as depression, through different pathways.

Multiple variables can influence gut microbiota composition. They include the mode of delivery (vaginal or caesarean); diet during infancy (breast milk or formula feeds) and adulthood (vegan-based or meat-based); use of antibiotics, among others.

Antibiotics are important medications to combat diseases caused by pathogenic bacteria, but they affect both the target pathogen and other beneficial species in the gut simultaneously. Numerous studies have confirmed that antibiotics have a significant impact on the composition and functionality of the human gut microbiota, suggesting that antibiotic exposure may increase the risk of developing depression. This work aims to investigate how antibiotics affect the gut microbiota and the potential association with depression.

Keywords: Depression; Gut Microbiota; Antibiotics; Dysbiosis; Microbiota-Gut-Brain Axis.

Resumo

Nas últimas duas décadas, a microbiota intestinal tem vindo a ser reconhecida como uma peça fundamental na regulação da fisiologia e patologia do hospedeiro. A microbiota intestinal normal compreende dois filos principais, nomeadamente Bacteroidetes e Firmicutes, e desempenha funções específicas no hospedeiro, particularmente no metabolismo de nutrientes, xenobióticos e medicamentos; manutenção da integridade estrutural da barreira da mucosa intestinal; imunomodulação e proteção contra agentes patogénicos. De facto, a influência da microbiota não se limita ao intestino, afetando a fisiologia da maioria dos órgãos do hospedeiro, nomeadamente o cérebro.

Vários estudos demonstraram que alterações na microbiota intestinal, caracterizadas por uma mudança na quantidade e diversidade de bactérias no intestino, também denominada disbiose, aumentam o risco de desenvolvimento de várias condições psiquiátricas, nomeadamente de depressão.

Vários fatores podem influenciar a composição da microbiota intestinal, incluindo o tipo de parto (vaginal ou cesariana); alimentação durante a infância (leite materno ou leite de fórmula) e idade adulta (à base de legumes e vegetais ou à base de carne e gorduras); uso de antibióticos, entre outros.

Os antibióticos são medicamentos usados para tratar doenças causadas por bactérias patogénicas. No entanto, afetam simultaneamente tanto o agente patogénico alvo como outras espécies benéficas que existem no intestino. Numerosos estudos confirmaram que os antibióticos têm um impacto significativo na composição e funcionalidade da microbiota intestinal humana, sugerindo que a exposição a este tipo de agentes pode aumentar o risco de desenvolvimento de depressão. Ao longo deste trabalho, pretende-se investigar de que forma é que os antibióticos afetam a microbiota intestinal e a potencial associação com a depressão.

Palavras-chave: Depressão; Microbiota Intestinal; Antibióticos; Disbiose; Eixo Microbiota-Intestino-Cérebro.

Abbreviations

5-HT	5-hydroxytryptamine (=serotonin)
ACTH	Adrenocorticotropic hormone
ASC	Ampicillin, streptomycin and clindamycin
BBB	Blood-brain barrier
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
CBI	Cannabinoid receptor I
CNS	Central nervous system
Con	Control group
CORT	Corticosterone
CRH	Corticotropin-releasing hormone
CUMS	Chronic unpredictable mild stress
Dys	Dysbacteriosis group
FST	Forced-swimming test
GABA	Gamma-aminobutyric acid
GBA	Gut-brain-axis
GI	Gastrointestinal
GR	Glucocorticoid receptor
HPA	Hypothalamic-pituitary-adrenal
IL	Interleukin
LPS	Lipopolysaccharide
MAO-A	Monoamine oxidase A
MAOIs	Monoamine oxidase inhibitor
MGB	Microbiota-gut-brain
MT	Melatonin

NS	Normal saline
PFC	Prefrontal cortex
p-NF-κB-p65	Phosphorylated NF-κB-p65
PNS	Peripheral nervous system
Pro	Probiotics group
qPCR	Quantitative polymerase chain reaction
SCFA	Short-chain fatty acid
SNRIs	Serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor
SPT	Sucrose preference test
SSRIs	Selective serotonin reuptake inhibitor
TCAs	Tricyclic antidepressant
TLRs	Toll-like receptor
TNF	Tumour necrosis factor
TST	Tail suspension test
VEGF	Vascular endothelial growth factor
Veh	Vehicle group
VGLUTs	Vesicular glutamate transporter
WHO	World Health Organization

1. Introduction

The concept of the gut-brain-axis (GBA) has garnered significant attention for centuries. During ancient times in Greece, Hippocrates, widely recognised as the father of contemporary medicine, asserted that the origin of all diseases may be traced back to the gastrointestinal (GI) tract. In the 19th century, William Beaumont made observations regarding the presence of "pain and uneasiness" at anatomical locations distant from the actual wound. Through these observations, Beaumont established a connection between digestion, sickness, and emotional states. He realised that the emotional state has an impact on the process of digesting, hence indicating a potential connection between the GI system and the central nervous system (CNS).¹

Neuroscientists have come to recognise the significance of the GBA, which has now developed into the microbiota-gut-brain (MGB) axis. This axis refers to the dynamic interplay between gut bacteria and the GI and central neurological systems of the host. This particular axis plays a significant role in the modulation of brain function and the maintenance of homeostasis, particularly in the context of stressful circumstances. Over time, there has been a growing endeavour to comprehend the significant function of the MGB axis in maintaining equilibrium in physiological processes, both in states of well-being and pathological conditions. Recent studies have demonstrated the role of the MGB axis in neuropsychiatric diseases, in particular depression, which is a very common illness affecting people of all ages with a complex pathophysiology.² The present work is divided into several parts, which complement each other. Initially, the theme of depression is addressed, followed by the gut microbiota, more specifically its evolution with age, its functions, and the factors that affect its normal functioning. Subsequently, we focused our attention on antibiotics, as destabilising factors of the gut microbiota, presenting some data that supports this hypothesis. Then, the concept of MGB axis and the mechanisms underlying the bidirectional communication between the gut microbiota and the brain are exploited. In the final chapter, it is presented some evidence that supports the relationship between gut microbiota and depression.

2. Depression

Depression is a common and serious neuropsychiatric disease, considering the fourth-leading cause of death among individuals aged 15–29. According to the World Health Organization (WHO), it affects approximately 280 million people of all ages globally and is one of the leading causes of disability worldwide and a major contributor to the overall global disease burden.³

Depression has a significant impact on the patient's income at work, family and school life, and all other activities, causing considerable suffering. In clinical practise, its detection, diagnosis, and management frequently present difficulties due to its diverse clinical manifestations, indeterminate course and prognosis, and variable therapeutic response.^{3,4}

Depression can affect thoughts, mood, and physical health. It is characterized by low mood, lack of energy, sadness, insomnia, and an inability to enjoy life. A depressive episode is different from regular mood fluctuations since it lasts most of the day, nearly every day, for at least two weeks.³ Those who have endured maltreatment, significant losses, or other traumatic experiences are more likely to develop depression. Additionally, women are more likely to have depression than men (50% more women than males experience depression).^{3,5}

2.1. Pathophysiology

Depression has a multifactorial aetiology, being conditioned by genetic, biological and psychosocial factors. It should not only be seen as a chronic and recurrent disease but also as a progressive disease.⁵

There is no singular theory that explains all depressive signs and symptoms. The monoaminergic system is considered to be the main system involved in the neurobiology of depression but stress and, consequently, a dysregulated activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis also plays an important role. A decrease in the expression of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is now known to be associated with depression, whereas an increase in its expression demonstrates an antidepressant effect. Glutamatergic transmission is also involved, as evidenced by the observation that the plasma concentration of glutamate in depressed patients is greater than that of healthy controls.⁵

2.1.1. Monoamine hypothesis

According to this hypothesis, the monoaminergic function is implicated in the neurobiology of depression: a decrease in monoamines [noradrenaline, dopamine, and serotonin (5-HT)] at the synaptic gap level causes depressive symptoms.^{4,5}

Currently, the monoaminergic system is considered the main system involved in the neurobiology of depression and there are several antidepressants whose mechanism of action is based on the increase of 5-HT in the synaptic gap. These may be serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) or may inhibit its degradation (monoamine oxidase inhibitory [MAOIs]).⁶

It is well established that 5-HT and serotonergic system is involved in the pathogenesis of depression, since this neurotransmitter is considered vital in the regulation of mood and

feelings of well-being, also having a relevant role in the circadian rhythm, as well as in other functions of the body, such as intestinal motility or blood clotting. It is distributed throughout the CNS, but also in the digestive system and blood platelets. It is produced through its precursor L-tryptophan, an essential amino acid obtained through food and present in nuts, cheese, red meats and salmon.^{7,8}

In patients with depression, there is a decrease in 5-HT synthesis and an increase in monoamine oxidase A (MAO-A) expression, which is an enzyme that metabolises monoamines.^{5,9}

2.1.2. Neuroendocrine system: HPA axis

The HPA axis is the main system responsible for stress response and although its activation by an acute stress trigger is essential to human survival and aims to prepare the body to respond to this aggression¹⁰, its chronic activation is highly dysfunctional.^{10,11} This prolonged activation will cause immunosuppression^{4,10}, growth retardation, libido suppression, alterations in sleep and eating patterns, and mood changes.¹⁰

When a stressor activates the HPA axis, the hypothalamus is stimulated and corticotropin-releasing hormone (CRH) is produced. In response, CRH stimulates the anterior pituitary gland to produce adrenocorticotrophic hormone (ACTH), which is then secreted into the bloodstream to affect the adrenal gland. The adrenal gland will release glucocorticoids, that in the case is cortisol (Fig. 1). Cortisol is the primary stress response steroid hormone and acts through glucocorticoid receptors (GR) in peripheral tissues.^{10,11} In addition to being present in peripheral tissues, these receptors are also present in the hypothalamus and pituitary gland. Since the HPA axis is functioning properly, cortisol will inhibit the entire axis (negative *feedback*), preventing the persistent activation of the same, by acting on the hypothalamus and pituitary via GR receptors.¹⁰⁻¹² Chronic activation of the HPA axis leads to a reduction in the sensitivity of the GR receptors, and as a result, cortisol no longer exerts negative *feedback*.¹²

It has been demonstrated that stress and, consequently, an uncontrolled activation of the HPA axis are implicated in the neurobiology of depression, but the mechanism by which they do so is not yet completely understood.^{4,13} In fact, depressed patients exhibit hyperactivity of the HPA axis with hypercortisolemia, hippocampal atrophy, decreased sensitivity of GR receptors and decrease in CRH receptor expression.^{4,5,11,12} They also show increased adrenal sensitivity to ACTH.⁶ According to animal studies, decreased expression of GR receptors and cortisol administration induce depressive behaviour.^{14,15}

The occurrence of life events triggering stress in the early stages of human development is harmful to HPA axis dysfunction.^{12,16,17} In addition, the HPA axis establishes a bidirectional

relationship with other systems, such as the monoamine system, that are also implicated in the neurobiology of depression.¹²

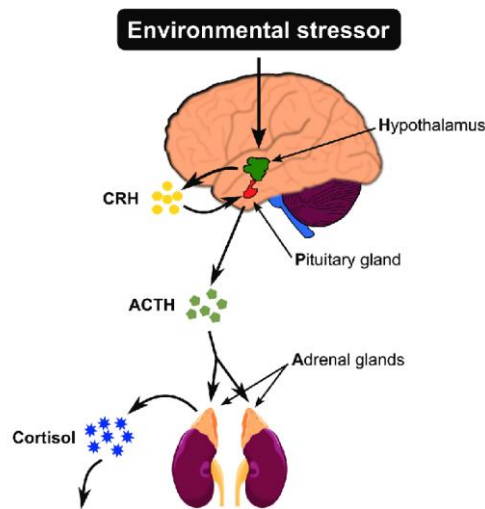


Figure 1- Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. [Adapted from Plusquellec *et al.* (2013) – “Adverse effects of pollution on mental health: the stress hypothesis”].¹⁸

2.1.3. Neurotrophins and neurogenesis – BDNF hypothesis

Depression results from an interaction between genetic predisposition and environmental risk factors (stress trigger events, personality traits). The combination of female gender, high genetic risk, and acute and chronic stress trigger events is associated with lower BDNF levels.^{5,19,20}

BDNF is a protein that belongs to the neurotrophins family and is produced by nerve tissue, mainly in areas related to emotions, mood, and cognition, such as the cerebral cortex, hippocampus, and amygdala. It affects the development of the CNS during embryonic life and is involved in the growth, differentiation, plasticity, and apoptosis of neurons in adults, contributing to neuronal integrity throughout life.^{16,21,22} It is present in both the CNS, where it serves as the principal neurotrophin of the hippocampus, and the peripheral nervous system (PNS), where it is deposited in platelets.^{23,24}

The neurotrophic hypothesis constitutes one of the main theories for the neurobiology of depression, and it links the decrease in BDNF expression and atrophy of limbic structures to depression, as well as the increase in plasma levels of this neurotrophin to the antidepressant effect.^{23,24} According to this hypothesis, stress and genetic predisposition will be responsible for the elevation of glucocorticoids and the modification of neuronal plasticity by modulating the expression of growth factors (such as BDNF) and cellular receptors. This decrease in

growth factors leads to cell atrophy in the hippocampus and other limbic structures. Remission of this atrophy depends on the restoration of BDNF levels.⁵

There are studies that show the plasma concentration of BDNF decreases in depressed individuals²⁵ and increases in the hippocampus of rodents when antidepressants are administered.^{23,24} There are some antidepressants whose mechanism of action goes through the induction of neurogenesis at the level of the hippocampus, through the stimulation of the release of growth factors such as BDNF and vascular endothelial growth factor (VEGF) which alone have antidepressant properties.⁴

2.1.4. Glutathione hypothesis

In the mammalian CNS, there are two major types of neurotransmitters: inhibitors [gamma-aminobutyric acid (GABA) and glycine] and excitators, with glutamate (L-glutamic acid) being the primary excitator.^{4,26-28} There are 3 glutamate carriers with different expression depending on the brain areas.²⁹ The fact that vesicular glutamate transporter 3 (VGLUTs) is expressed in serotonergic, cholinergic, and GABAergic neurons led to the hypothesis that these neurotransmitters and glutamate are related.^{30,31}

The glutamate is involved in neurogenesis, axon genesis, synaptogenesis and neuronal survival, as well as in the stress response. In the presence of metabolic and/or oxidative stress, there will be an increase in glutamate release, leading to an overactivation of its receptors. As a result, neurogenesis, axon formation, and synaptogenesis will be altered, leading to regression of synapses and neuronal atrophy. This change in neuronal networks, induced by the excitotoxicity of glutamate, is believed to result in a change in neuronal transmission, and is therefore linked to the neurobiology of depression.²⁷

Multiple studies support the hypothesis that glutamatergic transmission is involved in the neurobiology of depression, as the concentration of glutamate in the cerebrospinal fluid and plasma of depressed patients is greater than that of healthy controls²² and that neuron atrophy in the hippocampus can be mitigated by glutamate antagonists who thus have antidepressant properties.²⁶

2.1.5. Chronic inflammation

Depression is increasingly recognised as having an inflammatory component. Research has demonstrated that an inflammatory phenotype alters neurotransmitter metabolism by reducing the availability of neurotransmitter precursors and activating the HPA axis, all of which contribute to the pathogenesis of clinical depression.³²

Moreover, recent research indicates that the immune system and the neurobiology of mood disorders are related.³² Cytokines are chemical messengers responsible for the homeostasis of immune cells and the regulation of the inflammatory response. The fact that acute administration of proinflammatory cytokines in rodents is associated with depressive symptomatology (change in sleep pattern, irritability, fatigue, apathy, and loss of appetite) suggests a role for proinflammatory cytokines in the neurobiology of depression. This theory is also supported by the elevation of some cytokines (IL-6 and IL-1) and acute-phase proteins (haptoglobin and C-reactive protein) in the serum of depressed patients.²¹

2.1.6. The endocannabinoid system

The endocannabinoid system has been also associated with the neurobiology of depression and is thought to act by regulating the release of 5-HT and norepinephrine. Its effect on the CNS is mediated by the cannabinoid receptor 1 (CB1). This theory is supported by the fact that the CB1 receptor is expressed in regions of the brain associated with depression (limbic system and frontal cortex) and that antagonists of this receptor have an antidepressant effect. For example, tricyclic antidepressant treatment stimulates the expression of CB1 receptors in the hypothalamus and hippocampus.³³

In conclusion, the neurobiology of depression should not be viewed as a simple mechanism, but rather as a complex process comprising a collection of neural networks, neurotransmitters, hormones, enzymes, genes, and eventually the environment. Besides, new findings have been highlighted, namely the influence of the gut microbiota on the development of depression.

2.2. Signs and symptoms

In patients with major depressive disorder or post-traumatic stress disorder and animal models of stress-induced depression, it is possible to observe hyperactivity of the HPA axis, increased levels of CRH in the cerebrospinal fluid, hypercortisolemia, decreased negative axis *feedback* by CRH and glucocorticoids, decrease in volume of the prefrontal and hippocampal cortex, and reduction in expression of BDNF in the hippocampus and prefrontal cortex.³⁴⁻³⁶

Depression can present a variety of forms and degrees of severity, and its symptoms can persist at any time. According to the “Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision”, a patient can be diagnosed with depression if he has experienced at least five of the following symptoms for a period equal to or greater than two weeks: feelings of sadness, boredom, irritability, tension or agitation, distress, unfounded fears

and insecurity, decrease in energy, fatigue, loss of interest and pleasure in daily activities (anhedonia), disturbances in sleep and sexual desire, alterations in concentration, memory, and reasoning, changes in appetite or weight, and ideas of death and suicide attempts.⁵

2.3. Diagnosis and treatment

In some cases, depression does not manifest itself in the form of sadness but rather through symptoms such as fatigue, unspecific pain, a feeling of oppression in the chest, and digestive disorders (nausea, vomiting, diarrhoea), which raise the hypothesis of a different disease, making the diagnosis difficult and protracted.³

There are effective treatments for depression, including antidepressants and psychotherapy, which aim to reduce depressive symptoms and the risk of suicide. In general, these are treatments that must be administered for a prolonged period of time in order to be effective. Psychological therapies are the first line of defence against depression. In cases of moderate to severe depression, they may be combined with antidepressant medications.³⁷ When discontinuing treatment with antidepressants, the dose should be tapered progressively while monitoring for a recurrence of depression.^{3,38}

2.3.1. Antidepressant medications

Antidepressants are drugs that, through a variety of mechanisms, enhance the levels of norepinephrine, 5-HT, and to a lesser extent dopamine in the neural synapses of the CNS. The efficacy of antidepressants is similar between classes, despite their different mechanisms of action.³⁸⁻⁴⁰

Classes of antidepressants include:³⁸⁻⁴⁰

- **Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs)**, such as fluoxetine, sertraline, escitalopram and paroxetine. SSRIs block the reuptake of 5-HT, enhancing and prolonging serotonergic neurotransmission. These are the most common types of prescribed antidepressants, as they cause fewer side effects.
- **Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors (SNRIs)**, such as duloxetine and venlafaxine. They block 5-HT and norepinephrine reuptake in the synapse, increasing postsynaptic receptor stimulation. SNRIs differ in their affinity for the 5-HT and norepinephrine transporters.
- **Atypical antidepressants**, such as agomelatine, bupropion and mirtazapine. Atypical antidepressants have a variety of action mechanisms. Agomelatine acts as an agonist at melatonin receptors (MT1 and MT2). It also antagonises serotonergic

5-HT_{2C} receptors, thereby stimulating the release of dopamine and norepinephrine. Bupropion works by inhibiting the reuptake of dopamine and norepinephrine in the presynaptic cleft. Mirtazapine functions by inhibiting α_2 adrenergic receptors on cell bodies and nerve terminals and blocking the 5-HT receptor, enhancing noradrenergic and serotonergic neurotransmission.

- **Serotonin Modulators**, such as trazodone and vortioxetine. Trazodone acts on 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} postsynaptic receptors and inhibits presynaptic 5-HT reuptake weakly. Additionally, trazodone inhibits the activity of postsynaptic α -adrenergic and histamine receptors.
- **Tricyclic Antidepressants (TCA)**, such as amitriptyline, clomipramine, and nortriptyline. They are an older class of antidepressants often reserved for treatment-resistant depression and anxiety due to their increased rates of side effects. They inhibit norepinephrine and 5-HT reuptake at the presynaptic neuronal membrane. Additionally, amitriptyline has affinity for muscarinic M₁ and histamine H₁ receptors. TCA can therefore produce sedative and anticholinergic adverse effects.
- **Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs)**, such as isocarboxazid, tranylcypromine, phenelzine and moclobemide. They were the first antidepressants to be discovered. MAOIs inhibit the enzyme monoamine oxidase, which is responsible for catabolizing 5-HT, norepinephrine, and dopamine. Though highly effective, they are often reserved for treatment-resistant depression and anxiety. This is because of the adverse effects and interactions with drugs and food, especially those that contain the amino acid tyramine.

Table I (Annex I) summarises these classes of antidepressants, their mechanisms of action, and some examples.³⁸⁻⁴⁰

3. The Human Gut Microbiota

3.1. Definition and overview

The human being functions in harmony with trillions of symbiotic bacteria and eukaryotic cells, establishing relationships with each other. Interactions between the host and the microbe occur at four major colonization sites in the human body, which are the oral, gut, genital, and skin. Every niche of the human body has a distinct microbiota.⁴¹

The term "microbiota" refers to the entire population of microorganisms that colonize a particular environment. It includes not only bacteria but also fungi, archaea, viruses, and protozoans.^{41,42}

The microbiota is ten times more abundant than somatic and germline cells in the human body. The collective genes of the microbiota are known as the microbiome. The human genome consists of about 23 000 genes, whereas the microbiome encodes over three million genes, which is 150 times larger than the human genome.⁴³

The human GI tract represents one of the largest interfaces between the host, environmental factors, and antigens in the human body. The largest population of microorganisms in the human body is found in the gut, where more than 100 trillion microorganisms live. These microorganisms that live in the intestine are called gut microbiota.⁴¹

The gut harbours a very diverse population of microorganisms, ranging from bacteria to archaea, protozoa, fungi, and viruses. However, bacterial populations, mainly composed of strict anaerobes, are predominant and, for that reason, are the most well characterized.^{41,42}

The gut microenvironment mainly favours the growth of bacteria from seven predominant phyla: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia, and Cyanobacteria. The Bacteroidetes and Firmicutes are the dominant bacterial phylotypes, constituting 90% of the total population.^{41,42}

The majority of the gut bacteria are non-pathogenic and co-habit with the enterocytes in a symbiotic relationship. Bacterial species get benefits from the warm, nutrient-rich environment of the gut while performing protective, metabolic, neurologic, and structural functions. The gut commensals predominantly aid in nutrient and drug metabolism, the prevention of colonisation by pathogenic microorganisms, and intestinal barrier function, exerting a marked influence on the host during homeostasis and disease.⁴¹

Considering its unique functions, the gut microbiota is recognised as an organ by itself with extensive metabolic capability and substantial functional plasticity.⁴³

3.2. How the gut microbiota evolves: from birth to adulthood

The human microbiota has evolved along with the host; it is an integral part of the human body and plays an important role through infancy, adulthood, and old age.⁴⁴

Changes occur throughout life in the gut microbiota, from infancy to old age, with childhood being a critical period for the microbiota and neurodevelopment. Generally, the gut microbiota is formed in three phases and varies according to age. There is some controversy

about when the human GI tract is first colonized. Some authors argue that colonization of the gut begins at birth since they consider the uterus and placenta to be sterile. On the other hand, and more recently, some studies have emerged reporting the existence of a placental microbiota and colonization of the fetus in utero.^{2,45}

Multiple factors contribute to the establishment of the human gut microbiota during infancy. The mode of delivery greatly influences microbiota composition, with infants born by caesarean section having a distinctly different microbiota in early life compared to those born by vaginal delivery. When passing through the birth canal, the baby encounters some bacteria, which then colonize the GI tract, the mouth, the skin, and the conjunctiva. In caesarean section, the microbial composition acquired by newborns resembles the one residing on the mother's skin, with *Staphylococcus* and *Corynebacterium* being the main genera, while vaginally delivered infants' microbiota is more similar to the vaginal flora with a high abundance of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Prevotella*.⁴⁶

The microbiota can also be modulated by the mode of feeding. Newborns exclusively breastfed have a microbiota with less diversity, but the composition is more stable compared to those fed formula, with breastfed infants having an increase in *Bifidobacterium* species. However, after initiating solid foods the diversity of the gut microbiota increases, and the proportion of anaerobic bacteria classified as Firmicutes begins to increase. Around the age of three, the unstable structure and composition of the microbiota start to differentiate and acquire similarity to those of adults.^{46,47}

Adolescence is a period of many changes, and it has been labelled a period of "storm and stress", reflecting the unique challenges associated with this stage of life. In addition to the hormonal fluctuations that occur during adolescence, the brain undergoes extensive remodelling. The body develops rapidly and new social experiences emerge, while at the same time there are changes in diet, sleep patterns, and increased exposure to alcohol and drugs.¹ Therefore, since all these factors have been associated with changes in the MGB axis in adults and in view of this set of profound changes experienced during adolescence, it would be expected that adolescents were more vulnerable to the onset of mental health problems.

Ageing is a slow process of deterioration of various homeostatic functions accompanied by an increased prevalence of diseases. The microbiota is also linked with the ageing process since in individuals over 65 years the microbial community shifts, with lower diversity and an enrichment of potentially harmful bacterial groups.^{2,47,48}

In conclusion, while the gut microbiota is highly variable in newborns, as humans age, it tends to remain relatively stable and is accompanied by a lower level of diversity and a loss of

important genes, such as those involved in producing short-chain fatty acids (SCFAs), which are important metabolic products of gut microbial activity.⁴⁹

3.3. Functions of the gut microbiota

Owing to its large genomic content and metabolic complement, the gut microbiota provides a range of beneficial properties to the host. Even though each individual has a specific microbiota that acts like an identity card, the microbiota in general also brings unique functions to humans. In the human body, the gut microbiota performs its functions in four main domains: metabolic, protective, structural, and neurological.⁴⁸

The gut microbiota has the physiological function of fermenting non-digestible substrates, like dietary fibers and endogenous intestinal mucus, thus providing not only micronutrients (amino acids and SCFAs) but also assisting absorption and degradation, acting as a source of nutrients and energy for the host. It is also responsible for maintaining the integrity of the intestinal mucous membrane, stimulating the immune system, and thus helping to prevent various diseases, as well as producing components necessary for cell renewal. The physical presence of the microbiota also controls the colonization and proliferation of pathogens by competing for attachment sites or nutrient sources and by producing antimicrobial substances.^{1,42} Furthermore, it is fundamental in the production of enzymes and vitamins that the host is incapable of producing, such as vitamin K, vitamin B12, vitamin B9 (folate), and biotin. Bifidobacteria are the main producers of folate, a vitamin involved in vital host metabolic processes including DNA synthesis and repair. Lactic acid bacteria are key organisms in the production of vitamin B12, which is essential for the proper functioning of the organism as it is involved in the formation of blood cells and acts directly on the nervous system, helping in the formation of neurons.^{1,42,48} Recently, it was found that the gut microbiota produces and releases cytokines, neurotransmitters, neuropeptides, endocrine messengers, and microbial by-products that act on the CNS. These substances can infiltrate the blood and lymphatic systems or influence neural messages carried by the vagal and spinal afferent neurons to continually communicate with the brain and update health status, which may have a significant role in modulating brain function and behaviour.¹

In view of the numerous and diverse physiological functions of the gut microbiota in human health, it is not unexpected that it is involved in GI, as well as non-GI diseases, such as obesity and atherosclerosis as well as neurologic/psychiatric diseases.⁴⁸

3.4. Factors that affect the gut microbiota

The human genome is practically stable throughout life. However, the same is not true about the microbiome, which is immensely dynamic, diverse, and reactive to external stimuli. Even though there is a heritable component to the gut microbiota and a set of bacteria that is common to all healthy humans, the composition of the gut microbiota is unique and individual, and it can be influenced by multiple factors, which can be grouped into potentially modifiable and non-modifiable factors.^{1,46}

Potentially modifiable factors include feeding mode in the early stages of life (breastfeeding, formula milk, introduction of solid foods), the use of medication, namely antibiotic exposure, infections, stress, diseases, physical activity, environmental factors, eating habits, and ways of preparing food. On the other hand, non-modifiable factors include host genetics, gestational age (preterm or full-term babies), type of delivery (vaginal or caesarean), and ageing. These disturbances in the microbiota may have long-term repercussions on physiology and behaviour, which can have a negative impact on host health by increasing vulnerability to diseases.^{1,45,46}

Concerning feeding mode, it has a major impact on an infant's microbiota composition, considering the differences when comparing the gut microbiota of breastfed infants and formula-fed infants. While the gut microbiota of the former is dominated by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, the second develops a microbiota resembling that of an adult with higher overall bacterial diversity. The predominance of these bacteria results from the presence of several bioactive compounds in breast milk that have a significant role in nutrient digestion and absorption, immune protection, and antimicrobial defence and are present exclusively in human milk secretions. Breast milk, not only contains live bacteria but also a great variety of complex carbohydrates that cannot be digested by babies. In turn, these complex carbohydrates act as prebiotics by influencing the composition of the bacteria in the breastfed infant's gut. Afterward, the transition from breastfeeding to solid foods leads to an increase in gut bacteria diversity.¹

Eating habits are the most important determinants in shaping composition, diversity, and richness of gut microbiota, even throughout adulthood, with specific types of diet inducing different microbiota patterns. People with a high protein and animal fat diet have enterotypes characterized by high levels of *Bacteroides*, while a diet rich in fiber, fruits, and vegetables is associated with a higher richness and diversity of the gut microbiota, with enterotypes characterized by high levels of *Prevotella*.^{45,47}

A diverse microbiota is associated with healthy ageing, which contributes to a healthy brain

across the lifespan. However, as we get older, microbiota composition changes, decreasing in both number and diversity. More specifically, Bifidobacteria strains decrease considerably with age. Importantly, the microbiota in the elderly was shown to be strongly influenced by diet, which opens up dietary-based intervention strategies in the elderly.⁴⁶

Infections, antibiotics, diseases, and stress are all factors that can also alter the stability of the gut microbiota with regard to its composition. There is evidence that antibiotic-induced gut microbiota depletion in mice or germ-free animals bred in sterile settings exhibit significant behavioural or neuropathological changes that are indicative of neurodevelopmental, psychiatric, and neurodegenerative diseases. These include, among others, autism spectrum disorders, Alzheimer's or Parkinson's disease and depression.^{45,46}

To summarize, there are many external factors that can affect the gut microbiota, and while some are less controllable, others can be controlled to ensure the proper functioning of the gut microbiota. Moreover, the gut microbiota is linked to so many aspects of human health, and several studies have shown an imbalanced gut microbiota, also called dysbiosis, in conjunction with various diseases such as obesity, diabetes, and neurological disorders.

The subsequent sections will provide a more detailed analysis of the primary subject matter of the study, namely antibiotics, as agents that destabilise the gut microbiota, and as potential players in the development of depression.

3.4.1. Antibiotics

Antibiotics are chemotherapeutic agents used to treat or prevent bacterial infections. They work through several mechanisms of action, leading to the death of bacteria or preventing them from spreading. An antibiotic can be classified as bactericidal or bacteriostatic. In the first case, it acts by directly killing the bacteria, while in the second case, the antibiotic inhibits the growth of bacteria, but does not kill them directly; in this case, the immune system is responsible for fighting the infection.⁵⁰

An antibiotic may have the ability to act on many bacterial species (broad spectrum of action), it may also act on a limited number of bacteria (intermediate spectrum of action), or it may act on only one or very few bacterial species (reduced spectrum of action).⁵¹

The choice of an antibiotic must follow criteria and depend on the bacteria causing the infection (for instance, gram positive, or negative), the type and site of infection, the age of the patient (for example, quinolones and tetracyclines cannot be used in children), and the patient's condition (since, for example, aminoglycosides are nephrotoxic).⁵¹

3.4.1.1. Targets and mechanisms of action

There are several possible targets where antibiotics can act. Generally speaking, we can group the mechanisms of action of antibiotics into four categories:

- I- Inhibition of cell wall synthesis (the target molecule is peptidoglycan): examples of antibiotics that act according to this mechanism are beta-lactams;
- II- Alteration of cell membrane function (ex. increased cell wall permeability);
- III- Inhibition of protein synthesis (inhibition of 30S or 50S units of ribosomes): such as aminoglycosides, macrolides, tetracyclines, and chloramphenicol;
- IV- Inhibition of nucleic acid synthesis or function- some examples are quinolones and sulphonamides.^{52,53}

3.4.1.2. Antibiotic resistance

Antibiotics have saved countless lives by fighting bacterial infections. However, when they are not used properly, they can become less effective. Unfortunately, their excessive use in the clinic, veterinary medicine, and farming has led to the development of resistance.⁵⁴

Antibiotic resistance occurs when bacteria change in response to the use of antibiotics, and so, they no longer work. This means that the bacteria continue to grow, and the infection persists.⁵⁵ The problematic of antibiotic resistance is rising to dangerously high levels in all parts of the world, and new resistance mechanisms are emerging and spreading globally, threatening our ability to treat common infectious diseases.⁵⁶ According to the WHO, this serious threat is no longer a prediction for the future. Antibiotic resistance is now a major threat to public health.⁵⁴

Moreover, patients with antimicrobial-resistant infections frequently experience increased feelings of fear, anxiety, and depression. This is probably due to the alteration of the bacterial population normally present in the gut microbiota and the subsequent loss of bacteria capable of producing important metabolites, namely neurotransmitters and SCFAs.⁵⁷

3.4.1.3. Role of the pharmacist

As mentioned earlier, antibiotics are factors capable of exerting a negative effect on the gut microbiota, potentially leading to the development of numerous disorders. The unnecessary intake of this type of medicine is a factor that contributes to the deregulation of the gut microbiota and all the functions that are inherent to it. Therefore, the pharmacist, as a healthcare professional, has a very important role in the community and can contribute to

the rational use of antibiotics and the prevention of antibiotic resistance through actions such as: educating and informing patients, other healthcare professionals, and the general public about the use of antibiotics and raising awareness of the risk of developing resistance, alerting the patient to the need to strictly follow the therapeutic regime; educating and counselling in order to reduce the transmission of infections by promoting vaccination, safe sex and hand washing.^{58,59}

It is also very important to mention that antibiotics do not work for everything since, for example, they are not effective against viral infections, such as the common cold or flu and most coughs. Furthermore, many mild bacterial infections improve on their own without resorting to antibiotics. In these cases, the pharmacist should recommend a therapy for the symptomatology and, if symptoms persist, refer the patient to a doctor.⁵⁹

In conclusion, when dispensing an antibiotic, the pharmacist should warn the patient to take the medicine until the end, even if he feels better in the middle of the treatment. In addition, it should also be mentioned that antibiotics should not be kept for future self-medication; antibiotics that have been prescribed to another person should not be taken; and additionally, the pharmacist should warn about possible interactions and adverse effects.

4. Antibiotic-Induced Changes in the Gut Microbiota

The use of antibiotics is not only beneficial, as their overuse appears to be involved in the development of various illnesses associated with microbiota impairment.^{1,60} Numerous studies on the impact of antibiotic usage on the gut microbiota have been conducted in recent years, and it is now known that using antibiotics does have both short and long-term effects on the gut microbiota. Antibiotic use decreases the variety of species in the gut microbiota overall, including the loss of several significant taxa, which alters metabolism, makes the gut more susceptible to colonisation, and encourages the emergence of bacterial antibiotic resistance.⁶⁰⁻⁶² Additionally, antibiotics have the potential to upset the harmony that normally exists among the many species of the gut microbiota. For instance, by reducing species diversity, antibiotics may result in an increase in pathobionts like toxic *Clostridium difficile*.⁶⁰

The changes in the human gut microbiota brought on by antibiotics appear to be influenced by both host-related (age, lifestyle and microbiota composition) and drug-related factors, such as antibiotic type, timing of exposure, or route of delivery.⁶²

Different antibiotic classes provide different patterns of microbiota alteration because of their different spectrum and bacterial target. For example, macrolides were found to cause long-term changes in the microbiota in a large cohort of Finnish children, most notably a decrease in Actinobacteria (mainly Bifidobacteria), Firmicutes (mainly Lactobacilli), and total

bacterial diversity, as well as an increase in the relative abundance of Bacteroidetes and Proteobacteria.^{60,62}

A preliminary human study revealed that the administration of β -lactam intravenous therapy, which includes ampicillin, sulbactam, and cefazolin, affects both the microbial ecology and the production of important metabolites, including acetyl phosphate and acetyl-CoA, which are important for key cellular functions.⁴³

The collection of information from animal experimental studies allows for the generation of data that may be useful in understanding diseases in humans and the subsequent treatment, as well as highlighting factors that might be involved in their genesis. In this regard, I will then detail some studies that I considered particularly conclusive and that address the influence of antibiotics on the gut microbiota.

Recent studies in mice showed that antibiotic-induced microbiota depletion altered the colon's secondary bile acid and 5-HT metabolism, which delayed GI motility.⁴³ Antibiotic-treated mice are also more susceptible to pathogenic infection, namely by *Salmonella typhimurium* and *Clostridium difficile*, due to an alteration in mucosal carbohydrate availability, favouring their expansion into the gut. For instance, these species feed on fucose and sialic acid released by the gut microbiota, and post-antibiotic treatment increases in sialic acid levels encourage the development of these species within the gut.^{63,64}

The ability to cause competitive exclusion, one of the key defences of a healthy gut microbiota against infections, can be weakened by antibiotic use. The loss of the extensive network of interspecies interactions in the microbiota, which raises the amount of host-derived sialic acid and encourages the growth of pathogens, could be one of the potential reasons for this kind of event.⁶⁴

According to recent studies, administering antibiotics to young, healthy rodents induces depressive behaviours. Specifically, a study was conducted to induce intestinal bacterial dysbiosis in healthy mice by administering a broad-spectrum cocktail mixture of antibiotics containing ampicillin, streptomycin, and clindamycin (ASC antibiotics) for 3 weeks, in order to understand the changed neurological behaviours and neuronal activities in mice with intestinal dysbiosis.⁶⁵ First, mice were divided into four groups (A, B, C e D) and subjected to a three-week drinking solution processing. Mice of group A (Control, Con) only drank regular water for 3 weeks, and mice of group B (Dysbacteriosis, Dys) were treated with 1 mg/ml ASC antibiotics for 3 weeks. In group C (Vehicle, Veh) and D (Probiotics, Pro), there was a reverse course with ASC antibiotic mixture changed to drinking water and probiotics for another 2 weeks.⁶⁵

The mice in each group were then subjected to gut microbiota analysis, a battery of behavioural tests (anxiety, depression, pain test and recognitive memory test) and immunostaining for Fos protein, an activity-dependent neuronal marker. Fos expression is an important indicator for showing the changed activity of neurons in most of the brain areas. To investigate potential alterations in the composition of the gut microbiota, quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to assess the alternation of three major bacterial species: *Bifidobacterium*, *Escherichia Coli*, and *Lactobacillus*. The results are illustrated in the following figure.

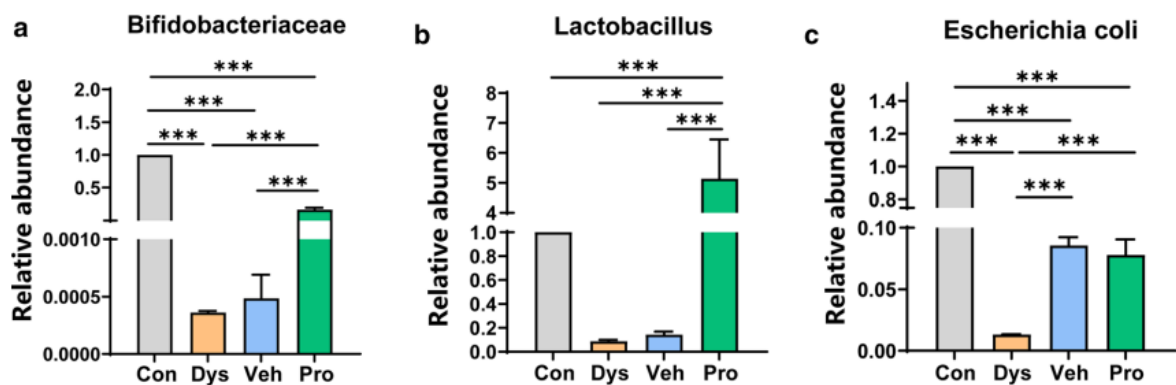


Figure 2 - Effects of vehicle and probiotics on the abundance of gut bacteria in antibiotic-treated mice. The alternation of three main bacterial species was assessed with genus-specific primers targeting the 16S rRNA genes of *Bifidobacterium* (a), *Escherichia Coli* (b) and *Lactobacillus* (c). [Adapted from Wang *et al.* (2021) – “Antibiotics-induced intestinal dysbacteriosis caused behavioral alternations and neuronal activation in different brain regions in mice”].⁶⁵

As anticipated, dysbiosis was induced in Dys mice treated with ASC antibiotics, in which the relative expression levels of three bacterial groups were substantially reduced compared to those of the control mice. The populations of *Bifidobacteriaceae* and *Lactobacillus* were restored when the ASC mixture was replaced with probiotics, but not with drinking water. However, the population of *Escherichia coli* was partially but significantly recovered when the ASC mixture was replaced with either drinking water or probiotics. These results suggest that dysbiosis in mice can be induced by ASC antibiotics, whereas probiotics have a powerful influence on rescuing the flora distribution.⁶⁵

To conclude on the influence of intestinal dysbiosis on depressive-like behaviour, two tests were performed: tail suspension test (TST) and splash test.⁶⁵ TST - Mice were suspended 50 cm above the floor using adhesive tape placed approximately 1 cm from the tip of the tail for 5 min. A time recorder monitored and recorded the length of immobility in seconds. The mice's immobility was defined as the absence of escape-oriented movement and complete

inactivity while suspended. Splash test - This test was based on mice's grooming behaviour and was conducted by vaporising a 10% sucrose solution onto their dorsal fur. The latency and frequency of the grooming behaviour were measured and analysed over the course of 5 minutes. As depicted in Figure 3, Dys mice exhibited increased immobility time and decreased grooming latency compared to mice in the Control group. Following a 2-week administration of water or probiotics, these depressive-like behaviours were substantially alleviated.

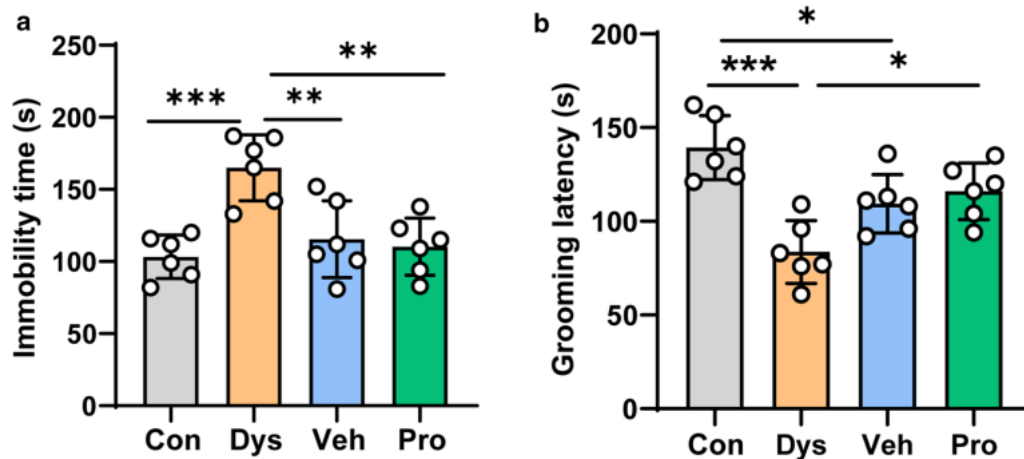


Figure 3 - The enhanced depressive-like behaviour in dysbacteriosis mice. **a** The length of absence of escape-oriented behaviour in tail suspension test. **b** The grooming latency alteration of mice in different groups in splash test. [Adapted from Wang *et al.* (2021) – “Antibiotics-induced intestinal dysbacteriosis caused behavioral alternations and neuronal activation in different brain regions in mice”].³¹

In conclusion, the abundance of beneficial bacteria, such as *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, decreased significantly in the Dys group and was replenished in the Pro group. In Dys mice are shown enhanced anxiety/depression-like behaviours, which are more or less recovered after withdrawal of antibiotics. Additionally, and based on the previously presented results, we can deduce that probiotics aid in reducing depression symptoms. These results also suggest that exposure to antibiotics, even for brief periods of time, has impacts on the microbiota and can predispose the host to a number of diseases.

Another study was conducted by Fan *et al.* with the objective of inducing intestinal-flora disorder in mice through the administration of antibiotics, as well as establishing a stable and reliable antibiotics-induced depression mouse model, and exploring the possible mechanisms of antibiotic-induced depression.⁶⁶ For this purpose, they used two-month-old C57BL/6 J male mice, which were randomly distributed into eight groups: A, B, C, D, E, positive control [chronic unpredictable mild stress (CUMS) group], negative control [normal saline (NS) group] and the normal group.⁶⁶

Antibiotic mixtures were prepared taking the doses into account, as they are a factor that can affect the results.⁶⁶ Mice in group A received solution A instead of pure water to drink freely for 11 days. Mice in groups B, C, D, and E were administered solutions B, C, D, and E, respectively, by gavage at 5 mL/(kg·d) for 7 days. The CUMS model was established by randomly providing the following stress stimuli once every day over a period of 3 weeks: ① fasting for 18 h; ② water deprivation for 18 h; ③ tilting the cage at 45° for 7 h; ④ overnight lighting; ⑤ wet cage for 7 h (200 mL water added to the 100 g pad); ⑥ light and dark cycle reversed; ⑦ white noise (about 100 dB for 2 h). Normal saline intragastric mice [5 mL/(kg·d)] were used as a negative control. The normal control group consisted of mice that were provided with unrestricted access to both food and water.⁶⁶

Subsequently, behavioural tests (sucrose preference test (SPT), forced-swimming test (FST) and TST) and depression-related biomarkers (corticosterone (CORT) and ACTH concentrations in serum; 5-HT, norepinephrine and BDNF concentrations in the prefrontal cortex (PFC) and hippocampus tissue) were examined. Moreover, to understand the abundance of different bacteria in gut microbiota and screen out the predominant bacterial species, metagenomic analysis of feces was carried out. It was also conducted a functional analysis of gut microbiota. Finally, it was analysed the expression of phosphorylated NF- κ B-p65 (p-NF- κ B-p65) and NF- κ B-p65 in the hippocampus and PFC tissue of mice (detection of central inflammatory response).⁶⁶ The acquired results were as follows:

Behavioural tests - The sucrose preference rate (Fig. 4A) of mice with antibiotics-induced depression in groups A, B, and D exhibited a notable reduction when compared to that of normal animals. The sucrose preference rate exhibited a statistically significant decrease in the CUMS group when compared to all other groups. In the FST (Fig. 4B), the immobility time of antibiotics-induced depression mice of groups A, B, D, and E were notably longer than the normal group. There was no significant difference observed in the immobility time between CUMS group and antibiotics-induced depression mice. In the TST (Fig. 4C), the immobility time of antibiotics-induced mice of groups A and B was significantly longer than the normal group. The immobility time exhibited by the CUMS group was found to be considerably greater compared to antibiotics-induced mice of groups D and E. There was no statistically significant distinction observed between the normal group and the NS group in terms of SPT, FST, and TST.⁶⁶

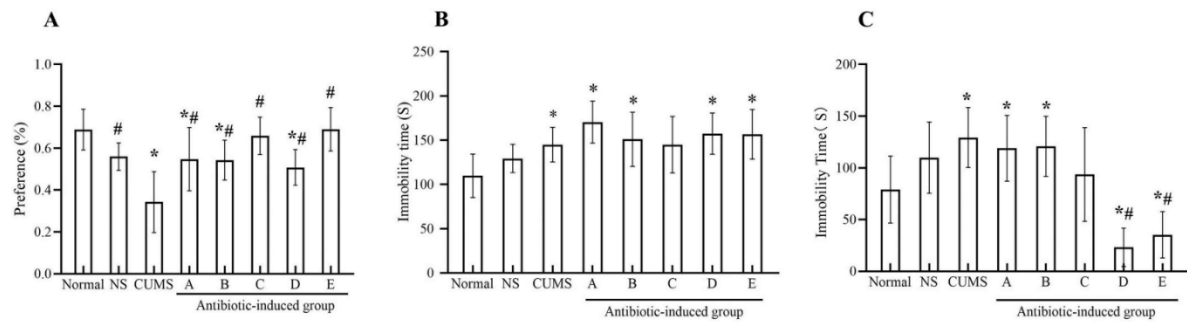


Figure 4 - Behavioural tests of antibiotics-induced mice, CUMS depression mice, NS mice, and normal mice. [Adapted from Fan *et al.* (2022) – “Antibiotics-induced depression in mice via the microbiota-gut-brain axis”].⁶⁶

Expression of depression-related biomarkers - Based on the outcomes of the behavioural assessments, mice in group B (antibiotic-induced depression mice), CUMS depression mice, and normal mice were selected to continue the following experiments. The serum concentrations of ACTH and CORT in antibiotic-induced depression mice and CUMS depression mice were substantially higher than in normal mice. Compared with normal mice, the levels of 5-HT and norepinephrine in PFC and the hippocampus tissue in antibiotics-induced depression mice and CUMS depression mice were significantly decreased. The levels of BDNF in antibiotics-induced depression mice were found to be considerably lower compared to normal mice.⁶⁶

Gut microbiota analysis - There was a shared presence of 86 bacterial flora species across three distinct groupings. A total of 55 species exhibited exclusivity to animals in the group of antibiotics-induced depression, 71 to CUMS depression mice, and 32 to normal mice. Species analysis also revealed that the levels of *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Klebsiella oxytoca*, *K. aerogenes* levels in antibiotics-induced depression mice were higher compared to CUMS depression mice and normal mice and *Muribaculum intestinale* and *Lactobacillus murinus* levels were considerably lower.⁶⁶

Expression of NF-κB in PFC and the hippocampus tissue - The relative expression of p-NF-κB-p65 in PFC and hippocampus tissue of antibiotics-induced depression mice and CUMS depression mice was considerably higher compared to that of normal mice. Additionally, relative expressions of p-NF-κB-p65 in PFC and the hippocampus tissue of antibiotic-induced depression mice were significantly higher than CUMS depression mice and normal mice (Fig.5).⁶⁶

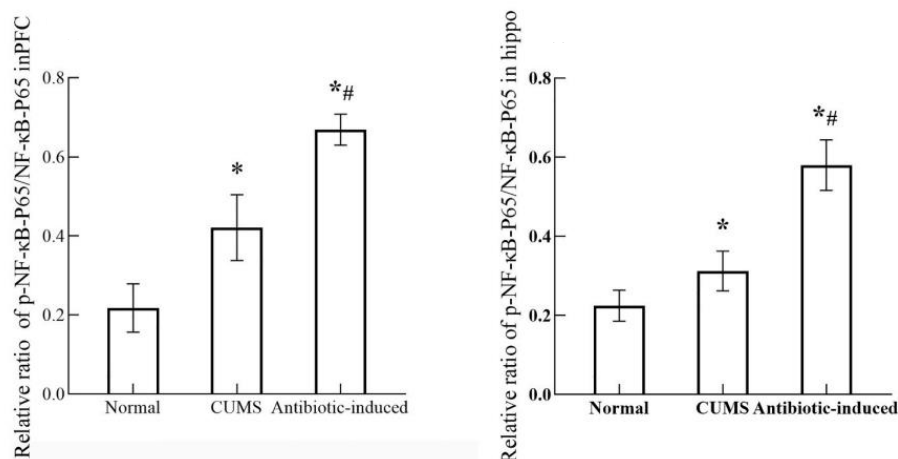


Figure 5 - Expression of p-NF-κB-p65 and NF-κB-p65 in the hippocampus and PFC tissues in the three groups of mice. [Adapted from Fan *et al.* (2022) – “Antibiotics-induced depression in mice via the microbiota-gut-brain axis”].⁶⁶

Animal behavioural tests and levels of neurobiological markers showed that antibiotics could induce depression in mice. Some clinical evidence shows that the occurrence of depression is mainly related to the hyperfunction of HPA axis and that serum ACTH and CORT levels are significantly increased.^{4,5} Additionally, the biological basis of depression is related with a decrease in the concentration of monoamine neurotransmitters in the synaptic space of the CNS, such as norepinephrine and 5-HT.^{4,5} In this study, ACTH, CORT, norepinephrine, 5-HT, and BDNF were detected as depression-related biomarkers to ensure that the depression model was established successfully. When compared with normal mice, norepinephrine and 5-HT concentrations of antibiotic-induced depression mice and CUMS depression mice in the hippocampus and PFC tissues were significantly decreased. On the other hand, there was a notable increase in the concentrations of serum ACTH and CORT. These results demonstrated that antibiotics could induce depression-like behaviour in mice and cause a change in depression-related biomarkers, which is consistent with the results of CUMS depressed mice.⁶⁶

The metagenomic analysis of gut microbiota revealed that the characteristic bacterial species of antibiotics-induced depression mice were *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella aerogenes*.⁶⁶

Depression is frequently accompanied by an inflammatory response in the CNS.⁴ The NF-κB pathway serves as the principal signalling mechanism responsible for the mediation and regulation of inflammatory responses in mammalian cells, and this pathway is activated after phosphorylation of NF-κB-p65. In this study, it was found that relative levels of p-NF-κB-p65 in the hippocampus and PFC of antibiotics-induced mice were significantly higher than in CUMS

depression mice and in normal mice. These results suggest that a central inflammatory response might be a possible mechanism of antibiotic-induced depression. However, it needs further research.⁶⁶

To conclude, in the present investigation it was found that antibiotic mixtures A and B could induce depression-like behaviour in mice, similar to CUMS depression mice.⁶⁶ Thus, we can deduce that specific antibiotic mixture can cause depression-like behaviour and changes in depression-related biomarkers in mice.

5. The Microbiota-Gut-Brain Axis

The MGB axis is composed of the CNS (represented by the brain), the enteric nervous system, and the digestive system. It is a two-way communication between the CNS and the GI tract that influences not just brain activity and behaviour but also a variety of other physiological processes, considering it is involved for example in GI motility, hormone secretion and mucus production (Fig. 6).⁴⁴

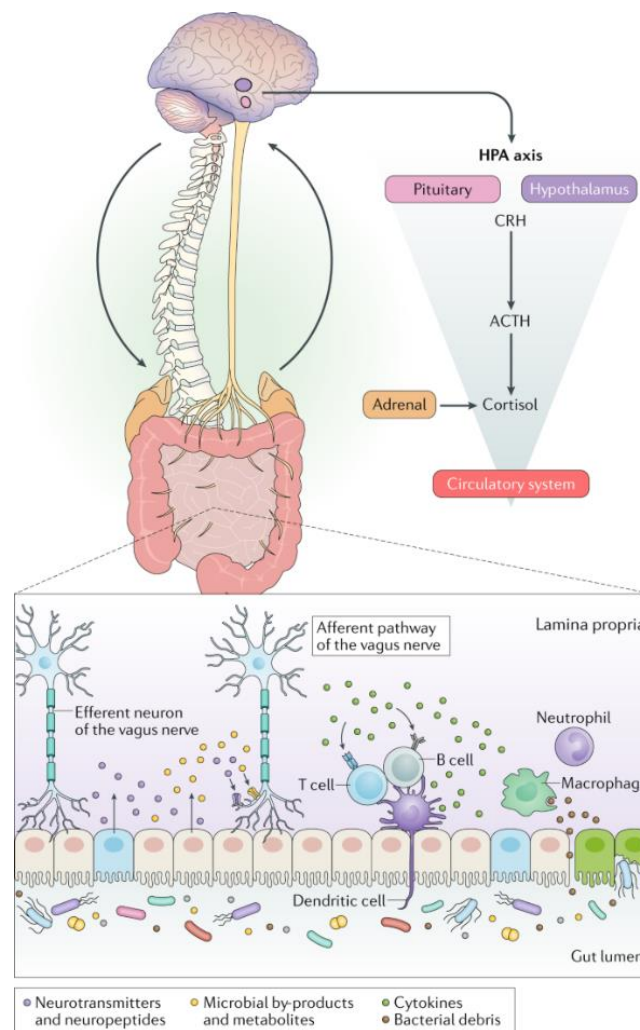


Figure 6 - The microbiota-gut-brain axis. [Adapted from Morais *et al.* (2020) – “The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders”].⁶⁷

5.1. Pathways of the MGB axis

The connection between the gut microbiota and the brain is facilitated by a variety of direct and indirect communication pathways, being a component of a complex physiological network.⁴⁴

5.1.1. Neurologic pathway

The neurologic pathway includes the vagus nerve, the enteric nervous system, and the neurotransmitter activity within the GI tract. Neurologic modulation of afferent sensory nerves directly produces molecules that can act as local neurotransmitters, such as GABA, 5-HT, melatonin, histamine, and acetylcholine. This pathway also produces biologically active forms of catecholamines in the lumen of the intestine.⁴⁴

The vagus nerve, a mainly sensory nerve with some motor fibres, ensures bidirectional communication between the gut microbiota, enteric nervous system, and the brain. Gram-negative bacteria's outer membrane contains a considerable amount of lipopolysaccharide (LPS), which has the ability to release cytokines, which in turn can start pathogenic processes by stimulating the vagus nerve. The increased activity of the vagal nerve during dysbiosis was demonstrated by the c-Fos expression, a marker of vagal nerve neural activity, showing that bacteria can have an influence in neural activity via the vagus nerve.^{44,68}

In addition to modulating the production of host neurotransmitters by modifying the levels of their precursors, the gut microbiota may also synthesise and release neurotransmitters. Bacteria are capable of producing neurotransmitters including GABA, catecholamines, 5-HT, histamine, and potential bioactive neuropeptides. Thus, the induction of dysbiosis by various assaults may perturb the production of CNS neurotransmitters, which may ultimately result in cognitive changes.²

GABA is produced through the conversion of glutamate or glutamic acid to GABA and it is the primary inhibitory neurotransmitter in the CNS, produced efficiently by both host and gut microbiota, specially by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. GABA derived from the gut microbiota may be capable of traversing the blood-brain barrier (BBB) via diffusion or active transport. There is also evidence of expression of a GABA transporter at the BBB, suggesting that gut microbiota-derived GABA may enter the CNS via this transporter, indicating that the gut microbiota is capable of regulating central GABAergic transmission, thereby increasing central levels of this neurotransmitter. Additionally, gut microbiota may directly regulate central GABAergic transmission via the vagus nerve. In fact, disruption of GABA production is associated with mood disorders, such as depression and anxiety.^{1,69,70}

5.1.2. Endocrine pathway

The gut microbiota functions as an endocrine organ, regulating the HPA axis, the central responses to stress, and the activity of enteroendocrine cells through the release of a variety of hormones.^{1,44,71}

Gut microbiota alters nutrient availability and thus influences the release of biologically active peptides from enteroendocrine cells, which in turn can affect the MGB axis. For instance, it is believed that the neuropeptide galanin is involved in a variety of essential neurobiological functions, such as sleep/wake cycle regulation, mood, neurotrophic functions, among others. Galanin stimulates the activity of the central branch of the HPA axis (affecting the release of CRH and ACTH), thereby increasing glucocorticoid secretion from the adrenal cortex.⁷² Moreover, it can directly stimulate cortisol secretion from the adrenal cortex and norepinephrine release from the adrenal medulla, demonstrating its role in the HPA axis.⁷³

Disturbances in the HPA axis are associated with stress responses and the secretion of cortisol, which regulates numerous physiological processes such as immunity, metabolism, and neurodevelopment.⁷⁴

Bacterial populations of the gut can modulate the activity of enteroendocrine cells, which are specialised intestinal cells that produce signalling molecules that may establish a connection between the CNS and other organs. Several hormones, including glucagon-like peptide I, peptide-YY, cholecystokinin, and 5-HT are secreted by these cells. These hormones regulate nutrient absorption, metabolic rate, appetite, and anxious behaviours.⁷⁵

5.1.3. Metabolic pathway

Included in the metabolic pathway are the tryptophan metabolism and the molecular signalling of SCFA.^{2,46}

Food is believed to be one of the mechanisms by which the gut microbiota and the CNS communicate. Tryptophan is an essential amino acid obtained through the diet, that acts as an essential precursor for the production of 5-HT and kynurenine. Once assimilated in the digestive tract, tryptophan traverses the BBB, allowing 5-HT production in the CNS. 5-HT is a neurotransmitter involved in the development of the brain and visceral organs.^{76,77} Many medications used to treat anxiety, depression and other mood disorders target ways to increase the level of 5-HT in the brain. Additionally, a reduction in tryptophan is known to be associated with clinical depression⁷⁸, as well as disturbances in the tryptophan metabolism have been reported in some diseases, including depression.^{79,80} Gut microbiota appear to play an

important role in the bioavailability of tryptophan, since certain bacterial strains can acquire tryptophan from tryptophanase.⁸¹

Gut microbiota also produces SCFAs (including acetic, propionic, and butyric acid) through the metabolism of non-digestible carbohydrates in the diet. Best known to affect the nutrition of enterocytes, they also exert significant hormone-like activity, have immunomodulatory properties, and interact with nerve cells.⁴⁶ Moreover, microbiota derived SCFAs can cross the BBB and have been shown to regulate microglia homeostasis, which is required for suitable brain development and brain tissue homeostasis, and is involved in behaviour modulation.⁸² SCFAs also regulate the secretion of gut peptides from enteroendocrine cells and have been shown to regulate the synthesis of gut-derived 5-HT by enterochromaffin cells, both of which influence the hormonal exchange and communication between the gut and the brain.⁸³ The gut provides approximately 95% of the body's total 5-HT, most of which exists in plasma.

The microbial-derived SCFAs butyric acid and propionic enhance the expression of the gene encoding tyrosine hydroxylase, an enzyme that controls the rate of dopamine and noradrenaline synthesis, and dopamine- β -hydroxylase, an enzyme that converts dopamine to noradrenaline. Propionate also lowers levels of GABA, 5-HT, and dopamine.^{1,2,44,84}

The production of SCFAs has been regarded as a central point in the relationship between the host and the gut microbiota, explaining the correlation between alteration of the flora and increase of frailty in the elderly with the possibility of development of some diseases, namely neurological conditions.^{43,46}

5.1.4. Immune pathway

When there is a GI dysbiosis, the cells can gain access to the CNS and directly induce inflammatory reactions.⁸⁵ The gut microbiota influences inflammation metabolism within the GI tract, primarily through the release of cytokines by the immune system [such as interleukin (IL) 10 e 4 (IL-10 and IL-4)] and other cellular communication mediators, such as interferon-gamma and tumour necrosis factor (TNF), which have the ability to traverse the BBB and alter the physiological function of neurons and glial cells by acting on specific receptors expressed on their surfaces.⁴⁴

Chronic inflammation can cause significant network dysfunction in the brain.⁸⁶ For example, LPS and peptidoglycan are typical inflammation-inducing substances present in the gut microbiota and can cause systemic inflammation. LPS is recognised by the toll-like receptor 4 (TLR-4), widely distributed in CNS monocytes, macrophages and microglia.⁸⁷

The indirect effects of gut microbiota on the innate immune system may lead to alterations in the circulatory levels of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines, which in turn have direct impacts on the brain functions due to their ability to cross the BBB.⁴⁴

6. Evidence of the Relationship Between the Gut Microbiota and Depression

Bidirectional communication occurs between the gut and the brain via the MGB axis. In the last decades, an increasing amount of research exploring the MGB axis has supported the hypothesis that depression is closely related to gut microbiota.^{44,88}

6.1. Depressed patients have different gut microbiota from healthy ones

Clinic studies have demonstrated that, when compared to healthy controls, people with depression have altered gut microbiota patterns.^{88,89} Some research found that both the diversity and richness of the microbiota declined in patients with depression.⁹⁰ At the phylum level, there was an observed increase in the richness of Bacteroidetes and Proteobacteria, whereas the richness of Firmicutes exhibited a decrease. The abundance of Lactobacillus and Bifidobacterium also declined in patients with depression.^{90,91}

Animal studies have also demonstrated the differences in microbiota between animals exhibiting depression symptoms and those in control groups. Several depression models have shown the phenomenon, including the maternal separation model⁹², social disruption model⁹³ and the chronic variable stress model.⁹⁴ Moreover, there is a resemblance between the microbiota of animals exhibiting depressive symptoms and that of individuals diagnosed with depression. Specifically, the prevalence of Bacteroidetes is shown to rise, while the prevalence of Firmicutes and Lactobacillus diminishes.^{92,94}

All of these investigations have suggested a probable association between depression and specific gut microbial characteristics. However, despite the numerous studies conducted on the gut microbiota abnormalities observed in individuals with depression, there remains ongoing debate regarding the definitive distinctions between the gut microbiota of patients and control groups, which is probably correlated with variations in diagnostic criteria, grouping criteria, and methods used to detect faecal microbiota.⁹⁵⁻⁹⁷

6.2. Depressive symptoms can be transmitted following faecal microbiota transplantation

In a study conducted by Zheng *et al.*, the faecal microbiota of individuals diagnosed with depression and those who were deemed healthy were transplanted into germ-free mice. The

results revealed that mice who received the faecal microbiota from sad individuals exhibited a greater manifestation of depressive symptoms, and their microbiota composition differed significantly from that of the mice who received the microbiota from healthy individuals. The observed dissimilarities mirrored the dissimilarities found in the corresponding human donors, suggesting that certain microbiota phenotypes can induce depressive symptoms.⁹⁸

Kelly *et al.* conducted a study wherein they employed a model involving the transplantation of faecal microbiota from individuals diagnosed with depression into microbiota-depleted rats, achieved through the administration of an antibiotic cocktail therapy. The rats who received patients' microbiota exhibited clear signs of depression, including anhedonia, heightened anxiety-like behaviour, and disruptions in tryptophan metabolism. These symptoms closely resembled those observed in the microbiota of the donors.⁹⁹

Both investigations have shown that the transmission of psychological and physiological symptoms associated with depression can occur among different individuals, thereby providing additional evidence supporting the notion that gut microbiota plays a role in regulating psychological states.

6.3. Gut microbiota disturbances increase the susceptibilities of depression

As previously indicated, the administration of antibiotics has been shown to adversely affect the composition and diversity of the microbiota, potentially contributing to an elevated prevalence of depressive symptoms. Antibiotics have been crucial in the field of human anti-infective medicine. However, their impact extends beyond pathogen elimination, as they also have the potential to harm beneficial microbes, disrupt the MGB axis, and contribute to the development of diverse diseases, including mental disorders.¹⁰⁰⁻¹⁰²

Extensive human investigations have demonstrated a positive correlation between the administration of antibiotics for anti-infection treatment and a heightened susceptibility to mental diseases. The risk exhibits both dose-dependent and time-dependent effects, indicating a correlation between the risk and the dosage and duration of antibiotic administration.^{103,104}

Chronic stress, given its influence on the MGB axis, has been found to have a significant impact on cognitive processes and the body's stress response system, as well as, on the composition and functioning of the gut microbiota. Stressful life events are often used in animal depression research since they are important inducements of depressive disorders.¹⁰⁵⁻¹⁰⁸

Diet is one of the most influential factors in the gut microbiota. Numerous harmful dietary patterns, such as the refined-food diet and industrially processed food, have been found to adversely impact the composition of the gut microbiota and heighten the vulnerability to

depression. These diets are characterised by high intakes of saturated fat, sugar, and food additives. The potential impacts of an inadequate diet are likely intricately linked to the disruption of the MGB axis that it triggers.^{109,110}

6.4. Gut microbiota restoration alleviates depression

As has been said, the imbalance of the microbiota, known as dysbiosis, has been implicated in the development of some physiological and psychiatric disorders.^{111,112} However, the restoration of microbiota has shown promising results in ameliorating these conditions. Some successful strategies exist for restoring normal microbiota, including the use of probiotics, prebiotics and a healthy diet.^{110, 113-115}

Probiotics are defined as “live microorganisms that are intended to have health benefits when consumed or applied to the body”.¹¹⁵ Probiotics are known to encompass a diverse array of microorganisms. The predominant microorganisms are bacterial species classified within the taxonomic groupings *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. In addition to bacteria, other microorganisms, such as yeasts like *Saccharomyces boulardii*, can also be employed as probiotics.¹¹⁵ The advantageous impacts of probiotics extend beyond the gut and encompass the entire MGB axis. Researchers call these probiotics psychobiotics to emphasise their capabilities to improve behaviour and the mind.¹¹⁶ Both clinical and animal research studies have demonstrated that psychobiotic supplementation effectively mitigates symptoms of depression, yielding comparable outcomes to conventional antidepressant treatments. As evidenced by double-blind, randomised, placebo-controlled studies, psychobiotic therapies were found to alleviate depressive and anxious symptoms as well as improve cognition and metabolism in patients.¹¹⁷

The term "prebiotic" is described as a substrate that is specifically utilised by microorganisms within a host, resulting in a positive impact on health. Prebiotics possess the capacity to not only modulate the composition and activity of the gut microbiota but also exhibit potential for enhancing behavioural and cognitive functions, hence functioning as psychobiotics. These advantages are likely attained via the enhancement of the MGB axis's functionality. Among the several types of prebiotics, the most popular kinds are fructose-oligosaccharide, galactooligosaccharide and omega-3 fatty acids.^{113,118-120}

Additionally, healthy dietary patterns, characterised by a high content of dietary fibre, unsaturated fatty acids, and fermented foods and low in refined carbohydrates, sugar, and food additives, have the potential to enhance the growth and development of beneficial

microorganisms, improving the diversity and stability of the gut microbiota as well as overall health and well-being. This effect is likely mediated by MGB axis.^{110, 113, 121, 122}

7. Conclusions

The pathogenesis of depression is very complex and not fully understood yet. The focus of depression research has transferred from the brain to other systems, and finally to the MGB axis. In fact, cumulative evidence shows a linkage between gut microbiota patterns and depression through the MGB axis.¹²³

The gut microbiota exhibits a strong association with the overall well-being and pathological conditions of the host organism. Its disturbance is associated with a range of diseases, such as depression. The gut microbiota can produce neuroactive compounds, including neurotransmitters, such as 5-HT, regulates various central processes and the production of microbial metabolites and immune factors through the vagus nerve (MGB axis), thereby triggering changes in neurotransmission, inducing neuroinflammation and causing behavioural changes.

Antibiotic use can have several negative effects on the gut microbiota, including reduced species diversity, altered metabolic activity, and the selection of antibiotic-resistant organisms. There is also evidence that exposure to antibiotics can lead to GI, immunologic, and neurocognitive conditions, namely depression. Considering that the incidence of depression is increasing annually, recognising the relationship between antibiotics, gut microbiota and depression is of great significance based on the standardised use of these drugs and the need for effective treatments for this disease.

In conclusion, there have been reports of differences in the microbiota community at different taxonomic levels between depressed and non-depressed study participants. These differences were probably caused by many things, such as antibiotic use, stress, unhealthy eating habits, genetic susceptibility, etc. Many microbiota recovery methods have been established, including supplementation with psychobiotics, prebiotics and diet regulation.

Nevertheless, even though these results are a useful starting point for understanding how the gut microbiota can influence the development of depression, additional research is necessary to clarify the observed differences¹²⁴ and allow the translation of the findings towards innovative clinical strategies that may improve treatment outcomes in people with depression.

References

1. CRYAN JF, O'RIORDAN KJ, COWAN CSM, *et al.* - **The Microbiota-Gut-Brain Axis.** *Physiol Rev.* (2019); 99(4):1877-2013.
2. DINAN TG, CRYAN JF. - **Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration.** *J Physiol.* (2017); 595(2):489-503.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Depressive disorder (depression).** [Accessed on July 1, 2023]. Available on the internet: [http:// www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/depression](http://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/depression).
4. KRISHNAN V, NESTLER EJ. - **The molecular neurobiology of depression.** *Nature.* (2008); 455(7215):894-902.
5. MALETIC V, ROBINSON M, OAKES T, IYENGAR S, BALL SG, RUSSELL J. - **Neurobiology of depression: an integrated view of key findings.** *Int J Clin Pract.* (2007); 61(12):2030-2040.
6. HAYASHI T, SU TP. - **An update on the development of drugs for neuropsychiatric disorders: focusing on the sigma 1 receptor ligand.** *Expert Opin Ther Targets.* (2008); 12(1):45-58.
7. FROKJAER VG, VINBERG M, ERRITZOE D, *et al.* - **High familial risk for mood disorder is associated with low dorsolateral prefrontal cortex serotonin transporter binding.** *Neuroimage.* (2009); 46(2):360-366.
8. CLEVELAND CLINIC. – **Serotonin: What Is It, Function & Levels.** [Accessed on September 4, 2023]. Available on the internet: <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/22572-serotonin>.
9. FRODL T, REINHOLD E, KOUTSOULERIS N, *et al.* - **Childhood stress, serotonin transporter gene and brain structures in major depression.** *Neuropsychopharmacology.* (2010); 35(6):1383-1390.
10. STERNER EY, KALYNCHUK LE. - **Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: relevance to depression.** *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2010); 34(5):777-790.
11. BAO AM, SWAAB DF. - **Corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin in depression focus on the human postmortem hypothalamus.** *Vitam Horm.* (2010); 82:339-365.

12. CLAES S. - **Glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression.** *Ann N Y Acad Sci.* (2009); 1179:216-228.
13. MANN JJ, CURRIER DM. - **Stress, genetics and epigenetic effects on the neurobiology of suicidal behavior and depression.** *Eur Psychiatry.* (2010); 25(5):268-271.
14. GOURLEY SL, WU FJ, KIRALY DD, *et al.* - **Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression.** *Biol Psychiatry.* (2008); 63(4):353-359.
15. RIDDER S, CHOURBAJI S, HELLWEG R, *et al.* - **Mice with genetically altered glucocorticoid receptor expression show altered sensitivity for stress-induced depressive reactions.** *J Neurosci.* (2005); 25(26):6243-6250.
16. HEIM C, NEWPORT DJ, HEIT S, *et al.* - **Pituitary-adrenal and autonomic responses to stress in women after sexual and physical abuse in childhood.** *JAMA.* (2000); 284(5):592-597.
17. TYRKA AR, WIER L, PRICE LH, *et al.* - **Childhood parental loss and adult hypothalamic-pituitary-adrenal function.** *Biol Psychiatry.* (2008); 63(12):1147-1154.
18. PLUSQUELLEC PIERRICH, LANOIX DAVE. - **Adverse effects of pollution on mental health: the stress hypothesis.** *Research Gate.* (2013).
19. SHALEV I, LERER E, ISRAEL S, *et al.* - **BDNF Val66Met polymorphism is associated with HPA axis reactivity to psychological stress characterized by genotype and gender interactions.** *Psychoneuroendocrinology.* (2009); 34(3):382-388.
20. TRAJKOVSKA V, VINBERG M, AZNAR S, KNUDSEN GM, KESSING LV. - **Whole blood BDNF levels in healthy twins discordant for affective disorder: association to life events and neuroticism.** *J Affect Disord.* (2008); 108(1-2):165-169.
21. ELENKOV IJ. - **Neurohormonal-cytokine interactions: implications for inflammation, common human diseases and well-being.** *Neurochem Int.* (2008); 52(1-2):40-51.
22. MADEIRA C, VARGAS-LOPES C, BRANDÃO CO, *et al.* - **Elevated Glutamate and Glutamine Levels in the Cerebrospinal Fluid of Patients With Probable Alzheimer's Disease and Depression.** *Front Psychiatry.* (2018); 9:561.

23. PICCINNI A, MARAZZITI D, CATENA M, *et al.* - **Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients during 1 year of antidepressant treatments.** *J Affect Disord.* (2008); 105(1-3):279-283.
24. TALIAZ D, STALL N, DAR DE, ZANGEN A. - **Knockdown of brain-derived neurotrophic factor in specific brain sites precipitates behaviors associated with depression and reduces neurogenesis.** *Mol Psychiatry.* (2010); 15(1):80-92.
25. SHIMIZU E, HASHIMOTO K, OKAMURA N, *et al.* - **Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants.** *Biol Psychiatry.* (2003); 54(1):70-75.
26. RAKOFSKY JJ, HOLTZHEIMER PE, NEMEROFF CB. - **Emerging targets for antidepressant therapies.** *Curr Opin Chem Biol.* (2009); 13(3):291-302.
27. HASHIMOTO K. - **Emerging role of glutamate in the pathophysiology of major depressive disorder.** *Brain Res Rev.* (2009); 61(2):105-123.
28. BLOSS EB, HUNTER RG. - **Hippocampal kainate receptors.** *Vitam Horm.* (2010); 82:167-184.
29. UEZATO A, MEADOR-WOODRUFF JH, MCCULLUMSMITH RE. - **Vesicular glutamate transporter mRNA expression in the medial temporal lobe in major depressive disorder, bipolar disorder, and schizophrenia.** *Bipolar Disord.* (2009); 11(7):711-725.
30. BELLOCCHIO EE, REIMER RJ, FREMEAU RT Jr, EDWARDS RH. - **Uptake of glutamate into synaptic vesicles by an inorganic phosphate transporter.** *Science.* (2000); 289(5481):957-960.
31. GRAS C, HERZOG E, BELLENCHI GC, *et al.* - **A third vesicular glutamate transporter expressed by cholinergic and serotonergic neurons.** *J Neurosci.* (2002); 22(13):5442-5451.
32. CHING KH, BURBELO PD, CARLSON PJ, DREVETS WC, IADAROLA MJ. - **High levels of Anti-GAD65 and Anti-Ro52 autoantibodies in a patient with major depressive disorder showing psychomotor disturbance.** *J Neuroimmunol.* (2010); 222(1-2):87-89.
33. DOMSCHKE K, DANNLOWSKI U, OHRMANN P, *et al.* - **Cannabinoid receptor 1 (CNRI) gene: impact on antidepressant treatment response and emotion processing in major depression.** *Eur Neuropsychopharmacol.* (2008); 18(10):751-759.

34. MIKULSKA J, JUSZCZYK G, GAWROŃSKA-GRZYWACZ M, HERBET M. - **HPA Axis in the Pathomechanism of Depression and Schizophrenia: New Therapeutic Strategies Based on Its Participation.** *Brain Sci.* (2021); 11(10):1298.
35. NANDAM LS, BRAZEL M, ZHOU M, JHAVERI DJ. - **Cortisol and Major Depressive Disorder-Translating Findings From Humans to Animal Models and Back.** *Front Psychiatry.* (2020); 10:974.
36. SWAAB DF, BAO AM, LUCASSEN PJ. - **The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration.** *Ageing Res Rev.* (2005); 4(2):141-194.
37. American Psychiatric Association – **What Is Depression?** [Accessed on July 1, 2023]. Available on the internet: <https://www.psychiatry.org/patients-families/depression/what-is-depression>.
38. AGIUS M, BONNICI H. - **Antidepressants in use in clinical practice.** *Psychiatr Danub.* (2017); 29(Suppl 3):667-671.
39. NATIONAL HEALTH SERVICES (NHS). Overview – **Antidepressants.** [Accessed on July 1, 2023]. Available on the internet: <https://www.nhs.uk/mental-health/talking-therapies-medicine-treatments/medicines-and-psychiatry/antidepressants/overview/>.
40. SHEFFLER ZM, PATEL P, ABDIJADID S. - **Antidepressants.** In: StatPearls [Internet], 2023. Available on the internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538182/>.
41. THURSBY, E., & JUGE, N. - **Introduction to the human gut microbiota.** *The Biochemical journal.* (2017); 474(11), 1823–1836.
42. JANDHYALA, S. M.; TALUKDAR, R.; SUBRAMANYAM, C.; VUYYURU, H.; SASIKALA, M. & NAGESHWAR REDDY, D. - **Role of the normal gut microbiota.** *World journal of gastroenterology.* (2015); 21(29), 8787–8803.
43. VALDES, A. M., WALTER, J., SEGAL, E., & SPECTOR, T. D. - **Role of the gut microbiota in nutrition and health.** *BMJ (Clinical research ed.).* (2018); 361, k2179.
44. KIM YK, Shin C. - **The Microbiota-Gut-Brain Axis in Neuropsychiatric Disorders: Pathophysiological Mechanisms and Novel Treatments.** *Curr Neuropharmacol.* (2018); 16(5):559-573.
45. O'TOOLE, P. W., & CLAEISSON, M. J. - **Gut microbiota: Changes throughout the lifespan from infancy to elderly.** In *International Dairy Journal.* (2010) (Vol. 20, Issue 4, pp. 281–291).

46. SILVA, Y. P., BERNARDI, A., & FROZZA, R. L. - **The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication.** In *Frontiers in Endocrinology*. (2020) (Vol. 11). Frontiers Media S.A.
47. RINNINELLA E, CINTONI M, RAOUL P, *et al.* - **Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition.** *Nutrients*. (2019); 11(10):2393.
48. MANGIOLA F, NICOLETTI A, GASBARRINI A, PONZIANI FR. - **Gut microbiota and aging.** *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. (2018); 22(21):7404-7413.
49. ADAK, A., & KHAN, M. R. - **An insight into gut microbiota and its functionalities.** *Cellular and molecular life sciences*. (2019); 76(3), 473–493.
50. KATZ L, BALTZ RH. - **Natural product discovery: past, present, and future.** *J Ind Microbiol Biotechnol*. (2016); 43(2-3):155-176.
51. HUTCHINGS, M. I., TRUMAN, A. W., & WILKINSON, B. - **Antibiotics: past, present and future.** *Current opinion in microbiology*. (2019); 51, 72–80.
52. WILSON DN. - **Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance.** *Nat Rev Microbiol*. (2014); 12(1):35-48.
53. DBAIBO GS. - **Old and new targets of antibacterial therapy.** *J Med Liban*. (2000); 48(4):177-181.
54. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) - **Antimicrobial resistance.** *Global Report on Surveillance*. [Accessed on April 26, 2023]. Available on the internet: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564748>
55. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) - **About Antibiotic Resistance.** [Accessed on April 26, 2023]. Available on the internet: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>
56. PRESCOTT J. F. - **The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology.** *Veterinary microbiology*. (2014); 171(3-4), 273–278.
57. YUSUFF ADEBAYO ADEBISI, DAVID BAMIDELE OLAWADE, AZEEZAT FAJEMBOLA. - **The hidden mental health crisis of antimicrobial resistance.** *The Lancet Psychiatry*. (2023); Volume 10, Issue 8, pages e21-e22.

58. MANSOUR O, AL-KAYALI R. - **Community Pharmacists' Role in Controlling Bacterial Antibiotic Resistance in Aleppo, Syria.** *Iran J Pharm Res.* (2017); 16(4):1612-1620.
59. U.S.Pharmacist – **The Pharmacist's Role in Preventing Antibiotic Resistance.** [Accessed on April 26, 2023]. Available on the internet: <https://www.uspharmacist.com/article/the-pharmacists-role-in-preventing-antibiotic-resistance>.
60. BECATTINI S, TAUR Y, PAMER EG. - **Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease.** *Trends Mol Med.* (2016); 22(6):458-478.
61. IANIRO G, TILG H, GASBARRINI A. - **Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: between good and evil.** *Gut.* (2016); 65(11):1906-1915.
62. RAMIREZ J, GUARNER F, BUSTOS FERNANDEZ L, MARUY A, SDEPANIAN VL, COHEN H. - **Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota.** *Front Cell Infect Microbiol.* (2020); 10:572912.
63. GE X, DING C, ZHAO W, et al. - **Antibiotics-induced depletion of mice microbiota induces changes in host serotonin biosynthesis and intestinal motility.** *J Transl Med.* (2017); 15(1):13.
64. NG KM, FERREYRA JA, HIGGINBOTTOM SK, et al. - **Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens.** *Nature.* (2013); 502(7469):96-99.
65. WANG P, TU K, CAO P, et al. - **Antibiotics-induced intestinal dysbacteriosis caused behavioral alternations and neuronal activation in different brain regions in mice.** *Mol Brain.* (2021); 14(1):49.
66. FAN X, DENG H, QIU J, JI H, SHEN X. - **Antibiotics-induced depression in mice via the microbiota-gut-brain axis.** *J Affect Disord.* (2022); 318:152-158.
67. MORAIS L.H., SCHREIBER H.L., MAZMANIAN, S.K. - **The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders.** *Nature Rev Microbiol.* (2021); 19, 241–255.
68. MAYER EA, SAVIDGE T, SHULMAN RJ. - **Brain-gut microbiome interactions and functional bowel disorders.** *Gastroenterology.* (2014); 146(6):1500-1512.
69. MANGIOLA F, IANIRO G, FRANCESCHI F, FAGIUOLI S, GASBARRINI G, GASBARRINI A. - **Gut microbiota in autism and mood disorders.** *World J Gastroenterol.* (2016); 22(1):361-368.

70. SHERWIN E, SANDHU KV, DINAN TG, CRYAN JF. - **May the Force Be With You: The Light and Dark Sides of the Microbiota-Gut-Brain Axis in Neuropsychiatry.** *CNS Drugs.* (2016); 30(11):1019-1041.
71. VINDEGAARD N, SPEYER H, NORDENTOFT M, RASMUSSEN S, BENROS ME. - **Gut microbial changes of patients with psychotic and affective disorders: A systematic review.** *Schizophr Res.* (2021); 234:1-10.
72. AZZAM I, GILAD S, LIMOR R, STERN N, GREENMAN Y. - **Ghrelin stimulation by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation depends on increasing cortisol levels.** *Endocr Connect.* (2017); 6(8):847-855.
73. HÖKFELT T, TATEMOTO K. - **Galanin: 25 years with a multitalented neuropeptide.** *Cell Mol Life Sci.* (2008); 65(12):1793-1795.
74. ZUNSZAIN PA, ANACKER C, CATTANEO A, CARVALHO LA, PARIANTE CM. - **Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression.** *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2011); 35(3):722-729.
75. MARRONE MC, COCCURELLO R. - **Dietary Fatty Acids and Microbiota-Brain Communication in Neuropsychiatric Diseases.** *Biomolecules.* (2019); 10(1):12.
76. O'MAHONY SM, CLARKE G, BORRE YE, DINAN TG, CRYAN JF. - **Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis.** *Behav Brain Res.* (2015); 277:32-48.
77. CORREIA AS, VALE N. - **Tryptophan Metabolism in Depression: A Narrative Review with a Focus on Serotonin and Kynurenine Pathways.** *Int J Mol Sci.* (2022); 23(15):8493.
78. OGAWA S, FUJII T, KOGA N, *et al.* - **Plasma L-tryptophan concentration in major depressive disorder: new data and meta-analysis.** *J Clin Psychiatry.* (2014); 75(9): e906-e915.
79. DANTZER R, O'CONNOR JC, FREUND GG, JOHNSON RW, KELLEY KW. - **From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain.** *Nat Rev Neurosci.* (2008); 9(1):46-56.
80. SCHWARCZ R, BRUNO JP, MUCHOWSKI PJ, WU HQ. - **Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology.** *Nat Rev Neurosci.* (2012); 13(7):465-477.

81. KAUR H, BOSE C, MANDE SS. - **Tryptophan Metabolism by Gut Microbiome and Gut-Brain-Axis: An *in silico* Analysis.** *Front Neurosci.* (2019); 13:1365.
82. MAYER EA, TILLISCH K, GUPTA A. - **Gut/brain axis and the microbiota.** *J Clin Invest.* (2015); 125(3):926-938.
83. WANG Y, KASPER LH. - **The role of microbiome in central nervous system disorders.** *Brain Behav Immun.* (2014); 38:1-12.
84. NANKOVA BB, AGARWAL R, MACFABE DF, LA GAMMA EF. - **Enteric bacterial metabolites propionic and butyric acid modulate gene expression, including CREB-dependent catecholaminergic neurotransmission, in PC12 cells--possible relevance to autism spectrum disorders.** *PLoS One.* (2014); 9(8): e103740.
85. DAULATZAI, M.A. - **Chronic functional bowel syndrome enhances gutbrain axis dysfunction, neuroinflammation, cognitive impairment, and vulnerability to dementia.** *Neurochem. Res.* (2014); 39(4), 624-644.
86. NOVELLINO, F., SACCÀ, V., DONATO, A., ZAFFINO, P., SPADEA, M. F., VISMARA, M., DONATO, G. - **Innate Immunity: A Common Denominator between Neurodegenerative and Neuropsychiatric Diseases.** *International Journal of Molecular Sciences.* (2020); 21(3), 1115.
87. KELLY, J.R.; KENNEDY, P.J.; CRYAN, J.F.; DINAN, T.G.; CLARKE, G.; HYLAND, N.P. - **Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders.** *Front. Cell. Neurosci.* (2015); 9, 392.
88. LIANG S, WU X, HU X, WANG T, JIN F. - **Recognizing Depression from the Microbiota-Gut-Brain Axis.** *Int J Mol Sci.* (2018);19(6):1592.
89. BARANDOUZI ZA, STARKWEATHER AR, HENDERSON WA, GYAMFI A, CONG XS. - **Altered Composition of Gut Microbiota in Depression: A Systematic Review.** *Front Psychiatry.* (2020); 11:541.
90. JIANG H, LING Z, ZHANG Y, *et al.* - **Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder.** *Brain Behav Immun.* (2015); 48:186-194.
91. AIZAWA E, TSUJI H, ASAHARA T, *et al.* - **Possible association of Bifidobacterium and Lactobacillus in the gut microbiota of patients with major depressive disorder.** *J Affect Disord.* (2016); 202:254-257.

92. O'MAHONY SM, MARCHESI JR, SCULLY P, *et al.* - **Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses.** *Biol Psychiatry.* (2009); 65(3):263-267.
93. BHARWANI A, MIAN MF, SURETTE MG, BIENENSTOCK J, FORSYTHE P. - **Oral treatment with *Lactobacillus rhamnosus* attenuates behavioural deficits and immune changes in chronic social stress.** *BMC Med.* (2017); 15(1):7.
94. PARK AJ, COLLINS J, BLENNERHASSETT PA, *et al.* - **Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression.** *Neurogastroenterol Motil.* (2013); 25(9):733-e575.
95. NASERIBAFROUEI A, HESTAD K, AVERSHINA E, *et al.* - **Correlation between the human fecal microbiota and depression.** *Neurogastroenterol Motil.* (2014); 26(8):1155-1162.
96. ZHENG P, ZENG B, ZHOU C, *et al.* - **Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism.** *Mol Psychiatry.* (2016); 21(6):786-796.
97. LIN P, DING B, FENG C, *et al.* - ***Prevotella* and *Klebsiella* proportions in fecal microbial communities are potential characteristic parameters for patients with major depressive disorder.** *J Affect Disord.* (2017); 207: 300-304.
98. ZHENG P, ZENG B, ZHOU C, *et al.* - **Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism.** *Mol Psychiatry.* (2016); 21(6):786-796.
99. KELLY JR, BORRE Y, O' BRIEN C, *et al.* - **Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat.** *J Psychiatr Res.* (2016); 82:109-118.
100. FRÖHLICH EE, FARZI A, MAYERHOFER R, *et al.* - **Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: Analysis of gut microbiota-brain communication.** *Brain Behav Immun.* (2016); 56:140-155.
101. BERCIK P, COLLINS SM. - **The effects of inflammation, infection and antibiotics on the microbiota-gut-brain axis.** *Adv Exp Med Biol.* (2014); 817:279-289.
102. WANG T, HU X, LIANG S, *et al.* - ***Lactobacillus fermentum* NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats.** *Benef Microbes.* (2015); 6(5):707-717.

103. LURIE I, YANG YX, HAYNES K, MAMTANI R, BOURSI B. - **Antibiotic exposure and the risk for depression, anxiety, or psychosis: a nested case-control study.** *J Clin Psychiatry.* (2015); 76(11):1522-1528.
104. KÖHLER O, PETERSEN L, MORS O, *et al.* - **Infections and exposure to anti-infective agents and the risk of severe mental disorders: a nationwide study.** *Acta Psychiatr Scand.* (2017); 135(2):97-105.
105. MARIN IA, GOERTZ JE, REN T, *et al.* - **Microbiota alteration is associated with the development of stress-induced despair behavior.** *Sci Rep.* (2017); 7:43859.
106. DINAN TG, CRYAN JF. - **Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology.** *Psychoneuroendocrinology.* (2012); 37(9):1369-1378.
107. GALLEY JD, NELSON MC, YU Z, *et al.* - **Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota.** *BMC Microbiol.* (2014); 14:189.
108. GUR TL, WORLY BL, BAILEY MT. - **Stress and the commensal microbiota: importance in parturition and infant neurodevelopment.** *Front Psychiatry.* (2015); 6:5.
109. SONNENBURG ED, SMITS SA, TIKHONOV M, HIGGINBOTTOM SK, WINGREEN NS, SONNENBURG JL. - **Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations.** *Nature.* (2016); 529(7585):212-215.
110. SANDHU KV, SHERWIN E, SCHELLEKENS H, STANTON C, DINAN TG, CRYAN JF. - **Feeding the microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry.** *Transl Res.* (2017); 179:223-244.
111. KENNEDY, P.J.; MURPHY, A.B.; CRYAN, J.F.; ROSS, P.R.; DINAN, T.G.; STANTON, C. - **Microbiome in Brain Function and Mental Health.** *Trends Food Sci. Technol.* (2016); 57, 289–301.
112. RIEDER, R.; WISNIEWSKI, P.J.; ALDERMAN, B.L.; CAMPBELL, S.C. - **Microbes and Mental Health: A Review.** *Brain Behav. Immun.* (2017); 66, 9–17.
113. LIU, X.; CAO, S.; ZHANG, X. - **Modulation of Gut Microbiota-Brain Axis by Probiotics, Prebiotics, and Diet.** *J. Agric. Food Chem.* (2015); 63, 7885–7895.

114. CAMMAROTA, G.; IANIRO, G.; BIBBO, S.; GASBARRINI, A. - **Gut Microbiota Modulation: Probiotics, Antibiotics or Fecal Microbiota Transplantation?** *Intern. Emerg. Med.* (2014); 9, 365–373.
115. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) – **Probiotics: What You Need To Know.** [Accessed on August 16, 2023]. Available on the internet: <https://www.nccih.nih.gov/health/probiotics-what-you-need-to-know>.
116. CHENG LH, LIU YW, WU CC, WANG S, TSAI YC. - **Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders.** *J Food Drug Anal.* (2019); 27(3):632-648.
117. AKKASHEH, G.; KASHANI-POOR, Z.; TAJABADI-EBRAHIMI, M.; JAFARI, P.; AKBARI, H.; TAGHIZADEH, M.; MEMARZADEH, M.R.; ASEMI, Z.; ESMAILZADEH, A. - **Clinical and Metabolic Response to Probiotic Administration in Patients with Major Depressive Disorder: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial.** *Nutrition* (2016); 32, 315–320.
118. GIBSON, G.R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M.E.; PRESCOTT, S.L.; REIMER, R.A.; SALMINEN, S.J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K.S.; CANI, P.D.; *et al.* - **Expert Consensus Document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (Isapp) Consensus Statement on the Definition and Scope of Prebiotics.** *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* (2017); 14, 491–502.
119. SCHMIDT, K.; COWEN, P.J.; HARMER, C.J.; TZORTZIS, G.; ERRINGTON, S.; BURNET, P.W.J. - **Prebiotic Intake Reduces the Waking Cortisol Response and Alters Emotional Bias in Healthy Volunteers.** *Psychopharmacology.* (2015); 232, 1793–1801.
120. ROBERTSON, R.C.; SEIRA ORIACH, C.; MURPHY, K.; MOLONEY, G.M.; CRYAN, J.F.; DINAN, T.G.; PAUL ROSS, R.; STANTON, C. - **Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Critically Regulate Behaviour and Gut Microbiota Development in Adolescence and Adulthood.** *Brain Behav. Immun.* (2017); 59, 21–37.
121. DASH, S.; CLARKE, G.; BERK, M.; JACKA, F.N. - **The Gut Microbiome and Diet in Psychiatry: Focus on Depression.** *Curr. Opin. Psychiatry* (2015); 28, 1–6.
122. ORIACH, C.S.; ROBERTSON, R.C.; STANTON, C.; CRYAN, J.F.; DINAN, T.G. - **Food for Thought: The Role of Nutrition in the Microbiota-Gut-Brain Axis.** *Clin. Nutr. Exp.* (2016); 6, 25–38.

123. CHANG L, WEI Y, HASHIMOTO K. - **Brain-gut-microbiota axis in depression: A historical overview and future directions.** *Brain Res Bull.* (2022); 182:44-56.
124. BOSCH JA, NIEUWDORP M, ZWINDERMAN AH, *et al.* - **The gut microbiota and depressive symptoms across ethnic groups.** *Nat Commun.* (2022); 13(1):7129.

Annex I

Table I - Principal antidepressants used in the treatment of depression.

Class of antidepressant	Mechanism of action	Examples
Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs)	Inhibit serotonin transporter at the presynaptic axon terminal, increasing the amount of 5-HT in the synaptic cleft.	Fluoxetine, sertraline, escitalopram, paroxetine
Serotonin - Norepinephrine Reuptake Inhibitors (SNRIs)	Inhibit the reuptake of both 5-HT and norepinephrine, by blocking reuptake transporters, increasing their amount in the synaptic cleft.	Duloxetine, venlafaxine
Atypical antidepressants	<p><u>Agomelatine</u> - Melatonergic agonist (MT1 and MT2 receptors) and a 5-HT_{2C} antagonist.</p> <p><u>Bupropion</u> - Selective inhibitor of the neuronal recapture of catecholamines (norepinephrine and dopamine).</p> <p><u>Mirtazapine</u> - Antagonism of 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} and 5-HT₃ receptors, block α_2 receptors, enhancing noradrenergic and serotonergic neurotransmission.</p>	Agomelatine, bupropion, mirtazapine
Serotonin Modulators	Act by altering the activity of various post-synaptic serotonin receptors in addition to inhibiting the reuptake of serotonin.	Trazodone, vortioxetine
Tricyclic Antidepressants (TCA)	Block the reuptake of 5-HT and norepinephrine, act as antagonists on post-synaptic cholinergic (α_1 and α_2), muscarinic, and histaminergic receptors, enhancing neurotransmission.	Amitriptyline, clomipramine, nortriptyline
Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs)	Block MAO enzyme, inhibiting the breakdown of 5-HT and other neurotransmitters, increasing their levels.	Isocarboxazid, tranylcypromine, phenelzine, moclobemide

Abbreviations: 5-HT- Serotonin; MAOIs - Monoamine Oxidase Inhibitors; SNRIs – Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors; SSRIs - Selective Serotonin Reuptake Inhibitors; TCA - Tricyclic Antidepressants.