



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Mariana Fonseca Constantino

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Maria João Trabulo e da Dra. Sofia Botelho Moniz e Monografia intitulada “O Papel da Microbiota Intestinal Infantil nas Alergias Alimentares” sob a orientação da Professora Doutora Sara Margarida dos Santos Domingues, 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 Fonseca Constantino

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Maria João Trabulo e da Dra. Sofia Botelho Moniz e Monografia intitulada “O Papel da Microbiota Intestinal Infantil nas Alergias Alimentares” sob a orientação da Professora Doutora Sara Margarida dos Santos Domingues, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Mariana Fonseca Constantino, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018300009, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Papel da Microbiota Intestinal Infantil nas Alergias Alimentares” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 2 de setembro de 2023.

Mariana Fonseca Constantino

(Mariana Fonseca Constantino)

## **Agradecimentos**

Termina assim mais uma fase da minha vida, o culminar de 5 anos de muito esforço, dedicação, trabalho e resiliência que marcaram o meu percurso académico. Irei, com certeza, relembrar com saudade estes anos intensos, que me fizeram crescer tanto a nível profissional como a nível pessoal. Assim, resta-me agradecer a todos aqueles que, de alguma forma, marcaram e fizeram parte deste belo capítulo da minha vida:

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, pelas palavras de conforto nos momentos difíceis e, sobretudo, por me permitirem realizar um dos meus sonhos.

Aos meus avós, por todo o amor, carinho e por acreditarem sempre que eu seria capaz.

À avó Maria, ao avô Zé e à avozinha, as três maiores e mais brilhantes estrelas do céu. Onde quer que estejam, sei que sempre me guiaram e iluminaram para o caminho certo. Sei que estariam orgulhosos de mim e, por isso, esta conquista também é vossa!

Ao Diogo, por toda a paciência, amizade, amor e por nunca me ter deixado desistir.

À Mariana, por tudo o que já passamos e por festejar as minhas conquistas como se fossem as dela. Às amigas de sempre, Inês Santos, Inês Oliveira e Joana, pela amizade, companheirismo e pelas palavras de apoio.

Às novas amigadas que Coimbra me deu, em especial à Luana, Marisa, Ana e Leandro, por terem tornado estes anos inesquecíveis.

À minha madrinha Diana, por toda a ajuda incansável, por todos os conselhos e pela amizade.

À minha afilhada Matilde, a minha eterna caloirinha, por todo o carinho e confiança.

À minha orientadora, a Professora Doutora Sara Domingues, pela constante disponibilidade, profissionalismo, apoio e excelente orientação na elaboração desta monografia.

A toda a equipa da Farmácia Santo António, por todos os ensinamentos, pela partilha de experiências e por todo o carinho.

A toda a equipa do Laboratório Unilabs, por me fazerem sentir em casa e pela confiança depositada ao longo de todo o estágio.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por ter sido casa nos últimos 5 anos e pela formação de excelência.

**A cada um de vocês, o meu sincero Obrigada!**

## Índice

### **PARTE I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

Lista de Abreviaturas .....	7
Introdução .....	8
1. A Farmácia Santo António .....	8
2. Análise SWOT .....	9
2.1. Pontos Fortes .....	9
2.1.1. Diversidade das tarefas e serviços desempenhados .....	9
2.1.2. Medição de parâmetros bioquímicos .....	10
2.1.3. Robô e Caixa Automática .....	11
2.1.4. Integração e apoio pela equipa técnica da farmácia .....	11
2.1.5. Aplicação da formação adquirida no MICEF .....	12
2.1.6. Preparação de Medicamentos e Produtos Manipulados .....	12
2.2. Pontos Fracos .....	13
2.2.1. Receitas Manuais .....	13
2.2.2. Mudanças de preço e das embalagens dos medicamentos .....	13
2.2.3. Dificuldade em associar o nome comercial ao princípio ativo correspondente .....	14
2.2.4. Insegurança no atendimento e aconselhamento farmacêutico .....	14
2.3. Oportunidades .....	15
2.3.1. Formações complementares e outras atividades .....	15
2.3.2. Oportunidade de explorar ambas as versões do sistema informático Sifarma® .....	16
2.4. Ameaças .....	16
2.4.1. Medicamentos Esgotados .....	16
2.4.2. Dispensa de MNSRM fora das Farmácias .....	17
Casos Práticos .....	17
Considerações Finais .....	19
Referências Bibliográficas .....	21
Anexos .....	23

### **PARTE II - Relatório de Estágio em Análises Clínicas**

Lista de Abreviaturas .....	29
Introdução .....	30
1. Laboratório Central Unilabs .....	30
2. Análise SWOT .....	31
2.1. Pontos Fortes .....	31
2.1.1. Integração na equipa técnica .....	31
2.1.2. Autonomia e confiança depositadas nos estagiários .....	31
2.1.3. Contacto com as diferentes áreas das ANC .....	32
2.1.3.1. Fases pré-analítica, analítica e pós-analítica .....	32
2.1.3.2. Microbiologia .....	32
2.1.3.3. Bioquímica e Imunoquímica .....	33
2.1.3.4. Hematologia .....	34
2.1.4. Aplicação do conhecimento adquirido ao longo da formação académica .....	34
2.2. Pontos Fracos .....	34
2.2.1. Falta de acesso ao histórico clínico dos utentes .....	34

2.3. Oportunidades.....	35
2.3.1. Aprendizagem com profissionais de diferentes áreas.....	35
2.3.2. Estágio curricular numa área farmacêutica diferenciadora.....	35
2.4. Ameaças.....	36
2.4.1. Competitividade com outros profissionais de saúde.....	36
Casos Práticos.....	36
Considerações Finais.....	39
Referências Bibliográficas.....	40
Anexos.....	41

### **PARTE III - Monografia "O Papel da Microbiota Intestinal Infantil nas Alergias Alimentares"**

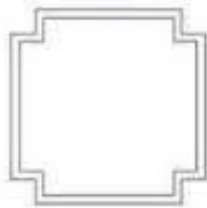
Lista de Abreviaturas.....	43
Resumo.....	44
Abstract.....	45
1. Introdução.....	46
2. Microbiota Intestinal.....	46
2.1. Composição e Desenvolvimento da Microbiota Intestinal.....	47
2.2. Funções da Microbiota Intestinal e o seu Papel na Homeostase.....	49
2.3. Disbiose Intestinal.....	50
2.4. Fatores que influenciam a Microbiota Intestinal Infantil.....	51
2.4.1. Idade Gestacional.....	52
2.4.2. Tipo de Parto.....	52
2.4.3. Genética do Hospedeiro.....	53
2.4.4. Geografia.....	54
2.4.5. Utilização de Antibióticos.....	54
2.4.6. Alimentação Infantil.....	55
2.4.6.1. Leite Materno.....	55
2.4.6.2. Fórmulas Infantis.....	56
2.4.6.3. Introdução de Alimentos Sólidos.....	56
3. Alergias Alimentares.....	58
3.1. Hipótese de Higiene.....	59
3.2. Diferenças entre a Microbiota Intestinal Infantil de crianças saudáveis e com alergia alimentar.....	59
3.3. Mecanismos Imunológicos da Alergia Alimentar.....	60
3.4. A Microbiota Intestinal e a sua influência na Alergia Alimentar.....	62
3.4.1. Papel dos SCFA e das bactérias produtoras de butirato.....	64
4. A Microbiota Intestinal como alvo terapêutico na Alergia Alimentar.....	65
4.1. Probióticos.....	66
4.2. Prebióticos.....	67
4.3. Simbióticos.....	67
4.4. Pós-bióticos.....	68
4.5. Transplante de Microbiota Fecal.....	68
4.6. Intervenção Dietética.....	69
5. Conclusões e Perspetivas Futuras.....	69
Referências Bibliográficas.....	71

## **PARTE I**

### **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

Farmácia Santo António

Rio Meão



**Farmácia Santo António**

Sob orientação da Dra. Maria João Trábulo

## **Lista de Abreviaturas**

DCI – Denominação Comum Internacional

FC – Farmácia Comunitária

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FSA – Farmácia Santo António

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

PIM – Preparação Individualizada da Medicação

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*



## **Introdução**

O plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) culmina com a realização de um estágio curricular de carácter obrigatório em Farmácia Comunitária (FC). Esta componente prática tem como objetivo aproximar o estudante da realidade de um farmacêutico comunitário, sendo este motivado a aplicar o vasto conhecimento técnico e científico adquirido ao longo dos cinco anos de formação académica.

O papel do farmacêutico em FC tem como foco o doente, facilitando o acesso a melhores cuidados de saúde através de um atendimento personalizado, promovendo o uso correto e racional do medicamento (1).

De janeiro a abril de 2023, tive o privilégio de ser recebida na Farmácia Santo António (FSA), situada em Rio Meão, freguesia pertencente ao concelho de Santa Maria da Feira, sob orientação da Diretora Técnica, Dra. Maria João Trábulo. Ao longo destes 4 meses tive oportunidade de colocar em prática conhecimentos adquiridos assim como desenvolver novas competências que considero fundamentais para o meu futuro enquanto farmacêutica.

O presente relatório encontra-se na forma de uma Análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*). Neste sentido, irei fazer uma análise crítica e objetiva do estágio curricular, identificando a nível interno, os Pontos Fortes e Fracos e a nível externo, as Oportunidades e as Ameaças.

### **I. A Farmácia Santo António**

A FSA localiza-se na Avenida de Santiago, n.º 207A-209 Rio Meão, numa das freguesias pertencentes ao concelho de Santa Maria da Feira, distrito de Aveiro. A FSA integra o Grupo *Fastfarma*, do qual também fazem parte a Farmácia Aliança, na cidade do Porto e o Espaço Saúde Lionesa, em Leça do Balio – Matosinhos. Situada na proximidade de várias clínicas médicas, do centro de saúde da freguesia de Rio Meão e do Hospital de São Sebastião – Centro Hospitalar de Entre o Douro e Vouga, a FSA é um estabelecimento com grande movimento e afluência de utentes. A direção técnica da farmácia encontra-se sob responsabilidade da Dra. Maria João Trábulo, que gere uma equipa constituída por 9 elementos. Desta equipa fazem parte quatro farmacêuticos: Dra. Daniela Fernandes, Dra. Raquel Nunes, Dr. Élio Silva, Dr. José Luís; dois enfermeiros: Enf.<sup>a</sup> Ana Sousa e Enf.<sup>a</sup> Joana Ferreira, e três técnicos auxiliares de farmácia, Dr. Filipe Nunes, Dra. Maria Gama e Dra. Sofia Santos.

Relativamente ao horário de funcionamento, a FSA encontra-se aberta ao público todos os dias das 8 horas às 24 horas.

No espaço interior, a FSA dispõe de uma sala de atendimento constituída por cinco balcões individuais, uma zona reservada à realização de testes bioquímicos e fisiológicos como glicémia, pressão arterial, colesterol, triglicéridos, um gabinete de atendimento personalizado dedicado à administração de injetáveis ou a situações que necessitem de maior privacidade, uma zona de armazenamento de medicamentos ou produtos farmacêuticos, um laboratório destinado à preparação de medicamentos manipulados e à realização de testes rápidos à urina, um gabinete de enfermagem e outras salas privadas dedicadas aos inúmeros serviços disponíveis como consultas de podologia e de nutrição.

## **2. Análise SWOT**

Na Análise SWOT que se segue irei abordar e desenvolver a nível interno os Pontos Fortes (*Strengths*) e os Pontos Fracos (*Weaknesses*) e a nível externo as Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*) do meu estágio curricular na FSA.

### **2.1. Pontos Fortes**

#### **2.1.1. Diversidade das tarefas e serviços desempenhados**

O estágio em FC iniciou-se com uma breve apresentação da farmácia, dos elementos da equipa e da sua dinâmica. Em seguida, explicaram-me as funcionalidades do sistema informático Sifarma<sup>®</sup> e as principais tarefas realizadas no *backoffice*. Assim, nos primeiros dias, observei a realização de encomendas diárias, rececionei e conferi, ao lado do técnico responsável, as encomendas provenientes dos diferentes fornecedores (Cooperativa dos Proprietários de Farmácia – Cooprofar, *Alliance Healthcare* e Empifarma). Como ainda não estava familiarizada com este processo, uma vez que não tinha realizado nenhum estágio em FC anteriormente, senti inicialmente uma maior dificuldade em executar estas tarefas sozinha. Contudo, com a ajuda da equipa, fui acompanhando de perto todo o procedimento, até que ao fim de algumas semanas já me sentia confiante para o fazer de forma autónoma.

Uma vez finalizada a fase de receção de encomendas, a maioria dos medicamentos e outros produtos eram armazenados no robô que lê o código de barras de cada produto individualmente, regista o prazo de validade e procede à arrumação do mesmo consoante o tamanho da embalagem e o prazo de validade. No entanto, alguns Medicamentos Não Sujeitos

a Receita Média (MNSRM) e produtos de dermocosmética encontravam-se expostos na zona de atendimento pelo que a arrumação dos mesmos foi uma tarefa constante que me permitiu ampliar o conhecimento acerca deste tipo de medicamentos e conhecer novos produtos.

Desde o início do estágio, fui incentivada a acompanhar os farmacêuticos no atendimento ao balcão, o que considero um ponto positivo pois permitiu-me desenvolver novas competências ao nível da capacidade de comunicação e da relação com o utente. Graças à confiança e total liberdade dada pela equipa, o atendimento ao público tornou-se uma tarefa assídua ao longo do meu estágio no qual realizei diversas tarefas tais como a reserva de medicamentos, preparação de antibióticos, dispensa de diversos tipos de medicamentos, incluindo psicotrópicos e estupefacientes, e aconselhamento farmacêutico.

Para além das tarefas realizadas na FSA, a Preparação Individualizada de Medicação (PIM) em 2 lares do grupo Bella Vida foi tarefa constante do meu estágio. A minha função enquanto estagiária era organizar a medicação de acordo com o mapa terapêutico disponibilizado no *software*, o *Inove Saúde*, e proceder ao acondicionamento dos mesmos em *blisters* através de uma máquina de embalagem. Cada *blister* continha várias informações como o nome do utente, o princípio ativo, a dosagem, o prazo de validade e o lote do medicamento assim como a refeição na qual deveria ser tomado. Ao longo deste procedimento, apercebi-me que a PIM era um serviço muito útil pois permitia aumentar a adesão à terapêutica e evitar o número de erros de medicação, que acontecem com frequência nestas unidades de saúde devido ao elevado número de utentes, sendo a grande maioria idosos polimedicados.

Para além das tarefas anteriormente mencionadas, também fui parte ativa na preparação de medicação para entrega ao domicílio, onde atendia chamadas, anotava os pedidos e separava a medicação de forma a facilitar o processo ao colega responsável pela entrega.

Assim, considero que a diversidade de tarefas e serviços desempenhados ao longo do estágio na FSA foram essenciais para desenvolver competências importantes que me ajudaram a evoluir enquanto futura profissional.

### **2.1.2. Medição de parâmetros bioquímicos**

A FSA disponibiliza aos seus utentes uma enorme variedade de serviços, sendo a medição de parâmetros analíticos como glicémia, colesterol total, triglicerídeos e tensão arterial, os serviços mais procurados pela população. Ao longo do meu estágio tive

oportunidade de realizar várias destas medições, o que me permitiu aumentar a proximidade aos utentes e analisar os seus estados de saúde, uma vez que os resultados destas medições eram escritos no cartão pessoal de cada utente de forma a que fosse possível analisar criticamente os resultados, tendo em conta o histórico do utente, concluindo com as medidas não farmacológicas adequadas à situação do mesmo.

### **2.1.3. Robô e Caixa Automática**

Considero que o facto de a farmácia dispor de um robô GO.compact Gollmann® e de uma caixa automática Cashlogy by Azkoyer POS 1500 me auxiliou em todo o período de estágio, desde o *backoffice* ao atendimento. Por um lado, o robô facilita o armazenamento de medicação, rentabiliza o espaço físico da farmácia e ainda possibilita uma dispensa de medicamentos mais eficaz dado que a possibilidade de erros como troca de medicamentos, laboratórios e dosagens é praticamente nula.

Ao nível do atendimento, a caixa automática facilitou bastante todo este processo pois elimina possíveis erros na entrega de troco aos utentes, permite registar todos os movimentos de cada elemento e ainda auxilia na gestão diária dos totais da caixa. Desta forma, considero que estas tecnologias facilitaram a minha prestação pois contribuíram para aumentar a confiança e segurança nas tarefas desempenhadas.

### **2.1.4. Integração e apoio pela equipa técnica da farmácia**

A equipa da FSA, apresentada anteriormente, caracteriza-se pelo profissionalismo, organização, boa disposição, rigor e ética. Saliento ainda o enorme espírito de entreatajuda e total disponibilidade para esclarecer todas as minhas dúvidas e responder a todas as minhas questões, o que ajudou a sentir-me completamente integrada na equipa desde o primeiro dia.

Durante todo o período de estágio tive a oportunidade de realizar turnos onde colaborei com todos os membros da equipa da farmácia, o que considero fundamental para a minha aprendizagem pois adquiri novas competências com cada um dos elementos, desde a organização e arrumação dos produtos farmacêuticos ao uso do sistema informático Sifarma®, como também ao nível do aconselhamento farmacêutico e controlo de estupefacientes e psicotrópicos e de todas as tarefas desenvolvidas numa FC.

Enquanto estagiária tenho ainda de ressaltar a autonomia concedida nas várias tarefas, desde o atendimento ao público à PIM, porque para além de me sentir constantemente

desafiada fizeram-me ganhar mais confiança a cada tarefa desempenhada, contribuindo assim para o meu crescimento pessoal e profissional.

### **2.1.5. Aplicação da formação adquirida no MICF**

A formação adquirida ao longo do curso de MICF permitiu adquirir conhecimentos sobre diversas áreas tais como farmacologia, farmacoterapia, tecnologia farmacêutica, fitoterapia, dermocosmética, microbiologia, entre muitas outras. O estágio em FC foi, sem dúvida, uma porta aberta para aplicar toda a formação técnico-científica adquirida anteriormente, uma vez que diariamente era abordada sobre várias questões como a indicação terapêutica dos medicamentos, a sua posologia, via de administração, medidas não farmacológicas, entre outras dúvidas dos utentes. Para além disso, fui constantemente incentivada pelos elementos da equipa a melhorar na vertente do aconselhamento farmacêutico, assistindo a diversas formações *online*, de forma a evoluir enquanto futura profissional de saúde.

Desta forma, concluo que o MICF é um curso multidisciplinar na área das ciências da vida com um elevado grau de exigência que nos fornece bases importantíssimas e que nos prepara com o objetivo de conseguirmos aplicar em contexto real todos os conhecimentos adquiridos ao longo dos cinco anos de formação teórica e prática.

### **2.1.6. Preparação de Medicamentos e Produtos Manipulados**

Segundo a Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho, um medicamento manipulado corresponde a “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” (2). Na FSA, a preparação de manipulados é um dos vários serviços disponíveis e ao longo do período de estágio tive oportunidade de preparar alguns medicamentos manipulados, preenchendo a sua ficha de preparação e calculando o seu respetivo preço. No final da preparação, procede-se à elaboração de um rótulo, o qual contém o nome do medicamento manipulado, a via de administração, posologia, condições de conservação, prazo de utilização e outras informações adicionais. Neste rótulo também estão descritos o nome do médico prescriptor assim como do utente em questão, da farmácia e do seu diretor técnico.

A título de exemplo, destaco a preparação de uma Solução Alcoólica de Ácido Bórico a 60%, indicada para o tratamento tópico de otites externas devido à atividade bacteriostática do ácido bórico (Anexos 1 e 2).

Considero que a preparação de medicamentos manipulados foi um ponto forte do meu estágio pois permitiu-me colocar em prática conhecimentos adquiridos em algumas unidades curriculares, nomeadamente em Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica que são áreas fundamentais para que o farmacêutico execute esta tarefa com um elevado nível de rigor e qualidade.

## **2.2. Pontos Fracos**

### **2.2.1. Receitas Manuais**

Atualmente, o número de receitas manuais é cada vez mais reduzido, no entanto, quase todos os dias eram apresentadas este tipo de receitas na FSA. As receitas manuais são normalmente utilizadas quando há falência informática ou em situações em que a prescrição é feita no domicílio. Este tipo de receitas exige uma maior capacidade de atenção por parte do farmacêutico comparativamente com as eletrónicas, uma vez que é necessário avaliar os critérios de aceitação obrigatórios de uma receita manual. Estes critérios incluem o nome e número do utente, regime de participação, identificação e vinheta do médico prescriptor, identificação do local de prescrição, data de prescrição, validade da receita manual (trinta dias após a prescrição), nome dos medicamentos, forma farmacêutica, dose, quantidade e número de embalagens (3, 4).

No final da dispensa procede-se à impressão da fatura no verso da receita com todas as informações da mesma e é pedido ao utente que a assine e forneça o seu contacto telefónico para caso ocorra alguma irregularidade, este possa ser contactado. Após o utente assinar, o farmacêutico deve carimbar, rubricar e datar a receita para futura verificação da mesma. Para além da análise de todos os fatores anteriormente descritos, por vezes era difícil interpretar o que estava escrito pelo médico, o que me levava a solicitar auxílio a um membro da equipa de forma a dispensar corretamente o medicamento prescrito.

Desta forma, considero as receitas manuais um ponto fraco na medida em que dificultam o atendimento, tornando-o mais moroso, oferecendo pouca segurança pois levam a uma maior probabilidade de erros no momento da dispensa de medicamentos.

### **2.2.2. Mudanças de preço e das embalagens dos medicamentos**

Durante o meu estágio deparei-me com a constante alteração do preço dos medicamentos, o que considero um ponto fraco uma vez que esta situação exige uma atenção

redobrada no momento da receção de encomendas assim como no atendimento de forma a evitar que o utente pague um valor errado pelo medicamento que pretende.

As sucessivas alterações às embalagens dos medicamentos também se demonstraram uma problemática, nomeadamente no momento da dispensa ao balcão, uma vez que frequentemente os utentes ficavam confusos e questionavam se se tratava do medicamento habitual que já faziam pois não reconheciam a embalagem secundária do mesmo. Um exemplo de um medicamento que alterou a sua embalagem secundária durante o meu estágio em FC foi o Kainever<sup>®</sup>, encontrando-se ambas as embalagens no Anexo 3.

### **2.2.3. Dificuldade em associar o nome comercial ao princípio ativo correspondente**

Ao longo do curso de MICE familiarizamo-nos, maioritariamente, com a Denominação Comum Internacional (DCI) dos fármacos. Contudo, em contexto real de FC, a maioria dos utentes identifica os seus medicamentos habituais pelo nome comercial, o que se demonstrou uma dificuldade para mim sobretudo nos primeiros atendimentos ao balcão, uma vez que sentia necessidade de recorrer ao Sifarma<sup>®</sup> de forma a pesquisar os princípios ativos correspondentes antes de dispensar o medicamento ao utente. No entanto, à medida que fui realizando vários atendimentos, fui ganhando experiência e conhecimento sobre os medicamentos, o que me fez sentir mais confiante perante esta situação. A fase de receção de encomendas também me auxiliou bastante a colmatar esta falha, uma vez que é nesta etapa que contactamos com um elevado número de medicamentos e conseguimos associar mais facilmente os nomes comerciais aos princípios ativos correspondentes.

### **2.2.4. Insegurança no atendimento e aconselhamento farmacêutico**

Numa fase inicial do estágio, foi visível algum receio e insegurança da minha parte aquando da realização de atendimentos pelo facto de ainda não estar completamente familiarizada com o sistema informático e de não associar de imediato o nome comercial do medicamento ao seu princípio ativo. Para além disso, ainda não estava totalmente informada sobre os diferentes regimes especiais de comparticipação e dos descontos aplicados a alguns produtos, o que fez com que os meus atendimentos fossem mais morosos pois necessitava de solicitar ajuda aos vários elementos da equipa, o que culminava numa maior ansiedade e insegurança devido à pressão imposta pelos utentes. Relativamente ao aconselhamento farmacêutico, nos primeiros atendimentos solicitava sempre auxílio pois não me sentia

confiante ao ponto de decidir a melhor opção para o utente. Ao longo do tempo, esta insegurança foi sendo ultrapassada pois toda a equipa se demonstrou disponível para esclarecer todas as dúvidas à medida que as questões dos utentes iam surgindo, o que me fez evoluir de forma mais autónoma perante uma situação de aconselhamento farmacêutico.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Formações complementares e outras atividades**

Para um aconselhamento terapêutico adequado é essencial que o farmacêutico esteja informado sobre novas tecnologias e produtos disponíveis no mercado de forma a prestar um serviço de qualidade à população. Deste modo, toda a equipa da farmácia era constantemente incentivada a assistir a formações *online* desenvolvidas por vários laboratórios, onde era facultada uma senha à farmácia para que todos os elementos da equipa técnica conseguissem visualizar as mesmas.

Presencialmente, tive oportunidade de participar em algumas formações das quais destaco a das meias de compressão da marca Sigvaris<sup>®</sup>, na qual foram apresentados os vários modelos de meias de compressão e respetiva constituição, onde aprendi os diversos graus de compressão, em que situação devo aconselhar cada um deles e ainda aprendi a tirar as medidas de forma correta. Considero que esta formação foi essencial para o meu desempenho e aprendizagem pois trata-se de uma área pouco explorada no decurso do MICEF, porém muito presente no estágio em FC pois acompanhei frequentemente os membros da equipa na realização das medidas e, posteriormente, no aconselhamento deste tipo de produtos.

Durante o meu estágio na FSA tive também a oportunidade de visitar a Escola Básica da Igreja de Paços de Brandão com o objetivo de ensinar e alertar as crianças do 1º ao 4º ano de escolaridade para os cuidados a ter com a exposição solar. Ao longo da apresentação consegui perceber que as crianças já conheciam a maioria das medidas de proteção solar assim como a importância de usar protetor solar. Foi sem dúvida uma oportunidade única durante o meu estágio pois permitiu-me aplicar os conhecimentos da unidade curricular de Dermofarmácia e Cosmética de uma forma dinâmica e lúdica de modo a que todas as crianças conseguissem compreender os conhecimentos básicos sobre este tema.



### **2.3.2. Oportunidade de explorar ambas as versões do sistema informático**

#### **Sifarma®**

A FSA utiliza o programa de gestão e atendimento Sifarma® desenvolvido pela Glintt que auxilia a maioria das tarefas quotidianas de um farmacêutico comunitário (5). Ao longo do meu estágio curricular tive oportunidade de trabalhar com ambas as versões do Sifarma® e para tal foram-me partilhadas as credenciais de acesso dos vários colaboradores. O módulo de atendimento foi essencialmente utilizado na realização de atendimentos ao balcão, uma vez que este sistema promove o rápido acesso a várias informações sobre os medicamentos como posologia, possíveis interações, contraindicações, composição, preço e ainda informa a quem dispensa o medicamento as várias opções disponíveis (marca/genérico) de acordo com a prescrição médica. Este sistema também permite consultar a ficha do utente e realizar vendas suspensas. Contudo, nem sempre os dados dos utentes estavam atualizados no novo Sifarma®, nomeadamente a medicação habitual, sendo necessário aceder a esses dados no Sifarma 2000®. Para além do auxílio no atendimento, a versão do Sifarma 2000® é um sistema indispensável nas tarefas desempenhadas no *backoffice* como a gestão e receção de encomendas, gestão de *stocks*, consulta de compras e vendas dos vários produtos. Durante o estágio, também utilizei a versão Sifarma 2000® para proceder à realização de vendas suspensas a crédito para os utentes dos lares.

Considero que a nova versão do Sifarma® é mais simples e intuitiva na execução dos atendimentos, no entanto não dispõe de muitas das ferramentas do Sifarma 2000®, o que me fez optar por usar a versão mais antiga na maioria das restantes tarefas.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Medicamentos Esgotados**

A problemática dos medicamentos esgotados tem-se tornado, cada vez mais, uma realidade das FCs em Portugal. Desde o primeiro dia de estágio que me deparei com este cenário, onde diariamente tinha que tentar explicar aos utentes que a escassez de medicamentos não era da responsabilidade da farmácia, mas sim dos próprios laboratórios de produção. Esta situação nem sempre era bem aceite pelos utentes, uma vez que frequentemente estes medicamentos esgotados tratavam-se de terapêutica crónica que não podia ser alterada sem prévio conhecimento do médico, sendo agravada nos casos onde o medicamento esgotado não apresentava nenhuma alternativa terapêutica disponível no mercado. Perante este problema era necessário um maior cuidado tanto na gestão como na

realização de reservas de medicamentos de forma a racionalizar a reduzida quantidade de medicamentos que nos eram fornecidos. Como exemplo de medicamentos esgotados destaco o Rivotril<sup>®</sup>, Ozempic<sup>®</sup>, Clamoxyl<sup>®</sup>, Ovestin<sup>®</sup>, entre outros.

Assim, considero a escassez de medicamentos uma notória ameaça quer para o bom funcionamento da farmácia quer para as potenciais vendas assim como para a saúde e bem-estar do próprio utente pois muitas vezes a única solução é encaminhá-lo para o médico para que o mesmo opte por uma nova alternativa terapêutica, causando uma enorme incompreensão e desagrado por parte do doente.

#### **2.4.2. Dispensa de MNSRM fora das Farmácias**

A possibilidade de venda de MNSRM fora das Farmácias a partir do Decreto-Lei n.º 134/2005 transformou-se numa enorme ameaça à sustentabilidade das FCs (6). Estes locais, ao praticarem preços mais acessíveis, promovem uma diminuição do número de vendas da FC e conseqüentemente uma menor diversidade de casos práticos nos quais o farmacêutico pode atuar. Para além disso, esta situação promove a automedicação e desvalorização da profissão do farmacêutico comunitário na medida em que nestes locais nem sempre se encontram profissionais qualificados que tenham em consideração o histórico farmacoterapêutico do doente e possíveis reações adversas. Assim, torna-se indispensável que os farmacêuticos marquem pela diferença, ao prestar um atendimento personalizado, promovendo o uso racional do medicamento.

### **Casos Práticos**

#### **Contraceção de emergência**

Uma utente de 21 anos chega à farmácia muito ansiosa, solicitando a pílula do dia seguinte. Primeiramente tentei acalmar a utente e em seguida coloquei-lhe algumas questões. Perguntei há quanto tempo teria sido a relação sexual e se fazia algum método contraceptivo ou se se tratava de uma relação sexual desprotegida. Referiu que a relação sexual tinha sido no dia anterior, ou seja, há menos de 24 horas, e que tomava Minigeste<sup>®</sup> (7). No entanto, referiu que costuma esquecer-se de tomar a pílula e que tal facto teria acontecido ontem, daí a sua enorme preocupação. Posto isto, questionei em que fase do ciclo menstrual se encontrava, ao qual respondeu que tinha tido menstruação há pouco mais de uma semana. Para além disso, perguntei se tinha algum problema de saúde e se tomava outros medicamentos, respondendo negativamente. Recomendei Postinor<sup>®</sup> (Levonorgestrel 1,5 mg)

uma vez que pode ser utilizado até 72 horas após a relação sexual não protegida, atuando na fase pré-ovulatória precoce impedindo a ovulação.

Alertei a utente que este é um medicamento de toma única que pode provocar alguns efeitos secundários como náuseas, vômitos, dores abdominais, cefaleias e que caso vomitasse nas 3 horas seguintes à toma, teria que repetir a toma do medicamento (8).

Reforcei ainda que a toma de contraceção oral de emergência não substitui o método contraceptivo regular e, por isso, deve continuar a toma da pílula Minigeste<sup>®</sup>. Para além disso, salientei a importância de associar outro método contraceptivo de barreira, como o preservativo, até à próxima menstruação, prevenindo assim doenças sexualmente transmissíveis.

Além disso, aconselhei a utente a marcar uma consulta com o seu ginecologista de forma a conhecer outros métodos contraceptivos adequados à mesma, para que evite o esquecimento dos mesmos, prevenindo assim uma gravidez não desejada.

### **Candidíase vaginal**

Utente, do sexo feminino, com cerca de 30 anos, dirige-se à farmácia pedindo algo que a ajudasse pois sentia muita comichão e desconforto na zona vaginal há 4 dias. Perante esta situação, questionei a utente se tinha notado alguma diferença no aspeto do seu corrimento, ao qual a mesma respondeu que tem reparado que este tem estado mais esbranquiçado e espesso, com aspeto de requeijão. Questionei ainda se o corrimento apresentava odor fétido ou a peixe, ao qual a utente respondeu negativamente. Atendendo aos sintomas apresentados pela utente, concluí que podíamos estar perante uma situação de candidíase vaginal. Assim, aconselhei o antifúngico Gino-Canesten<sup>®</sup> (10 mg/g Clotrimazol), um creme vaginal utilizado no tratamento de infeções genitais provocadas maioritariamente pelo fungo *Candida albicans*. Expliquei que deve encher o aplicador com creme vaginal e introduzi-lo na vagina o mais profundamente possível, uma vez por dia, ao deitar, durante 6 dias. Para além disso, referi que também poderia aplicar o creme externamente à zona vaginal (9).

Para auxiliar no alívio do desconforto vaginal recomendei a lavagem diária com o gel de limpeza íntima Lactacyd<sup>®</sup> Pharma Suavizante que protege e acalma o prurido, restabelecendo suavemente o equilíbrio íntimo (10).

Por fim, realcei a importância de manter sempre a área genital bem limpa e seca e evitar produtos de limpeza agressivos e perfumados pois podem provocar irritação nesta zona.

Para além disso, referi que deve evitar banhos muito quentes e duches vaginais uma vez que podem levar a desequilíbrios na flora vaginal. Recomendei o uso de roupa íntima de algodão, evitando vestir roupas muito justas. Adverti a utente para um comportamento sexual responsável durante o tratamento, uma vez que o creme vaginal pode danificar os preservativos ou diafragmas. Aconselhei ainda que após uma ida à casa de banho, deveria limpar-se da frente para trás de forma a evitar a contaminação da vagina com microrganismos do ânus.

### **Diarreia aguda**

Uma senhora dirige-se à farmácia solicitando algo para a diarreia da sua filha de 6 anos. Primeiro comecei por questionar há quanto tempo apresentava sintomas e quantas dejeções diarreicas a criança fazia por dia. A utente referiu que a diarreia tinha começado no dia anterior tendo tido 7 dejeções líquidas. Para além disso referiu que a criança se queixava constantemente de dores de barriga e que também tinha vomitado. Uma outra questão colocada à mãe foi se a criança apresentava febre, ao qual a utente respondeu que mediu ao longo da noite e estava nos 38,8°C. Posto isto, percebi que para além de estarmos perante um quadro de desidratação, a criança poderia estar com uma diarreia aguda infecciosa, a qual poderia não ser autolimitada. Desta forma, alertei a utente que levasse a criança ao médico o mais rapidamente possível.

### **Considerações Finais**

O estágio curricular na FSA foi uma etapa fulcral para o meu crescimento pessoal e profissional. Os 5 anos de formação académica foram a base fundamental para que ao longo desta desafiante etapa conseguisse aplicar e consolidar, em contexto real, todos os conhecimentos teóricos previamente adquiridos.

Durante os quatro meses de estágio desenvolvi novas competências como a capacidade de comunicação, o trabalho em equipa, o meu sentido crítico e as minhas responsabilidades enquanto agente de saúde. De facto, o farmacêutico é muito mais que alguém que cede medicamentos, é o profissional que tem como principal foco a saúde e o bem-estar do utente. Na verdade, tive oportunidade de trabalhar ao lado de uma excelente equipa, que escutava os utentes e tentava resolver os seus problemas, prezando sempre a sua saúde. Graças a toda a equipa e a todo o apoio incondicional prestado, consegui desafiar-me diariamente, colmatando

inseguranças inicialmente sentidas, que fizeram de mim alguém mais confiante e com orgulho da profissão que escolheu.

Em suma, o estágio na FSA foi, sem sombra de dúvidas, uma experiência enriquecedora que me permitiu desenvolver competências profissionais e pessoais para o meu sucesso profissional enquanto futura farmacêutica.

## Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **A Farmácia Comunitária**. [Acedido a 7 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. INFARMED – **Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho do Diário da República n.º 129/2004, Série I-B de 2 de junho de 2004**. Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. **Legislação Farmacêutica Compilada**. 2004. [Acedido a 19 de abril de 2023]. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/594-2004-261875>
3. INFARMED – **Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde**. [Acedido a 22 de abril de 2023]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas\\_Prescri%C3%A7%C3%A3o/bcd0b378-3b00-4ee0-9104-28d0db0b7872](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Prescri%C3%A7%C3%A3o/bcd0b378-3b00-4ee0-9104-28d0db0b7872)
4. INFARMED – **Portaria n.º 290/2019, de 29 de outubro do Diário da República n.º 208/2019, Série I de 29 de outubro de 2019**. [Acedido a 22 de abril de 2023]. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/390-2019-125781753>
5. GLINTT – **Sifarma**®. [Acedido a 4 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
6. INFARMED – 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. **Legislação Farmacêutica Compilada**. [Acedido a 4 de abril de 2023]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1068384/035-B\\_DL\\_134\\_2005\\_3Alt.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1068384/035-B_DL_134_2005_3Alt.pdf)
7. INFARMED – **Minigeste**® – **Resumo das Características do Medicamento**. [Acedido a 8 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
8. INFARMED – **Postinor**® 1,5 mg – **Resumo das Características do Medicamento**. [Acedido a 8 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
9. BAYER – **Gino-Canesten 10 mg/g Creme Vaginal**. [Acedido a 8 de agosto de 2023]. Disponível em: [https://www.bayer.com/sites/default/files/2022-01/Gino-Canesten%20creme%20vaginal\\_Fl.pdf](https://www.bayer.com/sites/default/files/2022-01/Gino-Canesten%20creme%20vaginal_Fl.pdf)

10. LACTACYD – **Lactacyd® Pharma Suavizante**. [Acedido a 8 de agosto de 2023].  
Disponível em: [https://www.lactacyd.pt/product/lactacydr-pharma-suavizante?gclid=Cj0KCQjwz8emBhDrARIsANNJjS52IP4K-pYuEt6JHuq5pUTiApSwwy6jBtLoDYxFmmx7QhERZMpfReUaAoYiEALw\\_wcB&gclid=aw.ds](https://www.lactacyd.pt/product/lactacydr-pharma-suavizante?gclid=Cj0KCQjwz8emBhDrARIsANNJjS52IP4K-pYuEt6JHuq5pUTiApSwwy6jBtLoDYxFmmx7QhERZMpfReUaAoYiEALw_wcB&gclid=aw.ds)

## Anexos

### Anexo I – Ficha de Preparação do Medicamento Manipulado “Solução Alcoólica de Ácido Bórico a 60%”.

#### Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

**Medicamento: Solução Alcoólica de ácido bórico a 60%**

Teor em substância(s) ativa(s): 100 ml de solução contém cerca de 4g ácido bórico

Forma Farmacêutica: Solução  
Número do Lote: 007/23

Data Preparação 22/02/2023  
Quantidade a Preparar: 100ml

Matérias Primas	Lote nº	Origem	Farmacopeia	Quantidade 100g (ml unidades)	Quantidade Calculada	Quantidade Pesada	Rubrica do Operador e Data	Rubrica do Supervisor e Data
Álcool 70°	22000275	Aga	FP	82.2g	82.2g	82.2g	22/02/2023 ES	22/02/2023 MJ
Água purificada	001/110/2	Dimor	-	17.8g	17.8g	17.8g	22/02/2023 ES	22/02/2023 MJ
Ácido bórico	210409	Acofarma	Ph EUR	5g	5,0g	5,0g	22/02/2023 ES	22/02/2023 MJ

Documento de suporte à Técnica de preparação: FGP AII 1, adaptado

Preparação	Rubrica do Operador
1. Preparar 100g de álcool a 60° (diluir 82.2 de álcool a 70° em 17.8g de água purificada).	ES
2. Colocar em proveta rolhada cerca de 50ml do álcool a 60°.	ES
3. Pesar 5,0g de ácido bórico e adicionar aos poucos ao álcool a 60°, agitando fortemente após cada adição durante 20 segundos.	ES
4. Após a adição de todo o ácido bórico, completar o volume com álcool a 60°, e agitar durante 20 segundos.	ES
5. Deixar em repouso durante 1 hora, agitando a proveta durante 20 segundos, de 15-15 minutos.	ES
6. No final, filtrar a solução saturada obtida.	ES
7. Proceder ao controlo de qualidade.	ES
8. Embalar e rotular.	ES



Ficha de Preparação de  
Medicamentos Manipulados

*Embalagem*

Tipo de embalagem: Frasco vidro âmbar 30ml

Capacidade do recipiente: 30ml

Material de embalagem	Nº do lote	Origem
Frasco vidro âmbar 100ml	103833	Guinama
Tampa com pipeta	100756	Guinama

Operador: ES

Rubrica do Diretor Técnico MJ	Data 22/02/2023
----------------------------------	--------------------

*Prazo de utilização e Condições de conservação*

Condições de conservação: Frasco de vidro âmbar, bem fechado e devidamente rotulado

Operador: ES

Prazo de Utilização: 2 meses

Operador: ES

*Verificação*

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do Operador
Organoléptico / cor	Incolor	Conforme	ES
Organoléptico / aspecto	limpido	Conforme	ES
Quantidade	100ml	100ml-Conforme	ES

Aprovado  Rejeitado

Supervisor: MJ

22/02/2023

*Nome e telefone do doente/cliente*

[Redacted]

*Nome do médico prescriptor*

[Redacted]

FSA.039.00

Página 2 de 4

## Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

### Anotações

De acordo com a tabela II do cap 4 do FGP: 822g álcool 70°+178g de água purificada=1000g álcool 60°. Foram preparadas 100g de álcool a 60°

Rubrica do Diretor Técnico MJ	Data 22/02/2023
----------------------------------	--------------------

### Cálculo do preço de venda

MATÉRIAS – PRIMAS:							
Matérias – Primas	Embalagem existente em armazém		Preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/IVA)		Quantidade a usar	Fator multiplicativo	Valor da matéria-prima utilizada na preparação
	Quantidade adquirida	Preço de aquisição (s/IVA)	Quantidade unitária	Preço			
Álcool 70°	250	3.76€	1	0.015	X 82.2	X 1.9	=2.343€
Água purificada	5000g	3.65€	1g	0.0007	X 17.8	X 1.9	=0.024€
Ácido bórico	500g	6.80€	1g	0,001	X5	X2.2	=0.011€
					x	x	=
<b>Sub-total A</b>							<b>=2.38€</b>
HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:							
		Forma farmacêutica	Quantidade	F (€)	Fator multiplicativo	Valor	
Valor referente à quantidade base		Solução	100ml	5.52€	X 3	=16.56€	
Valor adicional				X	X	=	
<b>Sub-total B</b>							<b>=16.56€</b>
MATERIAL DE EMBALAGEM:							
Material de embalagem	Preço de aquisição (s/IVA)	Quantidade	Factor multiplicativo	Valor			
Frasco vidro 100 ml	0,78 €	1	X 1,2	=0.94 €			
Tampa com pipeta	0.60€	1	X1.2	= 0.72€			
<b>Sub-total C</b>							<b>=1.66€</b>
<b>PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:</b>				(A + B + C) x 1,3			= 26.78€
				+ IVA 6 %			= 1.34€
				<b>D</b>			<b>= 28.39€</b>
DISPOSITIVOS AUXILIARES DE ADMINISTRAÇÃO:							
Dispositivo	Preço unitário	Quantidade	Valor				

Ficha de Preparação de  
Medicamentos Manipulados

E	
PREÇO FINAL: D + E 28.39€	
Operador: ES	Supervisor: MJ

Rubrica do Diretor Técnico	Data
MJ	22/02/2023



**Anexo 2 – Rótulo do Medicamento Manipulado “Solução Alcoólica de Ácido Bórico a 60%”.**

 <p><b>FASTFARMA</b> FARMÁCIAS, LDA. FASTFARMA - FARMÁCIAS, LDA. FARMÁCIA SANTO ANTÓNIO DIR. TÉCNICA: DR<sup>a</sup>. MARIA JOÃO MONTEIRO TRABULO</p>	<p>Via de Administração: auricular Data de Preparação: 22/02/2023 Prazo de Utilização: 60 dias Condições de Conservação: Bem fechado, à temperatura ambiente Nº. de Lote: 007/23      Preço: 28.39euros</p>
<p>Avenida Santiago, 207A- 209 4520- 470 Rio Meão Telefone: 256780750 E- mail: fstantonio@gmail.com</p>	<p>Alcool a 60º saturado em acido bórico foram preparados 100ml</p>
<p>Utente: <input type="text"/> Médico Prescritor: <input type="text"/></p>	<p>* Contém Alcool      * Uso Externo <b>MANTER FORA DO ALCANÇE DAS CRIANÇAS</b></p>

**Anexo 3 – Diferentes embalagens secundárias do Kainever<sup>®</sup> (à esquerda a embalagem antiga e à direita a nova embalagem).**



## **PARTE II**

### **Relatório de Estágio em Análises Clínicas**

Laboratório Central Unilabs

Porto



Sob orientação da Dra. Sofia Botelho Moniz

## **Lista de Abreviaturas**

ANC – Análises Clínicas

CQE – Controlo de Qualidade Externo

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético, do inglês *Ethylenediaminetetraacetic Acid*

ELFA – *Enzyme Linked Fluorescent Assay*

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

HbA1c – Hemoglobina Glicada

LCU – Laboratório Central Unilabs

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

NEQAS – *National External Quality Assessment Scheme*

RIQAS – *Randox International Quality Assessment Scheme*

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

## **Introdução**

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) possibilita aos estudantes a realização de um segundo estágio curricular noutra área das Ciências Farmacêuticas para além da Farmácia Comunitária. Assim, perante esta oportunidade, e de modo a ampliar o meu conhecimento, decidi estagiar na área das Análises Clínicas (ANC). Desta forma, o Laboratório Central Unilabs (LCU), localizado no Porto, abriu-me as portas para que pudesse acompanhar as tarefas diárias realizadas num laboratório de ANC e o papel do farmacêutico nesta área.

O estágio de três meses, sob a orientação da Dra. Sofia Botelho Moniz, proporcionou-me uma nova visão sobre a atuação do farmacêutico nesta área de extrema importância no Serviço Nacional de Saúde. Para além de se tratarem de um meio de diagnóstico complementar, as ANC permitem monitorizar terapêuticas e fornecer informações sobre o perfil de suscetibilidade de cada utente de modo a instituir terapêuticas personalizadas que promovam um melhor prognóstico e, por vezes, evitem o desenvolvimento de patologias. Para isso, o meu plano de estágio foi delineado de maneira a que pudesse acompanhar todas as fases do processo analítico: fase pré-analítica, analítica e pós-analítica.

No presente relatório irei abordar, sob a forma de Análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), o meu estágio curricular no LCU, começando por fazer um enquadramento global do laboratório e terminando com uma opinião sobre o meu percurso enquanto estagiária nesta vertente profissional.

### **I. Laboratório Central Unilabs**

O LCU faz parte do grupo de renome nacional em diagnóstico médico laboratorial, a Unilabs Portugal, que teve início em janeiro de 2006 aquando da aquisição de grande parte da Medicina Laboratorial Dr. Carlos Torres. O LCU localiza-se na zona industrial do Porto e, atualmente, possibilita o atendimento e a realização de colheitas nos dias úteis e ao sábado de manhã. Contudo, o laboratório encontra-se em funcionamento 24 horas por dia, sete dias por semana, uma vez que, para além de dar resposta ao serviço de rotina, possui um serviço de urgência que assegura a análise de amostras urgentes provenientes de várias instituições de saúde privadas (1).

No Porto, o LCU é constituído por dois pisos, sendo que no piso zero encontra-se a receção, o gabinete de colheitas, a pré-analítica e a maioria dos setores técnicos

(Microbiologia, Hematologia, Bioquímica e Imunoquímica). O piso encontra-se essencialmente dividido pelas áreas administrativas, direção técnica, copa, casas de banho, cacifos e um espaço de lazer. Para além disso, o laboratório dispõe de um armazém com todo o material e reagentes necessários e ainda de uma sala de gestão de resíduos.

## **2. Análise SWOT**

A apreciação global deste estágio curricular irá seguir o modelo SWOT, onde irei abordar a nível interno os Pontos Fortes (*Strengths*) e os Pontos Fracos (*Weaknesses*) e a nível externo as Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*) que identifiquei no decorrer do meu estágio.

### **2.1. Pontos Fortes**

#### **2.1.1. Integração na equipa técnica**

Desde o início do estágio senti-me completamente integrada nas diferentes equipas dos diversos setores que passei, o que facilitou a comunicação com todos os profissionais que sempre se demonstraram disponíveis para esclarecer todas as minhas dúvidas.

O plano de estágio foi devidamente delineado de forma a que houvesse rotatividade entre setores e no momento de troca de setor era sempre feita uma breve apresentação dos elementos da respetiva equipa e dos equipamentos utilizados naquela área. Ressalvo também a importância de nos primeiros dias em cada setor, toda a equipa me disponibilizar os documentos teóricos referentes aos equipamentos, técnicas e procedimentos utilizados.

Assim, acredito que o bom ambiente de trabalho que senti foi fundamental para uma experiência positiva neste estágio curricular.

#### **2.1.2. Autonomia e confiança depositadas nos estagiários**

Desde cedo, os vários colaboradores tinham a preocupação de incluir-me nos procedimentos de rotina, desde a manutenção dos equipamentos à parte analítica propriamente dita. Aliado ao ambiente de interajuda que senti, destaco a relação de confiança depositada em mim no decorrer do estágio, que me permitiu adquirir uma certa autonomia dentro do próprio laboratório, contribuindo favoravelmente para a minha evolução a nível profissional.



### **2.1.3. Contacto com as diferentes áreas das ANC**

#### **2.1.3.1. Fases pré-analítica, analítica e pós-analítica**

Ao LCU chegam diariamente cerca de 8500 amostras, provenientes de centenas de postos de colheita e clínicas de diálise. Devem, por isso, ser garantidos todos os padrões de qualidade em qualquer fase do processo analítico (pré-analítica, analítica, pós-analítica) de forma a minimizar a ocorrência de erros.

A fase pré-analítica assume uma elevada importância uma vez que compreende todas as etapas desde o pedido do médico até a análise do tubo de amostra. É nesta fase onde ocorrem a maioria dos erros que podem tornar-se prejudiciais para o utente caso deste erro resulte uma terapêutica inadequada. Nesta fase, num primeiro momento, verifica-se se as amostras já têm ficha aberta no sistema informático ou se, pelo contrário, é necessário dar entrada das mesmas, através da leitura do código de barras do tubo. Posteriormente, efetua-se um pré-tratamento dos tubos, de que é exemplo a centrifugação do soro ou plasma. Após esta etapa, analisa-se visualmente os tubos, verificando se possuem fibrina e/ou se se encontram hemolisados, uma vez que estes podem constituir fatores influenciadores de vários parâmetros bioquímicos (2). Seguidamente, os tubos são separados nos respetivos suportes para as diferentes secções.

A fase analítica corresponde ao procedimento analítico, ou seja, à realização das análises requeridas. Para garantir uma boa exatidão dos resultados, é realizado diariamente, nas diversas secções, o controlo interno de todos os equipamentos. Para além disso, o Controlo de Qualidade Externo (CQE) é assegurado pelos programas *Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS)* e *National External Quality Assessment Scheme (NEQAS)*. A participação do LCU nestes programas de CQE realizados mensalmente permite que haja uma comparação interlaboratórios com o intuito de uniformizar e garantir a credibilidade das determinações.

A fase pós-analítica diz respeito à validação dos resultados analíticos, inicialmente efetuada por um técnico de ANC e, posteriormente, por um médico ou farmacêutico especialista em ANC.

#### **2.1.3.2. Microbiologia**

O setor da microbiologia engloba maioritariamente análises bacteriológicas, no entanto, também são desenvolvidas atividades com o objetivo de pesquisar outro tipo de microrganismos como parasitas e fungos. Comparativamente aos restantes setores do LCU,

esta é uma secção que possui uma vertente mais manual, recebendo uma elevada variedade de amostras como urinas (mais comum), fezes, produtos respiratórios (expetorações) exsudados nasofaríngeos, orofaríngeos, cervicovaginais e uretais.

Ao longo do estágio tive oportunidade de acompanhar todo o processo subjacente à análise de urinas, visto que diariamente chegavam cerca de 2000 tubos com este tipo de amostra. Primeiramente, os tubos com urina eram colocados nos aparelhos UC-3500, UF-5000 e UD-10 (Sysmex<sup>®</sup>) que procediam à análise sumária da urina. O UC-3500 avalia alguns parâmetros bioquímicos, como a glicose e a creatinina e analisa o aspeto macroscópico da urina (cor e turvação). O UF-5000, através da citometria de fluxo, realiza a contagem de células epiteliais, leucócitos, eritrócitos, bactérias e cilindros existentes na amostra. Quando há discrepância de resultados entre os dois aparelhos, a amostra segue para o aparelho UD-10 que funciona como um microscópio ótico ao analisar diferentes campos de modo a pesquisar elementos celulares no sedimento urinário. Posteriormente, as urinas são semeadas em gelose Cistina Lactose Deficiente em Eletrólitos (CLED), meio preferencial para a deteção de infeções do trato urinário, e, em seguida, são incubadas cerca de 18 a 24 horas, a 37°C. Findo este período de tempo, observa-se a placa e caso haja crescimento bacteriano, procede-se à identificação do microrganismo, através do equipamento MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight*) que utiliza a espectrometria de massa como método (3). O antibiograma é feito geralmente com recurso ao aparelho *MicroScan WalkAway 96 Plus* (Beckman Coulter<sup>®</sup>) (4).

### **2.1.3.3. Bioquímica e Imunoquímica**

No LCU, os setores da Bioquímica e da Imunoquímica encontram-se interligados, uma vez que a maioria das análises deste serviço realizam-se com o auxílio do equipamento Atellica Solution<sup>®</sup>, que integra o analisador Atellica CH<sup>®</sup> e o analisador Atellica IM<sup>®</sup>, analisador de bioquímica e imunologia, respetivamente. O Atellica CH<sup>®</sup> efetua essencialmente a determinação de parâmetros bioquímicos, sendo a amostra maioritária o soro, podendo também utilizar-se a urina. O Atellica IM<sup>®</sup> efetua sobretudo a quantificação de hormonas, proteínas plasmáticas e de vitaminas (5).

Na secção da imunoquímica propriamente dita existem dois equipamentos distintos, o Immulite 2000<sup>®</sup> e o VIDAS<sup>®</sup>. O primeiro efetua imunoensaios de quimioluminescência, em que, para cada teste, são utilizadas como fase sólida esferas de poliestireno revestidas com anticorpos ou antigénios específicos de cada ensaio (6). O segundo baseia-se na tecnologia

*Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELFA) e utiliza-se na determinação de parâmetros associados às funções hormonal e cardíaca e no diagnóstico de doenças infecciosas.

#### **2.1.3.4. Hematologia**

Dentro do setor da Hematologia, a análise mais frequentemente solicitada é o hemograma. A amostra utilizada é o sangue total, que é colhido para tubos de tampa roxa com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), sendo posteriormente processado pelo equipamento Sysmex XN-10<sup>®</sup>. Para além da contagem de células sanguíneas, da determinação da hemoglobina e do cálculo dos índices eritrocitários e do hematócrito, este aparelho também permite a análise de reticulócitos e de plaquetas por fluorescência. Caso existam resultados anómalos, o aparelho pode gerar automaticamente um pedido para realização de um esfregaço de sangue periférico (7). O esfregaço sanguíneo é feito através do equipamento SP-50 da Sysmex<sup>®</sup>, sendo a contagem de células sanguíneas e avaliação da sua morfologia realizada de forma automática pelo equipamento CellaVision<sup>®</sup> DM96.

Neste setor também é avaliada a hemoglobina glicada (HbA1c), análise de extrema importância em doentes diabéticos. No LCU, a HbA1c é detetada pelo Premier Hb9210<sup>®</sup>, cujo princípio se baseia no método cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Para a determinação da velocidade de sedimentação globular, útil na aferição de estados inflamatórios, utiliza-se o Vesmatic Cube 80<sup>®</sup>.

#### **2.1.4. Aplicação do conhecimento adquirido ao longo da formação académica**

Ao longo do período do estágio curricular, apliquei conhecimentos teóricos e práticos de algumas unidades curriculares do plano de estudos do MICEF, nomeadamente de Microbiologia Geral, Bacteriologia e Análises Bacteriológicas, Hematologia e Imunologia, Bioquímica Clínica e Virologia.

Desta forma, considero que a formação adquirida no decorrer do curso de MICEF fornece as bases teóricas e práticas necessárias para a realidade de um farmacêutico num laboratório de ANC.

### **2.2. Pontos Fracos**

#### **2.2.1. Falta de acesso ao histórico clínico dos utentes**

Para uma correta interpretação e posterior validação dos resultados analíticos obtidos, é fundamental ter acesso a informações clínicas do utente, como a medicação habitual e

patologias associadas. Contudo, nem sempre estas informações são recolhidas de forma detalhada no momento da colheita, o que dificulta o processo de validação quando os valores estão fora dos valores de referência. Para além do quadro clínico do doente, também é relevante ter acesso ao histórico de análises anteriores, o que apenas acontece quando o utente realiza as análises no mesmo laboratório. Este é um aspeto tido em conta por exemplo em utentes de diálise, que frequentemente têm valores analíticos fora dos valores normais de referência, mas que, ao considerar todo o seu historial clínico, compreende-se melhor os resultados, descartando situações de alarme que implicavam entrar em contacto com o médico prescritor.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Aprendizagem com profissionais de diferentes áreas**

A área das ANC reúne profissionais com formações académicas e experiências em diversas áreas profissionais, o que faz com que se criem equipas multidisciplinares onde a partilha de conhecimentos se torna uma constante neste ramo. Ao longo do meu estágio no LCU, tive a oportunidade de trabalhar com profissionais com diferentes formações académicas, nomeadamente nas áreas da bioquímica, biologia, microbiologia, química, engenharia, medicina, entre outras. Considero que estagiar ao lado de um leque tão diverso de profissionais foi uma mais-valia pois permitiu-me adquirir competências e estratégias de trabalho específicas, proporcionando-me uma aprendizagem multidisciplinar.

### **2.3.2. Estágio curricular numa área farmacêutica diferenciadora**

A possibilidade de realizar um estágio curricular num laboratório de ANC é, sem dúvida, uma excelente oportunidade que a FFUC oferece aos alunos de MICF. Este estágio possibilita a aplicação dos conhecimentos e competências adquiridas anteriormente numa diferente área de atuação do farmacêutico, constituindo esta oportunidade um fator diferenciador relativamente a estudantes de MICF de outras universidades do país.

Desta forma, considero que esta oportunidade enriqueceu bastante a minha aprendizagem na medida em que me permitiu adquirir uma maior diversidade de competências, tornando-me assim uma profissional mais completa.

## 2.4. Ameaças

### 2.4.1. Competitividade com outros profissionais de saúde

Como mencionado anteriormente, num laboratório de ANC colaboram profissionais com diferentes formações académicas, sobretudo técnicos de ANC e outros profissionais das mais diversas áreas da saúde. Isto constitui uma notória ameaça, uma vez que, ao longo do estágio, a competitividade entre profissionais com formações académicas distintas em determinados setores e a concorrência para o acesso a esta desafiante área profissional era uma realidade constante. Assim, considero que o farmacêutico, como profissional qualificado que é, deve afirmar-se e destacar-se, pois, possui todas as ferramentas necessárias para exercer de forma competente a sua função nesta vertente profissional.

## Casos Práticos

### *Toxoplasma gondii*

Utente do sexo feminino, com 27 anos desloca-se a um posto de colheitas Unilabs no sentido de realizar análises pois gostaria de engravidar. Os resultados obtidos das determinações imunoserológicas estão descritos na Tabela I.

**Tabela I** – Resultados obtidos nas determinações imunoserológicas realizadas no laboratório Unilabs.

<b>Análises realizadas</b>	<b>Resultados</b>	<b>Valores de referência</b>
HIV (Ac HIV-1, Ac HIV-2 e Ag p24)	Negativo	Negativo: $\leq 0,8$
Ag HBs (Hepatite B)	Negativo	Positivo: $> 5,0$ Duvidoso: $\geq 0,9$ e $< 5,0$ Negativo: $< 0,9$
Ac HBs (Hepatite B)	Positivo	Positivo: $> 12,0$ Duvidoso: $\geq 8,0$ e $< 12,0$ Negativo: $< 8,0$
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	<b>Positivo</b>	Positivo: $\geq 1,0$ Duvidoso: $\geq 0,9$ e $< 1,0$ Negativo: $< 0,9$
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG	<b>Positivo</b>	Positivo: $> 10$ Duvidoso: $\geq 6,4$ e $\leq 10$ Negativo: $< 6,4$
Avidez do Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG	<b>0,112</b>	Avidez fraca: Índice $< 0,200$ Avidez intermédia: $0,200 \leq$ Índice $< 0,300$ Avidez forte: $\geq 0,300$
Ac Anti-Rubéola IgM	Negativo	Positivo: $\geq 1,0$ Duvidoso: $\geq 0,8$ e $< 1,0$ Negativo: $< 0,8$

Ac Anti-Rubéola IgG	Positivo	Positivo: $\geq 10,0$ Duvidoso: $\geq 8,0$ e $< 10,0$ Negativo: $< 8,0$
Ac Anti-Citomegalovírus (CMV) IgM	Negativo	Positivo: $\geq 1,1$ Duvidoso: $\geq 0,9$ e $< 1,1$ Negativo: $\geq 1,1$
Ac Anti-CMV IgG	Positivo	Positivo: $\geq 1,1$ Duvidoso: $\geq 0,9$ e $< 1,1$ Negativo: $< 0,9$

**Legenda:** Ac – Anticorpo; Ag – Antígeno; HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana; IgG – Imunoglobulina G; IgM – Imunoglobulina M.

Segundo os resultados analíticos obtidos, a paciente é imune à Hepatite B, à Rubéola e ao Citomegalovírus. É seronegativa para o VIH.

Quanto à Toxoplasmose, apresenta resultados positivos confirmados para as Imunoglobulinas G e Imunoglobulinas M (IgG e IgM). Por este motivo, foi acrescentada a análise da Avidéz de Toxoplasmose, visto existir a suspeita de uma infeção recente. Esta é uma determinação que ajuda a distinguir se estamos perante uma infeção recente, com menos de 4 meses, ou uma infeção passada, com mais de 4 meses. Este exame é realizado no LCU pelo método ELFA no equipamento VIDAS®. (8, 9)

Um índice de avidéz igual ou superior a 0,300 indica que se trata de infeção passada, cuja primo-infeção ocorreu há mais de 4 meses. Uma avidéz intermédia não permite distinguir uma infeção recente de uma infeção antiga com mais de 4 meses e, por isso, deve-se sugerir uma segunda colheita após 3 ou 4 semanas.

Neste caso, a utente apresenta uma baixa avidéz (0,112), sugestiva de uma infeção recente por *Toxoplasma gondii*, pelo que se sugere repetição do perfil de toxoplasma e respetiva avidéz dentro de 3 a 4 semanas. Além disso contacta-se a utente para a importância da entrega do relatório ao seu médico assistente, que com certeza lhe irá sugerir que aguarde até que a infeção passe para que possa engravidar com segurança.

### **Anemia megaloblástica por deficiência de Vitamina B12**

Na secção de Hematologia do LCU foi recebida uma amostra de sangue de um utente do sexo masculino, de 83 anos. A amostra foi colhida em EDTA e foi realizado o hemograma com plaquetas, cujos resultados estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 2** – Resultados do hemograma.

Parâmetros	Resultados	Valores de referência	Unidades
Eritrócitos	<b>1,92</b>	4,35 – 5,65	10 <sup>12</sup> /L
Hemoglobina	<b>8,8</b>	13,2 – 16,6	g/dL
Hematócrito	<b>24,3</b>	38,3 – 48,6	%
VCM	<b>126,6</b>	78,2 – 97,6	fL
HCM	45,8	26,5 – 32,6	pg
CHCM	36,2	32,0 – 36,5	g/dL
R.D.W.	13,8	11,8 – 14,5	%
Leucócitos	5,570	3,400 – 9,600	10 <sup>9</sup> /L
Neutrófilos	3,520 (63,2%)	1,560 – 6,450	10 <sup>9</sup> /L
Eosinófilos	0,300 (5,4%)	0,030 – 0,480	10 <sup>9</sup> /L
Basófilos	0,030 (0,5%)	0,950 – 3,070	10 <sup>9</sup> /L
Linfócitos	1,440 (25,9%)	0,950 – 3,070	10 <sup>9</sup> /L
Monócitos	0,280 (5,0%)	0,260 – 0,810	10 <sup>9</sup> /L
Plaquetas	127	135 – 317	10 <sup>9</sup> /L

**Legenda:** CHCM – Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média; HCM – Hemoglobina Corpuscular Média; R.D.W. – *Red Cell Distribution Width*; VCM – Volume Corpuscular Médio.

Através da análise do hemograma é possível verificar que o número de eritrócitos, o valor de hemoglobina e o hematócrito estão abaixo dos valores de referência. Este valor de hemoglobina é sugestivo de um quadro de anemia. Para além disso, verifica-se que o valor do Volume Corpuscular Médio (VCM) se encontra aumentado, o que está associado a anemias macrocíticas. Por outro lado, as plaquetas encontram-se ligeiramente diminuídas.

Tendo em conta estes resultados, foi realizado automaticamente um esfregaço sanguíneo no equipamento SP-50 da Sysmex<sup>®</sup>, sendo que a contagem de células sanguíneas e a avaliação da sua morfologia foi efetuada de forma automática pelo equipamento CellaVision<sup>®</sup> DM96 (10). No esfregaço visualizou-se uma ligeira anisocitose (diferentes tamanhos de eritrócitos) com predominância de macrocitose e ainda a presença de neutrófilos com núcleo hipersegmentado (Anexos 1 e 2).

Estes resultados são sugestivos de uma anemia megaloblástica. Para confirmar este diagnóstico foi necessário efetuar testes complementares de modo a perceber se se tratava de uma anemia megaloblástica por deficiência de Vitamina B12 (cobalamina) e/ou por folato (Tabela 3).

**Tabela 3** – Testes complementares.

Parâmetros	Resultados	Valores de referência	Unidades
Ácido Fólico	5,85	> 5,38	ng/mL
Vitamina B12	<b>141</b>	246 - 911	pg/mL

Considerando os resultados obtidos do hemograma, as alterações morfológicas observadas no esfregaço sanguíneo e os resultados dos testes complementares (Tabela 3), é indicativo que estamos perante uma anemia megaloblástica por deficiência de Vitamina B12.

### **Considerações Finais**

Finalizados 3 meses de estágio no LCU, considero que os mesmos constituíram um período de enorme aprendizagem e enriquecimento quer a nível académico, quer a nível pessoal. Este estágio proporcionou a aplicação, em contexto real de um laboratório de ANC, de conhecimentos teóricos e práticos adquiridos ao longo do meu percurso académico na FFUC. A confiança e autonomia depositadas em mim por parte de toda a equipa na realização de diversas tarefas laboratoriais, fez-me desenvolver uma atitude proativa e o meu sentido de responsabilidade enquanto futura profissional.

Apesar do elevado fluxo de trabalho, realço a amabilidade e o apoio diário que senti por cada um dos elementos da equipa dos diversos setores, que sempre se disponibilizavam para esclarecer todas as minhas dúvidas e partilhavam comigo os seus conhecimentos e experiências profissionais, o que se refletiu num interesse crescente da minha parte por esta aliciante área de atuação farmacêutica.

Por fim, considero que o estágio curricular no LCU foi uma experiência extremamente enriquecedora e desafiante, que me proporcionou uma nova visão da importância do papel do farmacêutico num laboratório de ANC, dando-me as ferramentas necessárias para enfrentar de forma exímia o mundo de trabalho.

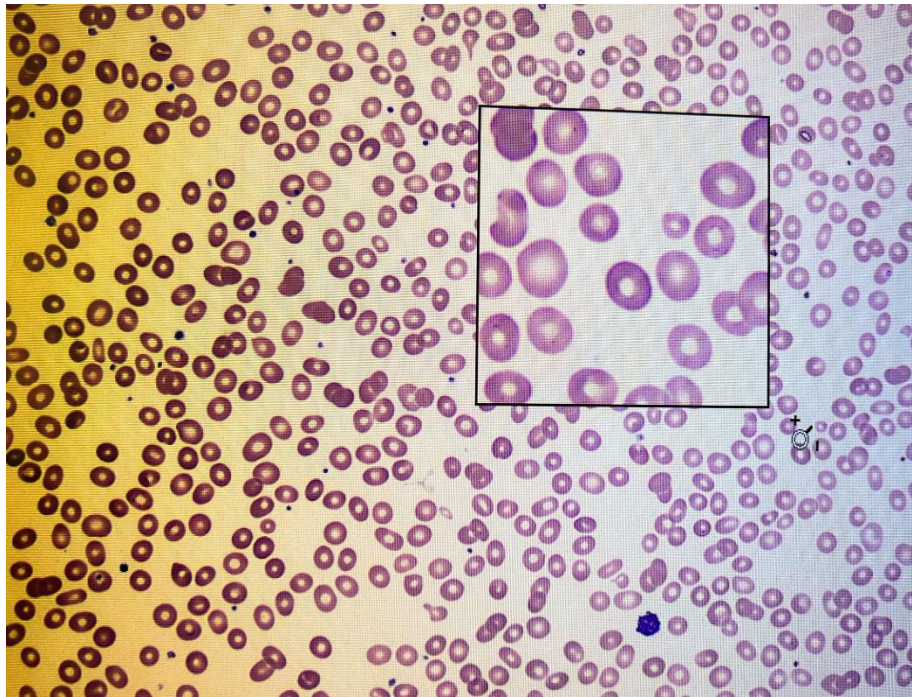


## Referências Bibliográficas

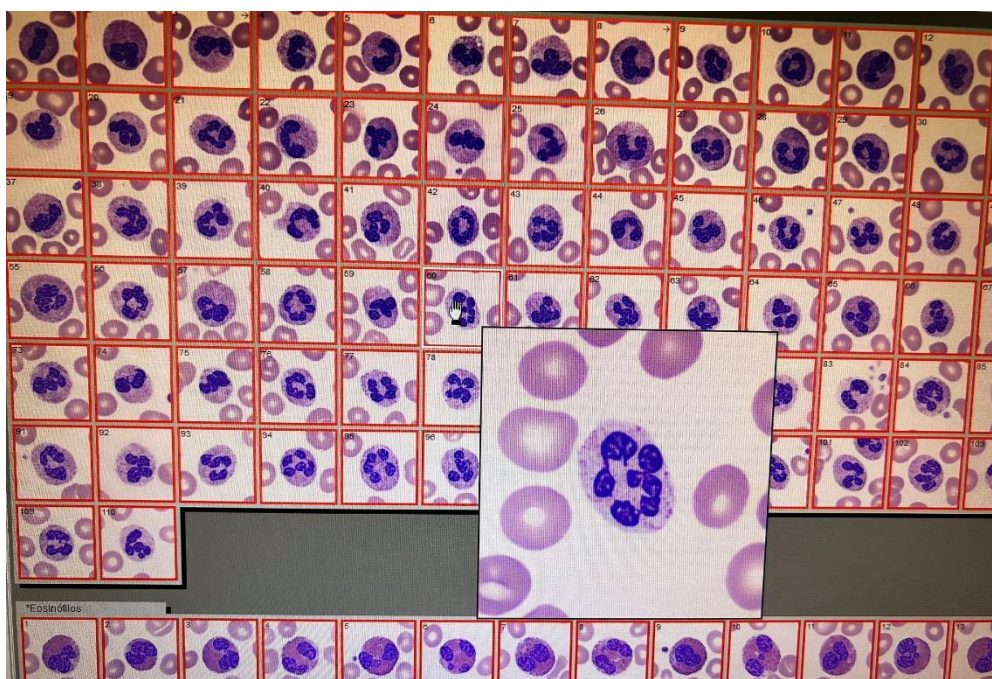
1. UNILABS – **Há uma química que nos une a Portugal**. [Acedido a 28 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.unilabs.pt/pt/a-unilabs/sobre-nos/unilabs-portugal>
2. LIPPI, Giuseppe *et al.* – Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. ISSN 14346621. 44:3 (2006) 311–316. doi: 10.1515/CCLM.2006.054.
3. BRUKER – **Microbial Identification**. [Acedido a 12 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/microbiology-and-diagnostics/microbial-identification.html>
4. BECKMAN COULTER – **MicroScan WalkAway plus System**. [Acedido a 12 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.beckmancoulter.com/products/microbiology/microscan-walkaway-plus-system>
5. SIEMENS HEALTHINEERS – **Solução Atellica de Analisadores de Imunoensaio & Química Clínica**. [Acedido a 12 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.siemens-healthineers.com/pt/integrated-chemistry/systems/atellica-solution-analyzers>
6. SIEMENS HEALTHINEERS – **IMMULITE 2000 XPi Immunoassay System**. [Acedido a 12 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.siemens-healthineers.com/pt/immunoassay/systems/immulite-2000-xpi-immunoassay-system>
7. SYSMEX – **Systemex XN-10<sup>®</sup> Automated Hematology Analyzer with Blood Bank Mode**. [Acedido a 13 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.sysmex.com/US/en/products/hematology/xnseries/pages/xn-10-automated-hematology-analyzer-with-blood-bank-mode.aspx>
8. HOLLIMAN, R. E.; BONE, G. P.; JOHNSON, J. D. – The exclusion of recent onset toxoplasma infection in patients with prolonged IgM response by the measurement of IgA and IgG avidity. **Serodiagnosis and Immunotherapy in Infectious Disease**. ISSN 08880786. 8:1 (1996) 57-59. doi: 10.1016/S0888-0786(96)80022-9.
9. JOYNSON, D. H. M.; PAYNE, R. A.; RAWAL, B. K. – Potential role of IgG avidity for diagnosing toxoplasmosis. **Journal of Clinical Pathology**. ISSN 00219746. 43:12 (1990) 1032–1033. doi: 10.1136/jcp.43.12.1032.
10. SYSMEX – **CellaVision<sup>®</sup> DM96**. [Acedido a 30 julho de 2023]. Disponível em: [https://www.sysmex.com/US/en/products/hematology/cellimageanalysis/documents/brochure\\_dm96.pdf](https://www.sysmex.com/US/en/products/hematology/cellimageanalysis/documents/brochure_dm96.pdf)

## Anexos

**Anexo 1** - Esfregaço de sangue periférico (imagem retirada do equipamento CellaVision® DM96). Neste campo é possível observar a presença de eritrócitos com diferentes tamanhos (anisocitose) e células macrocíticas.



**Anexo 2** - Presença de neutrófilos com núcleo hipersegmentado no esfregaço sanguíneo (imagem retirada do equipamento CellaVision® DM96).



## **PARTE III**

### **Monografia**

**“O Papel da Microbiota Intestinal Infantil nas Alergias Alimentares”**

Sob orientação da Professora Doutora Sara Margarida dos Santos Domingues

## **Lista de Abreviaturas**

APCs – Células Apresentadoras de Antígenos, do inglês *Antigen-Presenting Cells*

APLV – Alergia à Proteína do Leite de Vaca

BPB – Bactérias Produtoras de Butirato

FMT – Transplante de Microbiota Fecal, do inglês *Fecal Microbiota Transplantation*

FOS – Fruto-oligossacarídeos

GOS – Galacto-oligossacarídeos

HMOs – Oligossacarídeos do leite humano, do inglês *Human milk oligosaccharides*

Ig – Imunoglobulina

IL – Interleucina

OMS – Organização Mundial de Saúde

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio, do inglês *Reactive Oxygen Species*

SCFA – Ácidos Gordos de Cadeia Curta, do inglês *Short Chain Fatty Acids*

TGF- $\beta$  – Fator de Transformação do Crescimento beta, do inglês *Transforming Growth Factor beta*

TGI – Trato Gastrointestinal

Th2 – T *helper* 2

Treg – Célula T reguladora, do inglês *Regulatory T cell*

UFC – Unidades Formadoras de Colónias

## Resumo

O intestino humano é colonizado por um conjunto de microrganismos que inclui bactérias, fungos e vírus, os quais residem no nosso corpo, constituindo a microbiota intestinal. Cada ser humano apresenta um perfil único de microrganismos que exerce inúmeras funções essenciais à vida humana, atuando no metabolismo de nutrientes, na proteção contra microrganismos patogênicos, na imunomodulação e na manutenção da integridade intestinal.

Fatores como o tipo de parto e a alimentação infantil, entre outros, podem influenciar o estabelecimento de determinados microrganismos na microbiota intestinal durante a infância. A colonização da microbiota tem início antes do nascimento e o seu desenvolvimento, sobretudo até aos 3 anos, assume grande importância no crescimento e maturação do sistema imunitário. Contudo, uma perturbação na homeostase intestinal – disbiose – e consequente desequilíbrio na composição bacteriana pode levar ao desenvolvimento de várias patologias, como a alergia alimentar.

Nos dias de hoje, a alergia alimentar é uma das doenças alérgicas mais prevalentes na população infantil. Estudos recentes têm-se debruçado sobre o papel da microbiota intestinal e dos seus metabolitos nos mecanismos subjacentes à alergia alimentar. Embora algumas estratégias terapêuticas baseadas na modulação da microbiota se tenham revelado promissoras no tratamento da alergia alimentar, ainda há um longo caminho a percorrer.

**Palavras-chave:** Microbiota intestinal infantil; Alergia alimentar; Disbiose; Diversidade bacteriana; Saúde; Tolerância imunitária.

## **Abstract**

The human gut is colonised by a set of microorganisms including bacteria, fungi and viruses, which reside in our body, constituting the gut microbiota. Each human being has a unique profile of microorganisms that perform numerous functions essential to human life, acting in the metabolism of nutrients, protection against pathogenic microorganisms, immunomodulation and maintenance of intestinal integrity.

Factors such as type of delivery and infant feeding, among others, can influence the establishment of specific microorganisms in the gut microbiota during infancy. Colonisation of the microbiota begins before birth and its development, especially up to the age of three, is of great importance in the growth and maturation of the immune system. However, a perturbation in intestinal homeostasis – dysbiosis – and consequent imbalance in bacterial composition can lead to the development of various pathologies, such as food allergy.

Nowadays, food allergy is one of the most prevalent allergic diseases in children. Recent studies have focused on the role of the gut microbiota and its metabolites in the mechanisms underlying food allergy. Although some therapeutic strategies based on microbiota modulation have shown promising in the treatment of food allergy, there is still a long way to go.

**Keywords:** Infant gut microbiota; Food allergy; Dysbiosis; Bacterial diversity; Health; Immune tolerance.

## 1. Introdução

O organismo humano é o ecossistema ideal de mais de 40 triliões de bactérias que residem nas mais diversas partes do nosso corpo, desde a mucosa oral, pele, vias respiratórias até ao intestino (1). Na verdade, é no trato gastrointestinal (TGI) que encontramos a maior diversidade e complexidade de bactérias e outros microrganismos como fungos, vírus, protozoários e *archaea* (2, 3). A comunidade bacteriana existente nesta região é de cerca de  $10^{14}$  bactérias, o que corresponde a aproximadamente 10 vezes a quantidade total de células do corpo humano (4). Este vasto conjunto de microrganismos designa-se por microbiota intestinal, a qual desempenha um papel fundamental na manutenção da homeostase do hospedeiro (1). Atualmente, sabe-se que a colonização da microbiota intestinal tem início antes do nascimento, em ambiente uterino, estabilizando por volta dos 3 anos de idade. Além disso, sabe-se que o desenvolvimento da microbiota ao longo dos primeiros anos de vida está relacionado com o crescimento e maturação do intestino e do sistema imunitário (1, 3, 5).

Porém, um desequilíbrio na composição da microbiota, denominado de disbiose, pode colocar em risco a saúde do hospedeiro, contribuindo para o desenvolvimento de várias doenças, incluindo doenças alérgicas como a asma e as alergias alimentares, doenças intestinais, diabetes, obesidade, entre outras (1, 6). Fatores como o tipo de parto, a dieta ao longo da infância (leite materno ou leite em fórmula), o uso de antibióticos e o ambiente envolvente moldam a composição e o desenvolvimento da microbiota intestinal e consequentemente, o efeito desta no sistema imunitário (3, 5, 7).

Na presente monografia será abordada a relação entre a microbiota intestinal infantil e os fatores externos que influenciam o seu desenvolvimento e composição e o seu impacto no aparecimento de doenças alérgicas, nomeadamente de alergias alimentares.

## 2. Microbiota Intestinal

A utilização de tecnologias de sequenciação genética de elevado rendimento veio proporcionar uma nova perspetiva acerca do mundo da microbiota intestinal, uma vez que, até há uns anos atrás, a maioria do conhecimento sobre esta área provinha de técnicas baseadas em cultura em que apenas era possível isolar 10-25% da microbiota. Esta problemática era reflexo do facto da maior parte dos microrganismos existentes no intestino serem anaeróbios e não serem cultiváveis. Anos mais tarde, graças aos progressos nestes métodos de cultura anaeróbios, foi possível descobrir alguns dos géneros bacterianos dominantes da microbiota, como é o caso de *Bacteroides*, *Clostridium* e *Bifidobacterium*.

Contudo, estas técnicas apresentavam limitações pois eram muito morosas e não permitiam estudar com detalhe as características de colónias de uma cultura formada por várias espécies (2, 4). Assim, nos dias atuais, uma das técnicas mais utilizadas é a sequenciação do gene do ácido ribonucleico ribossomal 16S por se tratar de um gene presente em todas as bactérias, permitindo assim diferenciar facilmente as espécies (4).

Vários foram os projetos desenvolvidos com o intuito de compreender a microbiota intestinal e a relação simbiótica entre os microrganismos intestinais e os seus hospedeiros. Destaca-se o “Projeto do Microbioma Humano”, desenvolvido na Europa, que teve como principal objetivo conhecer o genoma microbiano de modo a compreender como é que o microbioma pode impactar o desenvolvimento de doenças humanas (8, 9). O microbioma é o conjunto de genes expressos pelos microrganismos que residem no nosso organismo e que contribuem para um ecossistema específico (3, 6).

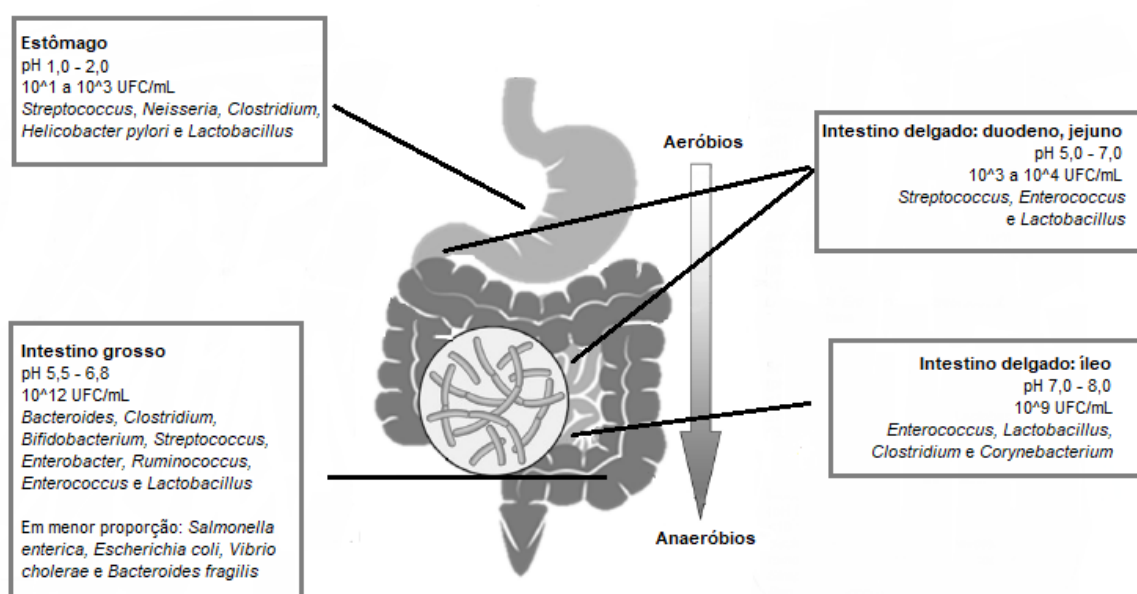
## **2.1. Composição e Desenvolvimento da Microbiota Intestinal**

Ao longo do tempo, o intestino infantil vai sendo colonizado por espécies que são características do ser humano (10). Estas espécies, ao habitarem no nosso TGI, desempenham um papel crucial no estado de saúde do indivíduo, podendo estabelecer diferentes tipos de relações: patogénicas, em que os microrganismos prejudicam o hospedeiro; comensais, quando uma das partes beneficia, não prejudicando a outra e simbióticas, onde ambos os parceiros beneficiam mutuamente (6).

À semelhança de um adulto, a microbiota intestinal infantil é constituída maioritariamente por microrganismos provenientes dos filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* e *Proteobacteria* (2, 4, 7, 11, 12, 13). Contudo, durante as primeiras semanas de vida, a microbiota infantil possui uma limitada diversidade de bactérias, dominada principalmente por proteobactérias como *Escherichia* e por actinobactérias como *Bifidobacterium*. No decorrer do primeiro ano, a microbiota vai evoluindo, adquirindo espécies provenientes de novo filos como *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, contribuindo assim para o desenvolvimento de uma microbiota rica e completa. Por volta dos 3 anos de idade, a microbiota infantil atinge a estabilidade e estabelece-se para o resto da vida (3, 4, 7, 11).



Apesar de existir uma predominância de filamentos, o conteúdo microbiano ao longo do TGI não é exatamente o mesmo, apresentando diferenças ao nível da diversidade e do número de microrganismos (2). Estas diferenças devem-se ao facto de existirem microambientes distintos em cada um dos compartimentos anatómicos (estômago, intestino delgado e intestino grosso) assim como devido à presença de uma barreira físico-química que condiciona o crescimento de uma microbiota específica (8). Assim, o número e a diversidade de bactérias vão aumentando ao longo do TGI, sendo que no estômago existem  $10^1$  a  $10^3$  bactérias por grama, enquanto no cólon existem aproximadamente  $10^{12}$  células bacterianas por grama (Figura 1) (2, 14).



**Figura 1** – Composição da microbiota intestinal normal nas diferentes zonas anatómicas do intestino. Adaptado de (2), (8) e (14).

Ao contrário do que se pensava, o estômago não é estéril sendo por esse motivo também colonizado por estirpes bacterianas, sendo que 65% dos seus filotipos têm origem na boca. Normalmente, habitam neste microambiente estirpes bacterianas resistentes aos ácidos biliares, como é o caso de *Streptococcus*, *Neisseria*, *Clostridium*, *Helicobacter pylori* e *Lactobacillus*.

O intestino delgado está dividido em 3 partes: duodeno, jejuno e íleo (Figura 1). O duodeno é caracterizado por apresentar baixo pH (5,0-7,0), elevado trânsito intestinal e abundância em oxigênio e em agentes antimicrobianos, limitando assim a densidade bacteriana ( $10^3-4$  unidades formadoras de colónias (UFC)/mL) e, conseqüentemente, a sua diversidade. Desta forma, os filamentos *Firmicutes* e *Actinobacteria* são os mais abundantes neste local. Tal como acontece no duodeno, o microambiente do jejuno propicia o desenvolvimento de

microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos, dos quais se destacam *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Lactobacillus*. Na passagem para o íleo, verifica-se um aumento da densidade microbiana ( $10^9$  UFC/mL) e uma abundância de espécies aeróbias na parte proximal e anaeróbias na parte distal do íleo.

O intestino grosso é o local onde ocorre o processo de fermentação dos alimentos não digeridos e a absorção de água, uma vez que se trata de uma zona anaeróbia em que o trânsito intestinal é mais lento. A densidade bacteriana neste local atinge os  $10^{12}$  UFC/mL onde predominam os microrganismos anaeróbios. Desta forma, os géneros bacterianos presentes nesta região do corpo humano incluem *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacter*, *Ruminococcus*, *Enterococcus* e *Lactobacillus*, podendo ainda existir, em menor proporção, agentes patogénicos como *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* e *Bacteroides fragilis* (2, 8, 13, 14).

## 2.2. Funções da Microbiota Intestinal e o seu Papel na Homeostase

A microbiota intestinal desempenha funções metabólicas, estruturais, protetoras e imunológicas que permitem assegurar um estado de homeostase num indivíduo saudável (8).

É no TGI que ocorre o metabolismo dos alimentos da dieta, onde o amido resistente e os oligossacáridos tais como os fruto-oligossacarídeos (FOS) e os galacto-oligossacarídeos (GOS) conseguem escapar à digestão efetuada pelas enzimas digestivas do hospedeiro no intestino delgado, sofrendo metabolização no intestino grosso por parte de enzimas presentes em microrganismos dos géneros *Bacteroides* e *Firmicutes*. Os produtos metabólicos produzidos por estes microrganismos resultam na libertação de alguns gases como o dióxido de carbono e na síntese de ácidos gordos de cadeia curta (SCFA). Outra função metabólica importante da microbiota é a sua atividade na síntese de várias vitaminas como a biotina, tiamina, cobalamina, vitamina B e vitamina K (2, 13). Além disso, a microbiota intestinal desempenha funções vitais na manutenção do sistema epitelial uma vez que controla a proliferação e diferenciação de células epiteliais. Ao colonizar a superfície da mucosa, a microbiota tem um papel fundamental na proteção contra microrganismos patogénicos uma vez que bloqueia a adesão destes agentes à superfície intestinal. Apresenta também funções ao nível da maturação e modulação do sistema imunitário (13, 15).

Os SCFA, principais produtos finais do metabolismo das fibras alimentares, como o acetato, o butirato e o proprionato, têm demonstrado um papel fundamental na obtenção de energia para o hospedeiro e na manutenção da integridade intestinal (2, 8, 16, 17). O acetato,

abundante no sangue periférico, funciona como fonte energética para os tecidos periféricos, mas também apresenta funções ao nível do fígado, na lipogénese e biossíntese do colesterol. O butirato, em particular, fornece energia aos colonócitos humanos e regula a homeostase energética uma vez que estimula a produção de leptina por parte das células enteroendócrinas (8, 18). Além disso, o butirato tem capacidade de ativar a gluconeogénese intestinal, controlando os níveis de glicémia. A conversão de propionato a glucose através da via da gluconeogénese no intestino contribui para a homeostase energética, reduzindo assim a síntese de glucose no fígado (19). Também têm sido estudados os efeitos anti-inflamatórios e anti-carcinogénicos dos SCFA a nível intestinal devido à sua capacidade de diminuir a atividade da enzima histona desacetilase nas células do cólon e nas células do sistema imunitário (13, 20).

### **2.3. Disbiose Intestinal**

O bom funcionamento do intestino humano implica a estabilidade composicional e funcional da microbiota intestinal. Todavia, vários fatores podem provocar mudanças na composição celular da microbiota, levando a um estado de desequilíbrio conhecido como disbiose (18, 21). O conceito de disbiose é definido como uma alteração composicional e funcional da microbiota, estimulada por fatores ambientais e do próprio hospedeiro e consequente quebra na homeostase, podendo culminar no desenvolvimento de diversas patologias (21, 22). Normalmente, apenas um fator não é suficientemente capaz de induzir um estado de disbiose, uma vez que a microbiota tem capacidade de se adaptar quer às mudanças ambientais quer à disponibilidade de nutrientes no meio. No entanto, quando há presença de vários fatores, a estabilidade da microbiota é afetada, podendo levar a alterações nefastas que conduzem a condições patológicas. A disbiose é caracterizada pela diminuição abrupta da diversidade de microrganismos intestinais e pelo crescimento de alguns grupos bacterianos como as proteobactérias (18).

Este desequilíbrio na microbiota pode perturbar a integridade da barreira epitelial do intestino humano, proporcionando a entrada de antigénios na corrente sanguínea e, consequentemente, a ativação anormal do sistema imunitário (22). Estas alterações na comunidade microbiana intestinal podem ser exacerbadas pelo efeito do *stress* oxidativo ou pela atividade de bacteriófagos e bacteriocinas. Numa situação de inflamação intestinal ocorre infiltração de glóbulos brancos e produção de espécies reativas de oxigénio (ROS). O *stress* oxidativo provoca uma redução abrupta da diversidade microbiana, em particular das espécies anaeróbias obrigatórias devido à sua suscetibilidade para a intoxicação por oxigénio. Por outro

lado, as ROS facilitam o crescimento de alguns grupos bacterianos através do processo de respiração anaeróbia, como acontece com algumas bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, nomeadamente dos géneros *Salmonella* e *Citrobacter* que oxidam compostos na presença de ROS, sendo estes posteriormente utilizados na cadeia respiratória bacteriana.

Ao mesmo tempo, o processo inflamatório pode ativar fagos existentes no intestino, promovendo a lise bacteriana e consequente perda de várias espécies bacterianas. Os constituintes celulares libertados resultantes da lise bacteriana são detetados pelo sistema imunitário do hospedeiro como padrões moleculares associados a agentes patogénicos. Deste modo, há ativação do sistema imunitário e da ação lítica dos fagos, favorecendo um ambiente de disbiose intestinal. Em condições de stress, há estimulação da síntese de bacteriocinas que atuam através da competição com outras bactérias por nutrientes no cólon, levando ao aumento das mudanças na composição da microbiota (18).

Perante um estado de disbiose pode ocorrer expansão de patobiontes que correspondem a elementos da microbiota comensal potencialmente patogénicos, perda de diversidade microbiana ou perda de comensais. Estes três tipos de disbiose estão interligados na medida em que, na sua maioria, acontecem simultaneamente. Isto significa que, por exemplo, uma expansão de patobiontes pode estar acompanhada de uma redução de comensais ou mesmo de uma perda de diversidade. Membros da família *Enterobacteriaceae* residem em baixa abundância na microbiota intestinal, contudo, quando há alterações neste ecossistema, estas bactérias conseguem proliferar, exercendo efeitos nefastos para o organismo humano uma vez que atuam como patobiontes. Tal atividade pode levar a grandes perdas de diversidade da microbiota, incluindo membros favoráveis para a manutenção da homeostase intestinal (21).

#### **2.4. Fatores que influenciam a Microbiota Intestinal Infantil**

Depois do nascimento, a microbiota de uma criança enfrenta um ciclo de modificações, tornando a sua adaptação ao meio exterior um processo complexo. Embora ocorra uma estabilização ao nível da colonização da microbiota intestinal por volta dos 3 anos de idade, sabe-se que esta apresenta elevada variabilidade interindividual, o que significa que apesar de existir um claro predomínio de famílias bacterianas ao longo da população, poderão existir diferenças ao nível das espécies presentes entre indivíduos. Estas variações devem-se ao facto de existirem fatores que afetam a microbiota do TGI humano. Dentro destes fatores destaca-se a idade gestacional, o tipo de parto, a genética do hospedeiro, a geografia, o uso de medicamentos, nomeadamente antibióticos, e a alimentação infantil (1, 2, 11, 13, 23, 24, 25).

### 2.4.1. Idade Gestacional

A idade gestacional é um dos fatores determinantes na colonização da microbiota intestinal infantil. Existem notórias diferenças na composição da microbiota entre recém-nascidos prematuros, com idade gestacional inferior a 37 semanas, e recém-nascidos a termo, ou seja, bebês que completaram o período normal de gestação. Num recém-nascido prematuro existe um risco acrescido de disbiose uma vez que este apresenta um TGI bastante imaturo. Além disso, estes bebês apresentam uma colonização bacteriana tardia e reduzida diversidade bacteriana, sendo maioritariamente colonizados por espécies potencialmente patogênicas das quais se destacam as bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, como *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp.

Pelo contrário, um recém-nascido a termo saudável é caracterizado por uma elevada diversidade bacteriana, onde predominam espécies benéficas como *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Weissella* (2, 23, 26, 27).

Como referido anteriormente, no primeiro ano de vida, a composição da microbiota é pouco diversificada e altamente instável, o que faz com que esta se torne vulnerável aos vários fatores que influenciam a sua colonização. Apenas por volta dos 3 anos é que esta se torna estável e rica em diversidade bacteriana, com predomínio dos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* (27).

### 2.4.2. Tipo de Parto

No passado, pensava-se que o TGI de um feto era estéril até ao momento em que contactava com microrganismos provenientes da mãe ou do ambiente circundante durante o nascimento. Contudo, estudos recentes revelaram não só que o feto não era estéril como também que a colonização intestinal teria início antes do nascimento, uma vez que demonstraram a existência de componentes bacterianos no líquido amniótico, nas membranas fetais, no cordão umbilical, na placenta e no mecônio (2, 7, 25, 27, 28).

Consoante o tipo de parto, vaginal ou cesariana, a colonização intestinal do recém-nascido será diferente visto que os microrganismos residentes na vagina materna são distintos dos que colonizam a membrana cutânea (29, 30, 31). Bactérias da ordem *Bacteroidales* e *Enterobacteriales* são abundantes no trato vaginal e no intestino, enquanto na pele habitam maioritariamente bactérias pertencentes às ordens *Bacillales* e *Lactobacillales* (1).

Assim, no caso de o parto ser por via vaginal, haverá colonização por microrganismos presentes no trato vaginal, nomeadamente bactérias dos géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Prevotella* e *Sneathia* (1, 2, 23, 27, 30, 32). As bactérias do género *Bifidobacterium* são consideradas benéficas para o organismo humano pois estão relacionadas com a saúde intestinal, protegendo o TGI de agentes patogénicos (30). A microbiota intestinal destes bebés apresenta predomínio de algumas espécies como *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium catenulatum* e de bactérias anaeróbias facultativas como é o caso de *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis* e *Streptococcus* spp. (23).

Por outro lado, os bebés nascidos por cesariana apresentam um padrão de colonização distinto dos nascidos por parto vaginal dado que não entram em contacto com os microrganismos da vagina materna. Desta forma, a microbiota intestinal destes bebés torna-se semelhante à microbiota presente na pele da mãe, adquirindo por vezes bactérias provenientes do ambiente hospitalar. Estes recém-nascidos apresentam reduzida diversidade bacteriana, caracterizada por uma menor abundância em *Bacteroides* spp. e predomínio de *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e *Propionibacterium* spp. (3, 7, 8, 11, 23, 25, 27, 31).

Tais diferenças na colonização da microbiota intestinal infantil têm tendência a diminuir ao longo do primeiro ano de vida, no entanto, estas variações na composição bacteriana podem ter implicações a longo prazo nas crianças que nascem por cesariana e, por isso, estes bebés têm maior probabilidade de desenvolver várias patologias como a asma, doença inflamatória intestinal e maior risco de aparecimento de alergias alimentares (7, 8, 23, 25).

Um estudo recente incluiu 68 crianças nascidas por cesariana e verificou que a aplicação de secreções da microbiota vaginal da mãe no bebé restabelecia o equilíbrio da microbiota intestinal infantil, tornando a microbiota destas crianças mais semelhante à microbiota de crianças nascidas por parto vaginal, o que demonstrou ser vantajoso para o seu desenvolvimento neurológico (33).

### **2.4.3. Genética do Hospedeiro**

Vários estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de demonstrar que o código genético do hospedeiro influencia a composição da microbiota intestinal. A grande maioria estuda as variações de composição entre a microbiota fecal de gémeos homozigóticos e indivíduos sem qualquer grau de parentesco. Os resultados demonstram que existe maior grau de semelhança entre gémeos homozigóticos e a sua mãe do que entre pessoas não familiares (8, 9, 24, 27, 34). Há evidências que demonstram ainda que gémeos homozigóticos que viveram

separados ao longo de vários anos apresentam maior similaridade no que toca à microbiota fecal comparativamente com casais que vivem juntos e que têm o mesmo tipo de alimentação (13). Estas observações confirmam o papel preponderante do genótipo do hospedeiro na composição bacteriana do intestino humano (8, 13, 24, 27, 34).

#### **2.4.4. Geografia**

Para além dos fatores mencionados anteriormente, o impacto geográfico também parece influenciar a diversidade e composição da microbiota intestinal (8, 13, 24, 35). O efeito da origem geográfica relaciona-se com o facto de diferentes populações terem hábitos distintos, diferentes estilos de vida ou práticas culturais características de cada comunidade.

Estudos recentes demonstram notórias diferenças entre a microbiota de uma criança europeia ou norte americana e a microbiota de uma criança africana ou sul americana. Para além disso, verificou-se que bebés nascidos no norte da Europa apresentavam predomínio do género *Bifidobacterium* enquanto que bebés do sul da Europa possuíam uma microbiota mais diversificada e abundante em *Bacteroides*. No entanto, em nenhum dos estudos foi possível excluir outros fatores influenciadores como a dieta e a genética, de modo que estas diferenças na composição bacteriana podem não ser exclusivamente justificadas como resultado do efeito da geografia (24).

#### **2.4.5. Utilização de Antibióticos**

A exposição a antibióticos afeta drasticamente a diversidade bacteriana, sendo que o seu uso durante a gravidez conduz a alterações quer na microbiota intestinal quer na microbiota vaginal, podendo levar a modificações na colonização intestinal normal do recém-nascido (36). Contudo, o efeito do uso destes medicamentos varia consoante a classe do antibiótico, dose, via de administração utilizada e a duração do tratamento (1, 13, 27).

Esta classe terapêutica também parece apresentar efeitos ao nível da expressão genética, da atividade das proteínas e no metabolismo da microbiota, interferindo assim no desenvolvimento do próprio organismo e na ação do sistema imunitário (7, 36, 37). Após a administração destes fármacos, há uma diminuição abrupta da diversidade bacteriana. Geralmente, os seus efeitos na microbiota intestinal são temporários, ocorrendo recuperação da composição da microbiota no final da exposição ao antibiótico, embora nem sempre se verifique um restabelecimento total das espécies residentes (1, 2, 7, 10, 27, 37). A título de

exemplo, a administração de macrólidos em crianças levou a uma redução duradoura nos filos *Firmicutes* e *Actinobacteria*, acompanhada de um aumento de *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* (18).

Estudos sobre a exposição a antibióticos em recém-nascidos prematuros demonstram uma clara perda de diversidade bacteriana, como é o caso de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, e um aumento de patobiontes, de que são exemplo bactérias pertencentes ao filo *Proteobacteria* (10, 12). O uso recorrente destes fármacos pode provocar um forte desequilíbrio homeostático, criando desta forma um ambiente propício para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos com resistência aos antibióticos (10, 18). Revelou-se também uma associação entre a administração de antibióticos durante a gravidez e início de vida e o aumento do risco de desenvolvimento de alergias em crianças (7, 36).

#### **2.4.6. Alimentação Infantil**

Após o nascimento, um dos fatores que mais modula a microbiota intestinal é a alimentação infantil (6, 13, 16, 25).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), é recomendado que a alimentação do lactente seja exclusivamente de leite materno durante os primeiros 6 meses de vida, sendo que a amamentação deve ser mantida juntamente com a diversificação alimentar até aos 12 a 24 meses (16, 38). Assim, importa realçar os benefícios do leite materno e o seu impacto na microbiota infantil uma vez que, ao longo dos anos, o uso de fórmulas infantis tem crescido exponencialmente pelas mais variadas razões (2).

##### **2.4.6.1. Leite Materno**

Para além de contribuir para o correto desenvolvimento fisiológico e neurocognitivo da criança, o leite materno possui compostos biologicamente ativos que influenciam a estabelecimento inicial da microbiota intestinal (25, 39).

O leite humano é constituído por água, imunoglobulinas (IgM, IgG e IgA), fatores de crescimento, compostos lipídicos, proteínas, hidratos de carbono e oligossacarídeos do leite humano (HMOs), estruturas moleculares complexas únicas do leite materno (25, 28). Os HMOs são prebióticos e representam o terceiro componente mais numeroso do leite materno, a seguir à lactose e aos lípidos. Estes HMOs, resistentes às enzimas digestivas, quando chegam ao intestino grosso, promovem o crescimento seletivo de bifidobactérias, as quais estão presentes em grande número nos recém-nascidos amamentados por leite materno até à introdução de alimentos sólidos. Como produtos da digestão dos HMOs, os SCFA



contribuem para o fornecimento de energia e para a diminuição do pH do lúmen intestinal, o que leva à inibição do crescimento de espécies patogénicas (28, 39).

Em relação à composição da microbiota intestinal, as crianças amamentadas por leite materno apresentam uma microbiota maioritariamente colonizada por *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* e *Staphylococcus* (25, 28, 38, 40, 41). Para além destas, também estão presentes bactérias de Gram-negativo como *Serratia*, *Pseudomonas* e algumas bactérias características da mucosa oral como *Veillonella*, *Prevotella* e *Leptotrichia* (25).

#### **2.4.6.2. Fórmulas Infantis**

Como resposta aos diversos motivos pelos quais o leite materno não é utilizado como a única fonte láctea da criança, surgiram as fórmulas infantis, que podem ser usadas como complemento da alimentação do lactente ou mesmo de forma exclusiva (42). Nos dias de hoje, a composição destas fórmulas é continuamente melhorada, no sentido de mimetizar o leite materno (25, 43). A incorporação de alguns oligossacarídeos nestes leites em fórmula promove o enriquecimento da microbiota destes bebés com *Bifidobacterium*, no entanto, a ausência de HMOs e o considerável conteúdo proteico, característico destas fórmulas, proporcionam uma maior diversidade bacteriana e abundância em bactérias (potencialmente) patogénicas como *Clostridioides difficile* e *Enterobacteriaceae* (como *Escherichia coli*) com metabolismos intestinais proteolíticos, podendo conduzir a efeitos potencialmente nefastos para a saúde (4, 16, 25, 28, 41).

A microbiota intestinal destas crianças é constituída principalmente por microrganismos anaeróbios como *Clostridium* e *Bacteroides*, porém também estão presentes *Granulicatella*, *Citrobacter*, *Bilophila* e *Enterobacter*. Todos estes fatores sugerem que a microbiota dos bebés amamentados com leite materno é mais favorável para a manutenção da homeostase do organismo (2, 4, 8, 25, 41).

Embora as diferenças entre a microbiota de bebés amamentados e bebés alimentados com fórmula sejam evidentes, o género predominante em ambos os grupos é *Bifidobacterium* e *Enterobacteriaceae* é a segunda família mais representativa (43).

#### **2.4.6.3. Introdução de Alimentos Sólidos**

A introdução de novos alimentos sólidos ocorre, normalmente, entre os 4 e os 6 meses de idade. A diversificação alimentar deve ser efetuada gradualmente, uma vez que a microbiota da criança terá que enfrentar uma enorme mudança ao nível da sua população

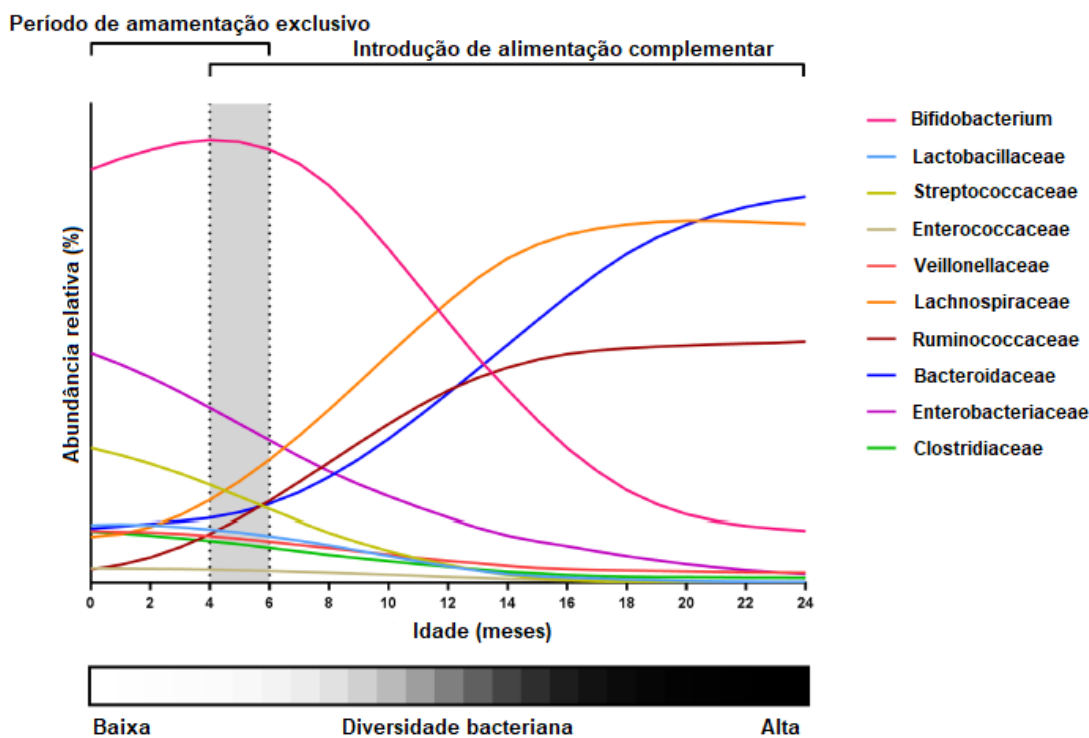
bacteriana intestinal, caracterizada pelo aumento da diversidade bacteriana e pela transição de um predomínio de *Bifidobacterium* para *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (6, 16, 25, 27, 38, 44).

Posteriormente à introdução de alimentação complementar, o perfil da microbiota dos bebés amamentados e alimentados com fórmula começam a tornar-se semelhantes e aproximam-se da microbiota de um adulto. Todavia, há quem refira que estas semelhanças não se devem ao facto de a criança iniciar a diversificação alimentar, mas sim devido à descontinuação do leite da mãe (28).

Um estudo realizado com 330 crianças dinamarquesas verificou que o número de bactérias pertencentes às famílias *Lactobacillaceae*, *Enterococcaceae*, *Bifidobacteriaceae* e *Enterobacteriaceae* diminuiu no decorrer dos 9 aos 18 meses, período coincidente com a transição da dieta à base de leite para a introdução de alimentos sólidos na dieta. Pelo contrário, a abundância de *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae* e *Lachnospiraceae* aumentou significativamente. Estes resultados são concordantes com a maioria dos estudos realizados neste âmbito (45).

Para além disso, sabe-se que o consumo de alimentos como pão, que contém arabinoxilanos, de lacticínios, que possuem caseína na sua constituição, e de produtos cárneos, aumenta o número de bactérias pertencentes a *Ruminococcaceae* (*Faecalibacterium* e *Ruminococcus*) e *Lachnospiraceae*. Tal facto indica que para além da duração do período de amamentação, a ingestão de fibras alimentares e de proteína também demonstra ser responsável pelo aumento da diversidade na microbiota intestinal infantil durante o período de diversificação alimentar. Contudo, não há estudos suficientes que comprovem que o consumo excessivo destes macronutrientes nos primeiros anos de vida seja favorável para a saúde infantil (16, 45).

Assim, o período de amamentação exclusivo é caracterizado por um predomínio de *Bifidobacterium* associado, em menor número, a outras bactérias do leite materno como *Veillonellaceae*, *Lactobacillaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae* e *Streptococcaceae*. Com a introdução de novos alimentos sólidos, a composição da microbiota altera-se e a diversidade bacteriana aumenta substancialmente, com destaque para as famílias *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* e *Bacteroidaceae*. Ao mesmo tempo verifica-se uma diminuição da abundância relativa de *Bifidobacterium*, *Lactobacillaceae*, *Veillonellaceae*, *Enterococcaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Clostridiaceae* (Figura 2) (45).



**Figura 2** – Abundância dos *taxa* bacterianos durante os primeiros 24 meses de vida. Adaptado de (45).

### 3. Alergias Alimentares

As alergias alimentares têm-se tornado um problema de saúde pública cada vez mais preocupante, afetando aproximadamente 8 a 10% da população infantil (46, 47, 48). A alergia alimentar é definida como uma resposta imunitária específica que pode ser mediada por IgE, não mediada por IgE ou mista (quando apresenta mecanismos dependentes e independentes de IgE), a quando da exposição a um determinado alimento (12, 47, 48, 49, 50). Embora qualquer alimento seja capaz de desencadear uma reação alérgica, alguns gêneros alimentícios provocam frequentemente este tipo de reações, entre os quais o leite, o ovo, o amendoim, o peixe, o trigo e a soja (3, 32, 38, 47, 48, 51).

O aumento da sua prevalência nas últimas 2 a 3 décadas tem despertado interesse por parte da comunidade científica de forma a entender as causas para o acentuado crescimento da incidência desta doença, particularmente nos países ocidentalizados e industrializados (32, 47, 50, 52). Apesar da predisposição genética ter um papel inequívoco no aumento da incidência das alergias alimentares, não é suficientemente forte para justificar um crescimento tão significativo. Vários fatores têm sido associados ao desenvolvimento de alergias, em particular das alergias alimentares, entre os quais se destacam a utilização de antibióticos, a dieta, o tipo de parto (parto normal versus cesariana), a melhoria das condições de higiene e a exposição a animais de estimação (1, 22, 29, 39, 48). Curiosamente, a maioria destes fatores

também afetam o desenvolvimento e maturação da microbiota intestinal infantil, o que indica que a disbiose intestinal pode estar envolvida no aparecimento neste tipo de doença alérgica (1, 6, 25, 39, 52).

### **3.1. Hipótese de Higiene**

Como referido anteriormente, a prevalência das doenças alérgicas e, em particular, das alergias alimentares tem aumentado exponencialmente ao longo dos anos. Para tentar explicar este rápido crescimento foram desenvolvidas várias teorias, das quais a Hipótese de Higiene, que defende que a exposição infantil precoce a microrganismos protege a criança contra o desenvolvimento de alergias. Esta teoria, desenvolvida por David Strachan, afirma que um maior agregado familiar e o contacto não higiénico conferem uma defesa contra o aparecimento de doenças alérgicas. Refere ainda que uma menor exposição a determinados microrganismos devido a melhores condições sanitárias, famílias mais pequenas e melhores hábitos de higiene levam ao comprometimento da tolerância imunitária, que pode conduzir ao aparecimento de alergias (1, 6, 12, 32, 53).

Anos mais tarde, esta hipótese evoluiu de forma a incluir o papel que os microrganismos comensais desempenham na regulação das doenças alérgicas (7, 25). Assim, o aumento da incidência de alergias deve-se à influência do ambiente externo, das dietas com elevado teor em compostos lipídicos e baixo teor em fibra, características dos países industrializados, da exposição precoce a antibióticos e do estilo de vida das populações urbanas, onde a exposição a microrganismos é muito inferior comparativamente com populações rurais onde o contacto com a agricultura é frequente. Estudos observacionais demonstram que a exposição pré-natal da mãe a espécies animais domésticas, o contacto com ambientes rurais durante a infância e facto de a criança nascer por parto vaginal são fatores que contribuem para a diminuição do desenvolvimento de alergia alimentar (32, 54).

### **3.2. Diferenças entre a Microbiota Intestinal Infantil de crianças saudáveis e com alergia alimentar**

Diversos estudos referem que o desenvolvimento de alergia alimentar resulta de um desequilíbrio na microbiota, denominado de disbiose intestinal, e que o momento em que esta ocorre é determinante (6, 49, 55). Fatores de risco como o parto por cesariana, o uso de antibióticos, dietas com baixo teor de fibra e pertencer a famílias mais pequenas têm sido associados a um maior risco de desenvolver reações alérgicas a determinados alimentos, uma vez que o crescimento de bactérias com efeitos benéficos para a microbiota intestinal, como

é o caso de *Clostridiales* e *Lactobacillales*, não é favorecido nestas situações (1, 6, 12). Apesar da sua elevada patogenicidade, nomeadamente na infeção por *Clostridium difficile*, as bactérias pertencentes à classe *Clostridia* foram recentemente reconhecidas como benéficas na resolução de alergias, nomeadamente na alergia à proteína do leite de vaca (APLV), devido à sua atividade anti-inflamatória (54, 56). Estas propriedades anti-inflamatórias devem-se ao facto destes microrganismos conseguirem produzir SCFA e recorrerem a mecanismos que levam ao aumento da secreção de Interleucina 10 (IL-10), uma citocina anti-inflamatória (56).

Desta forma, é compreensível que existam diferenças na composição e colonização das microbiotas de crianças saudáveis e crianças com alergia alimentar, das quais se destacam uma reduzida abundância de *Bacteroidetes* e níveis elevados de *Firmicutes* em crianças com alergia alimentar. Ao mesmo tempo, a microbiota intestinal destas crianças é rica em espécies das famílias *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae*, *Ruminococcaceae* e pobre em *Dorea*, *Citrobacter*, *Lactococcus* e *Oscillospira* (52, 55, 56). Em relação à diversidade bacteriana, não foram encontradas diferenças entre os grupos de crianças com alergia alimentar e os grupos controlo (6, 48, 56). A relação entre o aumento da diversidade da microbiota intestinal e o menor risco de desenvolver doenças alérgicas tem sido discutido, no entanto, não há consenso entre estudos. Esta divergência pode indicar que uma maior diversidade bacteriana nem sempre se reflete numa maior proteção contra a alergia alimentar (6).

Assim, sabe-se que a composição da microbiota intestinal infantil, nomeadamente nos primeiros 6 meses de vida, é preponderante no desenvolvimento da alergia alimentar e que a disbiose intestinal influencia não só o aparecimento da doença alérgica como também o rumo e resolução da mesma (52, 55).

### **3.3. Mecanismos Imunológicos da Alergia Alimentar**

O equilíbrio entre o sistema imunológico e a microbiota intestinal é indispensável para garantir a manutenção da homeostase do TGI (3). É imperativo compreender os mecanismos subjacentes à alergia alimentar de modo a descobrir possíveis estratégias preventivas e novas terapêuticas para esta patologia cada vez mais prevalente na população infantil (47).

Numa situação de homeostase intestinal, a resposta fisiológica normal à introdução de antígenos alimentares é a tolerância oral aos mesmos, que resulta numa resposta imunitária neutralizante e não inflamatória (32, 57). Assim, em crianças saudáveis, os antígenos presentes nos alimentos ingeridos são capturados no lúmen intestinal por células dendríticas CD103+

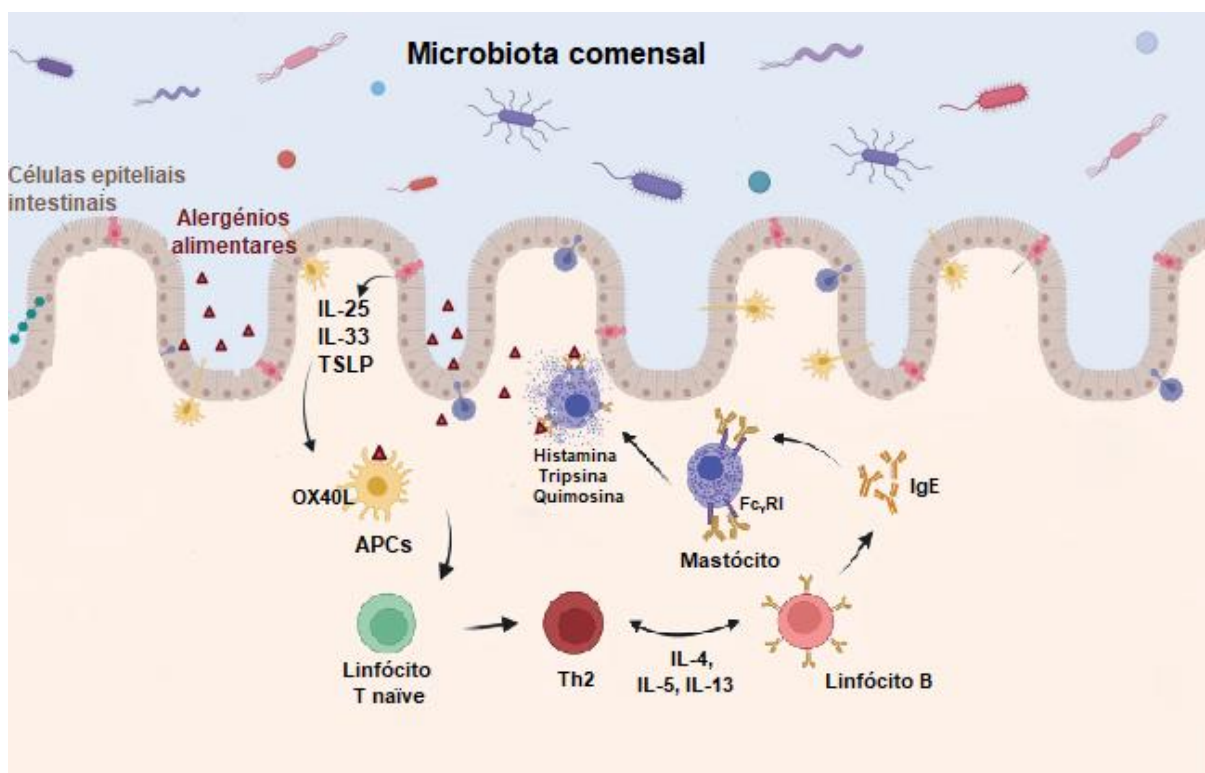
(58). Após atravessarem os gânglios linfáticos mesentéricos, as células dendríticas CD103+, células apresentadoras de antígenos (APCs), apresentam o antígeno às células T naïve, diferenciando-se em células T reguladoras (Treg) específicas do antígeno (47). O ácido retinóico e alguns metabolitos derivados de bactérias, como os SCFA, promovem a expansão de células Treg que estimulam a síntese de citocinas supressoras como a IL-10 e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ), atenuando a resposta inflamatória (3, 57). O TGF- $\beta$  é essencial no mecanismo de regulação da imunidade celular e humoral no TGI uma vez que promove a produção de IgA, um anticorpo que apresenta inúmeras funções como a regulação da aderência ou translocação das bactérias e melhora a função barreira da mucosa do TGI (32).

Os SCFA também apresentam um papel fundamental nos mecanismos imunitários, no entanto atuam através de mecanismos diferentes. O butirato, por exemplo, consegue ligar-se a recetores específicos acoplados à proteína G que são expressos nas células do epitélio e do sistema imunitário intestinais, das quais se incluem as células Treg e as células dendríticas, participando assim na modulação da atividade do sistema imunitário. Para além disso, este SCFA, consegue atuar por mecanismos epigenéticos dado que tem capacidade de induzir a desacetilação de histonas nas células dendríticas, promovendo assim a diferenciação das células Treg (3). Deste modo, os SCFA assumem grande importância para a manutenção da homeostase imunitária intestinal através da regulação das respostas inflamatórias e de proteção do organismo (6, 11).

Por outro lado, a alergia alimentar resulta de uma desregulação do sistema imunitário e dos mecanismos de tolerância imunitária acima mencionados, após reação a uma substância geralmente inofensiva (alergénio) e consequente ativação de respostas imunitárias humorais específicas contra um determinado antígeno alimentar (3). Embora vários mecanismos estejam envolvidos na patogénese da alergia alimentar, habitualmente o mecanismo imunitário subjacente a esta reação alérgica envolve uma resposta adaptativa do tipo T *helper* 2 (Th2) que consequentemente leva à produção de IgE específicas para os alergénios (32, 55).

Inicialmente, durante a fase de sensibilização, o antígeno é detetado e apresentado pelas APCs aos linfócitos T naïve que, subsequentemente, se diferenciam em linfócitos Th2 (3). Algumas citocinas produzidas pelas células do epitélio intestinal, como é o caso da IL-25, IL-33 e da linfopoietina estromal tímica, são capazes de, após uma lesão ou infeção detetadas pelo sistema imunitário, induzir a expressão do ligando do recetor OX40 (OX40L) presente nas células dendríticas CD103+, promovendo a diferenciação em células Th2. Quando ativadas, as células Th2 libertam IL-4, IL-5 e IL-13 que interagem com os linfócitos B,

desencadeando a mudança de classe dos anticorpos destes para células plasmáticas produtoras de IgE específica contra o alérgeno (32, 47, 55). Uma vez libertadas, as IgE específicas do antígeno alimentar ligam-se aos mastócitos e basófilos através do receptor Fc de imunoglobulina gama de alta afinidade presente nestas células. Deste modo, estas células ficam sensibilizadas e, se ocorrer uma segunda exposição ao antígeno específico, haverá desgranulação de mastócitos e basófilos e consequente libertação de histamina e outros mediadores como a tripsina e a quimosina que são responsáveis pela sintomatologia típica da alergia alimentar mediada por IgE, potenciando o mecanismo inflamatório (Figura 3) (3, 48, 55, 57).



**Figura 3** – Mecanismo envolvido nas respostas imunitárias à alergia alimentar mediada por IgE. Adaptado de (3) e (55).

**Legenda:** Fc<sub>γ</sub>RI - Recetor Fc de Imunoglobulina gama de alta afinidade; TSLP - Linfopietina Estromal Tímica.

### 3.4. A Microbiota Intestinal e a sua influência na Alergia Alimentar

A microbiota intestinal nos primeiros anos de vida desempenha um papel fulcral no desenvolvimento e maturação do sistema imunitário. Diversos estudos têm estabelecido uma associação entre a origem de respostas de tolerância imunitária a um antígeno específico e a presença de determinados microrganismos no TGI. Assim, um desequilíbrio da microbiota intestinal pode provocar uma falha na resposta do sistema imunitário, levando ao desenvolvimento de patologias como as alergias alimentares. A título de exemplo, verificou-se que o número de linfócitos Treg presentes na mucosa pode estar associado à presença de

determinadas bactérias na microbiota do TGI, o que poderá ser um dos mecanismos que justifica o papel da microbiota intestinal no desenvolvimento da alergia alimentar. Apesar de não haver total conhecimento de quais as espécies bacterianas ligadas à presença de linfócitos Treg na mucosa do intestino, géneros como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Clostridium* parecem promover a sua presença, diminuindo os sintomas desta patologia (3).

Embora existam estudos realizados em humanos com o objetivo de compreender o impacto da microbiota intestinal no desenvolvimento da alergia alimentar, os seus resultados não têm sido esclarecedores, havendo necessidade de recorrer a modelos animais de forma a conhecer os mecanismos pelos quais a microbiota consegue modelar a suscetibilidade à alergia alimentar (12, 48, 49).

### Estudos em animais

De modo a demonstrar que a microbiota intestinal tem capacidade de transmitir suscetibilidade para o desenvolvimento de alergia alimentar, realizou-se um estudo *in vivo*, utilizando um modelo de ratos com alergia alimentar. Estes animais apresentavam suscetibilidade para a patologia devido a uma mutação caracterizada pelo ganho de função no recetor da IL-4 (Il4raF709), manifestando sensibilização oral a determinados alérgenos alimentares como ao amendoim e à ovalbumina (48, 49, 52). Comparativamente com ratos selvagens, a microbiota intestinal dos ratos Il4raF709 apresentava diferenças ao nível da abundância de *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae*, *Rikenellaceae* e *Porphyromonadaceae* (49, 50). Ao transferir a microbiota intestinal dos ratos Il4raF709 para ratos *germ-free* verificou-se que a suscetibilidade à alergia também foi transferida para os animais recetores, comprovando a premissa inicialmente mencionada (12, 48, 49, 52).

Contudo, outro estudo evidenciou que a transferência de microbiota intestinal de ratos saudáveis para ratos com alergia alimentar pode ser benéfica para estes animais. Evidências científicas comprovaram que a colonização de animais *germ-free* que apresentam APLV com espécies bacterianas presentes nas fezes de bebés saudáveis, abundantes em *Bifidobacterium* e *Bacteroides*, diminuía a resposta alérgica e, conseqüentemente, a sintomatologia associada (49, 50, 52, 59). Observou-se ainda que a colonização destes animais com fezes de bebés com APLV provocou um aumento das respostas anafiláticas, verificando-se assim um aumento da produção de IgE específicas para o alérgeno do leite de vaca (52).

Para além disso, tal como mencionado anteriormente, vários estudos foram realizados no sentido de demonstrar o possível papel protetor do género bacteriano *Clostridium*. Evidências sugerem que a colonização da microbiota com bactérias *Clostridium* era suficiente



para diminuir a resposta alérgica aos amendoins em ratos *germ-free* (12, 48, 49). Estas bactérias anaeróbias têm despertado interesse por parte da comunidade científica devido às suas funções, nomeadamente na manutenção da homeostase do TGI através da indução das células Treg e no seu papel na síntese de metabolitos imunomoduladores (59). Noutra perspetiva, se submetemos ratos a tratamento antibiótico, verifica-se que estes aumentam a sua suscetibilidade para a alergia ao amendoim uma vez que ocorre aumento dos níveis de IgE específica dos amendoins e, por conseguinte, os sintomas anafiláticos (12).

### **3.4.1. Papel dos SCFA e das bactérias produtoras de butirato**

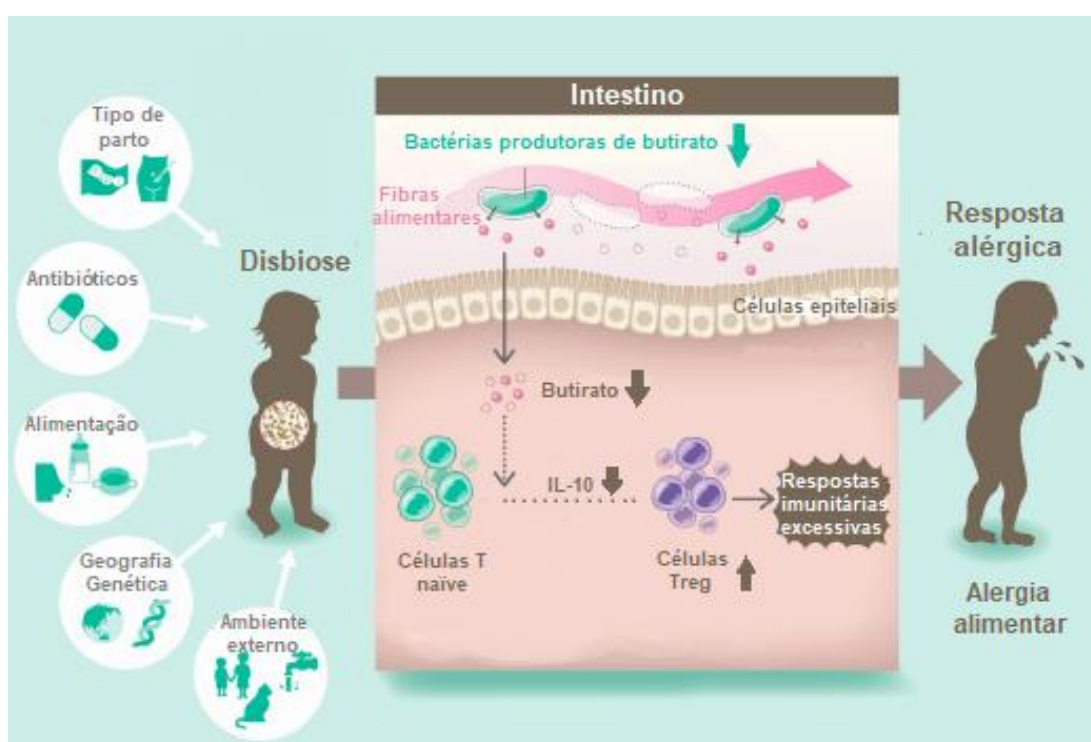
Como referido anteriormente, os SCFA resultam da fermentação microbiana de fibras alimentares e exercem inúmeras funções de extrema importância para a homeostase do intestino. Neste contexto, é fundamental salientar o papel do butirato na tolerância imunitária. Este ácido estimula a síntese de citocinas protetoras como é o caso da IL-10 que induz a expressão das células Treg e, por outro lado, inibe as células T *helper* 17 e T *helper* 2 (células pró-inflamatórias). Para além disso, o butirato estimula a produção de ácido retinóico a partir do metabolismo da Vitamina A, ao induzir a atividade da enzima aldeído desidrogenase de células dendríticas intestinais, aumentando desta forma o número de células Treg e a síntese de IgA.

Por outro lado, o butirato induz a diferenciação de células B assim como a síntese de IgA e de IgG uma vez que atua na inibição das desacetilases das histonas, levando à acetilação de genes específicos que estão envolvidos na diferenciação das células B ou na síntese de imunoglobulinas, IgG e IgA.

Vários estudos têm sido desenvolvidos no sentido de demonstrar o papel benéfico destes SCFA no impedimento do desenvolvimento de alergia alimentar. Num estudo realizado com crianças com APLV verificou-se que a ingestão de uma fórmula hidrolisada de probióticos *Lactobacillus rhamnosus* aumentou os níveis de butirato nas fezes, sendo estes relacionados com a obtenção de tolerância imunitária. Em vários estudos, demonstrou-se que a suplementação com butirato conduz à diminuição da resposta alérgica e dos sintomas alérgicos, visto que se observou uma diminuição da temperatura corporal acompanhada de um aumento da produção de IgE e IL-4 que sugerem o efeito importante do butirato contra a alergia alimentar (6, 52).

Complementarmente, foi desenvolvida a hipótese que defendia que um menor número de bactérias produtoras de butirato (BPB), as quais incluem espécies de *Clostridium*,

*Lachnospiraceae* e *Faecalibacterium*, poderiam desencadear o aparecimento de alergia alimentar. Esta hipótese baseou-se no facto de que vários fatores como o tipo de parto e o uso de antibióticos podem induzir um estado de disbiose caracterizado pela redução das BPB e, conseqüentemente, diminuição dos níveis de butirato. A sua diminuição leva a uma menor diferenciação das células T em células Treg, sendo que uma redução de células Treg dificulta a capacidade do sistema imunitário em atenuar respostas imunitárias excessivas, o que conduz ao desenvolvimento de alergia. De facto, constatou-se num estudo realizado com crianças com alergia ao ovo que a microbiota intestinal destas crianças era distinta da microbiota de crianças saudáveis pois apresentava menos BPB e menor percentagem de células Treg entre os linfócitos periféricos (Figura 4) (1).



**Figura 4** – Relação entre os vários fatores indutores de disbiose e o desenvolvimento da alergia alimentar, de acordo com a hipótese das BPB. Adaptado de (1).

#### 4. A Microbiota Intestinal como alvo terapêutico na Alergia Alimentar

A relação entre uma microbiota intestinal desregulada e a suscetibilidade às alergias alimentares identificou a modulação da microbiota intestinal como uma potencial arma terapêutica contra o desenvolvimento e tratamento da alergia alimentar (49). Embora esta seja uma área em constante evolução, já existem estudos que abordam as principais estratégias terapêuticas que moldam a microbiota intestinal para prevenir o desenvolvimento de alergia alimentar, das quais se destacam os probióticos, prebióticos, simbióticos, pós-bióticos, o transplante de microbiota fecal (FMT) e a intervenção dietética. (54, 60).

#### 4.1. Probióticos

De acordo com a OMS, os probióticos são microrganismos vivos que fornecem benefícios para a saúde humana, quando consumidos em quantidades adequadas (2, 7, 15). Os principais probióticos são *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, como *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus casei* e *Lacticaseibacillus rhamnosus*, anteriormente conhecido como *Lactobacillus rhamnosus* (13, 50, 52). Porém, também podem ser utilizados microrganismos pertencentes aos gêneros *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*) e *Propionibacterium* (2, 13, 15). Embora os mecanismos pelos quais os probióticos atuam ainda não tenham sido estudados em pormenor, sabe-se que estes microrganismos desempenham um papel de proteção pois competem com bactérias patogênicas, contribuindo assim para a manutenção da integridade da barreira epitelial intestinal. Por outro lado, atuam ao nível do sistema imunitário uma vez que diminuem a síntese de citocinas pró-inflamatórias (3, 7, 13, 50).

Estudos sobre a utilização de probióticos na prevenção ou tratamento da alergia alimentar têm demonstrado resultados contraditórios. Tal facto pode ser explicado por diversos fatores, como a utilização de diferentes estirpes de probióticos, diferentes durações de tratamento, diferentes doses, diferentes dimensões da amostra, entre outros (1).

Alguns estudos clínicos investigaram se a suplementação com probióticos *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG era eficaz contra o desenvolvimento de alergia alimentar. Verificou-se que as crianças com APLV mediada por IgE que receberam uma fórmula de caseína extensamente hidrolisada com probióticos *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG desenvolveram maior tolerância à proteína do leite de vaca, depois de 6 e 12 meses de tratamento, quando comparadas com o grupo de controlo que apenas recebeu a fórmula sem probióticos (6, 7, 49, 52). Para além disso, estudos demonstraram que a suplementação com estes probióticos contribui para a obtenção de uma microbiota abundante em espécies produtoras de butirato, como *Lachnospiraceae*, o que sugere que os probióticos promovem o aumento de microrganismos promotores de tolerância e, conseqüentemente, a tolerância imunitária aos alérgenos alimentares (55). Em contrapartida, um estudo avaliou a eficácia da suplementação com probióticos *Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium lactis* em 119 bebés com APLV e verificou que esta não auxiliou no processo de resolução da alergia (6, 49, 54).

Assim, apesar de haver evidência de que o uso de probióticos na alergia alimentar é benéfico, não existem dados suficientes que comprovem a sua eficácia como agentes preventivos ou terapêuticos da alergia alimentar. Portanto, no futuro, será necessário

aprofundar os conhecimentos nesta área de modo a averiguar quais os probióticos, as doses e durações terapêuticas eficazes para a prevenção e tratamento da alergia alimentar (54, 60).

#### **4.2. Prebióticos**

Os prebióticos são substâncias alimentares não digeríveis capazes de promover o crescimento e/ou atividade de microrganismos intestinais benéficos para a microbiota do hospedeiro (6, 52, 54). A maioria dos compostos com efeitos prebióticos pertence ao grupo dos carboidratos não-digeríveis, os quais incluem os FOS, os GOS, a inulina e a lactulose (3). Os prebióticos exercem efeitos benéficos para o hospedeiro ao estimularem o crescimento seletivo e/ou as atividades biológicas de algumas bactérias no intestino grosso, nomeadamente de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. que, como mencionado acima, tratam-se dos probióticos mais estudados (3, 13).

Existem poucos estudos clínicos que avaliam o efeito da utilização de prebióticos no desenvolvimento da alergia alimentar e os resultados obtidos são contraditórios (3). Embora alguns estudos demonstrem que o consumo de prebióticos seja benéfico em algumas doenças alérgicas, não há evidências suficientes que comprovem o seu efeito na prevenção da alergia alimentar (6, 49, 52, 54).

#### **4.3. Simbióticos**

Os simbióticos correspondem à combinação de probióticos e prebióticos. Assim, desta junção resulta um efeito sinérgico benéfico para a microbiota do hospedeiro uma vez que favorece o desenvolvimento de determinadas bactérias benéficas para a saúde do TGI (1, 3, 52).

Um estudo realizado com 110 bebés nascidos a termo com APLV tentou perceber se o efeito da administração de uma fórmula à base de aminoácidos suplementada com simbióticos promovia o crescimento de bactérias benéficas na resolução da alergia alimentar. Os simbióticos administrados eram constituídos por um probiótico *Bifidobacterium breve* M-16V e prebióticos como a inulina de cadeia longa, a oligofrutose e oligossacarídeos ácidos. Por outro lado, no grupo controlo apenas foi administrada a fórmula à base de aminoácidos sem simbióticos. Verificou-se que o crescimento de microrganismos foi semelhante em ambos os grupos (49, 54).

Assim, é de notar que as evidências científicas sobre a administração de simbióticos são limitadas, tornando-se necessário desenvolver mais estudos que justifiquem a utilização desta opção terapêutica na prática clínica (3, 52).

#### **4.4. Pós-bióticos**

O termo pós-biótico refere-se à utilização de substâncias que são produzidas ou libertadas através da atividade metabólica de microrganismos que, quando consumidas em quantidades adequadas, oferecem benefícios para a saúde do hospedeiro (1, 52). Os pós-bióticos são componentes solúveis, dos quais são exemplo os SCFA, vitaminas, proteínas de superfície celular, enzimas e peptídeos. Assim, como referido na secção 3.4.1., os SCFA desempenham um papel essencial na estimulação do sistema imunitário, sendo um alvo de investigação na maioria dos estudos realizados. Estudos em animais e em humanos demonstraram que maiores níveis de butirato estão associados a uma maior proteção contra o desenvolvimento de alergia alimentar.

Tais evidências sugerem que a abordagem pós-biótica tem potencial como estratégia terapêutica para a alergia alimentar, no entanto, no futuro, será imprescindível realizar mais estudos no sentido de compreender em detalhe os seus efeitos e a frequência ótima de administração para prevenir e tratar a alergia alimentar (52).

#### **4.5. Transplante de Microbiota Fecal**

A modulação da composição da microbiota intestinal por FMT é outra possível abordagem terapêutica em doentes com alergia alimentar. Esta intervenção baseia-se na transferência da microbiota fecal de um dador saudável para o TGI de um recetor alvo, com a finalidade de restaurar a eubiose, tratando a patologia instalada (1, 6, 52).

O FMT tem-se demonstrado uma estratégia interessante no tratamento da alergia alimentar e atualmente têm sido desenvolvidos estudos em ratinhos que comprovam que a transferência de uma microbiota saudável pode proteger contra a alergia alimentar (6, 49, 60). Além disso, um ensaio de fase I está a ser conduzido com o objetivo de avaliar a segurança e a eficácia de um FMT através de um encapsulado oral para o tratamento de alergia ao amendoim. Neste estudo, o agente utilizado trata-se de um inóculo de conteúdo fecal congelado de um dador selecionado.

Futuras pesquisas nesta área deverão focar-se em estudar quais as estirpes bacterianas ideais a transferir e definir o método adequado para garantir o estabelecimento do grupo

específico de bactérias transferido. Outras questões a considerar focam-se nos potenciais riscos e efeitos adversos associados ao FMT nas alergias alimentares, tornando-se imperativo otimizar os perfis microbianos do dador e do hospedeiro de forma a alcançar uma terapêutica segura e eficaz (54, 60).

#### **4.6. Intervenção Dietética**

Ao longo dos anos, a intervenção dietética tem-se tornado numa das estratégias terapêuticas mais estudadas para a prevenção da alergia alimentar. A grande maioria dos estudos tem pesquisado o efeito de abordagens dietéticas como a introdução precoce de alergénios alimentares e o aumento do consumo de fibras no impedimento do desenvolvimento de alergia alimentar. Evidências demonstram que estas intervenções podem ser benéficas, no entanto nenhuma foi completamente eficaz na prevenção total da alergia alimentar. Todavia, há fortes evidências de que a introdução precoce de ovo e de amendoim auxilia na prevenção da alergia alimentar a estes alimentos. Por outro lado, evitar o consumo de leite de vaca nos três primeiros dias de vida do bebé, optando pela alimentação exclusiva com leite materno, promove a diminuição da sensibilização à proteína do leite de vaca (60).

Para além disso, um estudo demonstrou que a ingestão de peixe, legumes, fruta e iogurte estava associada a um aumento de butirato nas fezes de bebés com 1 ano de idade. Este estudo demonstrou também que estes bebés apresentavam uma menor sensibilização a alergénios alimentares entre os 3 e os 6 anos, o que está de acordo com o que foi mencionado anteriormente sobre os efeitos benéficos do butirato (54).

### **5. Conclusões e Perspetivas Futuras**

A microbiota intestinal infantil tem sido cada vez mais, um alvo de investigação por parte da comunidade científica. A diversidade de microrganismos que a constituem desempenha numerosas funções ao nível da manutenção da homeostase intestinal e a relação microbiota-hospedeiro assume uma importante relevância na saúde do ser humano. Nos dias de hoje, sabe-se que vários fatores são capazes de alterar a colonização da microbiota intestinal infantil, dos quais se destacam a idade gestacional, a genética, o tipo de parto, o uso de antibióticos, a alimentação infantil e até mesmo a geografia. Estas alterações composicionais na comunidade bacteriana do TGI podem provocar uma desregulação do equilíbrio intestinal, comprometendo a composição e funcionalidade da microbiota intestinal, levando assim ao desenvolvimento de determinadas patologias como as alergias alimentares (3, 13).

O aumento da prevalência deste tipo de doença na comunidade infantil despoletou um novo campo de investigação nesta área que ampliou a visão da influência da microbiota intestinal e das bactérias que a constituem na predisposição para o desenvolvimento de alergia alimentar. Compreender os mecanismos e moléculas envolvidas na alergia alimentar é um passo fundamental para desenvolver novas estratégias terapêuticas para o tratamento e prevenção desta patologia que garantam o bem-estar da população.

Considerando as diferenças entre a microbiota de crianças saudáveis e com alergia alimentar, assim como a presença de determinadas bactérias benéficas na resolução desta doença, vários estudos investigaram o efeito da modulação da microbiota intestinal através da suplementação com probióticos, prebióticos, simbióticos e pós-bióticos no tratamento da alergia alimentar. Outras abordagens como o FMT e intervenções dietéticas também foram estudadas. Embora grande parte das evidências demonstrem resultados promissores nestas terapêuticas, é inevitável desenvolver investigação adicional para uma melhor gestão do tratamento da alergia alimentar.

Por fim, será imprescindível desenvolver, num futuro próximo, novas investigações que possam aperfeiçoar e expandir o leque de estratégias terapêuticas de forma a restaurar de forma segura e eficaz a microbiota intestinal infantil, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida e da saúde do ser humano.

## Referências Bibliográficas

1. AKAGAWA, Shohei; KANEKO, Kazunari – Gut microbiota and allergic diseases in children. **Allergology International**. ISSN 14401592. 71:3 (2022) 301–309. doi: 10.1016/j.alit.2022.02.004.
2. JANDHYALA, Sai Manasa *et al.* – Role of the normal gut microbiota. **World Journal of Gastroenterology**. ISSN 22192840. 21:29 (2015) 8836–8847. doi: 10.3748/wjg.v21.i29.8787.
3. ZUBELDIA-VARELA, Elisa *et al.* – Microbiome and allergy: New insights and perspectives. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**. ISSN 16980808. 32:5 (2022) 327–344. doi: 10.18176/jiaci.0852.
4. THURSBY, Elizabeth; JUGE, Nathalie – Introduction to the human gut microbiota. **Biochemical Journal**. ISSN 14708728. 474:11 (2017) 1823–1836. doi: 10.1042/BCJ20160510.
5. ALCAZAR, Cristina Garcia Maurino *et al.* – The association between early-life gut microbiota and childhood respiratory diseases: A systematic review. **The Lancet Microbe**. ISSN 26665247. 3:11 (2022) e867–e880. doi: 10.1016/S2666-5247(22)00184-7.
6. NANCE, Christina L. *et al.* – The role of the microbiome in food allergy: A review. **Children**. ISSN 22279067. 7:6 (2020). doi: 10.3390/children7060050.
7. SHU, Shang An *et al.* – Microbiota and food allergy. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**. ISSN 15590267. 57:1 (2019) 83–97. doi: 10.1007/s12016-018-8723-y.
8. ADAK, Atanu; KHAN, Mojibur R. – An insight into gut microbiota and its functionalities. **Cellular and Molecular Life Sciences**. ISSN 14209071. 76:3 (2019) 473–493. doi: 10.1007/s00018-018-2943-4.
9. LOZUPONE, Catherine A. *et al.* – Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. **Nature**. ISSN 00280836. 489:7415 (2012) 220–230. doi: 10.1038/nature11550.
10. LANGDON, Amy; CROOK, Nathan; DANTAS, Gautam – The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. **Genome Medicine**. ISSN 1756994X. 8:1 (2016). doi: 10.1186/s13073-016-0294-z.



11. ŁOŚ-RYCHARSKA, Ewa *et al.* – The microbiome and its impact on food allergy and atopic dermatitis in children. **Postepy Dermatologii i Alergologii**. ISSN 22990046. 37:5 (2020) 641–650. doi: 10.5114/ada.2019.90120.
12. PRINCE, Benjamin T. *et al.* – Gut microbiome and the development of food allergy and allergic disease. **Pediatric Clinics of North America**. ISSN 15578240. 62:6 (2015) 1479–1492. doi: 10.1016/j.pcl.2015.07.007.
13. GOMAA, Eman Zakaria – Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**. ISSN 15729699. 113:12 (2020) 2019–2040. doi: 10.1007/s10482-020-01474-7.
14. KONTUREK, Peter Christopher; HAZIRI, Drilon; BRZOZOWSKI, Tomasz; HESS, Thomas; HEYMAN, Sarah, KWIECIEN, Slawomir – Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases. **Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society**. 66:4 (2015) 483–91. PMID: 26348073.
15. SÁNCHEZ, Borja *et al.* – Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. **Molecular Nutrition and Food Research**. ISSN 16134133. 61:1 (2017). doi: 10.1002/mnfr.201600240.
16. LAURSEN, Martin Frederik – Gut microbiota development: Influence of diet from infancy to toddlerhood. **Annals of Nutrition and Metabolism**. ISSN 14219697. 77:3 (2021) 21–34. doi: 10.1159/000517912.
17. REYES-CASTILLO, Zyanya *et al.* – Troublesome friends within us: The role of gut microbiota on rheumatoid arthritis etiopathogenesis and its clinical and therapeutic relevance. **Clinical and Experimental Medicine**. ISSN 15919528. 21:1 (2021). doi: 10.1007/s10238-020-00647-y.
18. WEISS, G. Adrienne; HENNET, Thierry – Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**. ISSN 14209071. 74:16 (2017) 2959–2977. doi: 10.1007/s00018-017-2509-x.
19. ROWLAND, Ian *et al.* – Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. **European Journal of Nutrition**. ISSN 14366215. 57:1 (2018). doi: 10.1007/s00394-017-1445-8.

20. SINGH, Rasnik K. *et al.* – Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. **Journal of Translational Medicine**. ISSN 14795876. 15:1 (2017). doi: 10.1186/s12967-017-1175-y.
21. LEVY, Maayan *et al.* – Dysbiosis and the immune system. **Nature Reviews Immunology**. ISSN 14741741. 17:4 (2017) 219–232. doi: 10.1038/nri.2017.7.
22. FILIPPIS, Francesca DE *et al.* – Specific gut microbiome signatures and the associated pro-inflammatory functions are linked to pediatric allergy and acquisition of immune tolerance. **Nature Communications**. ISSN 20411723. 12:1 (2021). doi: 10.1038/s41467-021-26266-z.
23. RINNINELLA, Emanuele *et al.* – What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. **Microorganisms**. ISSN 20762607. 7:1 (2019). doi: 10.3390/microorganisms7010014.
24. MAUKONEN, Johanna; SAARELA, Maria – Human gut microbiota: Does diet matter? **Proceedings of the Nutrition Society**. ISSN 14752719. 74:1 (2015) 23-36. doi:10.1017/S0029665114000688.
25. TANAKA, Masaru; NAKAYAMA, Jiro – Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. **Allergology International**. ISSN 14401592. 66:4 (2017) 515–522. doi: 10.1016/j.alit.2017.07.010.
26. COLLADO, María Carmen *et al.* – Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants. **Pediatric Research**. ISSN 15300447. 77:6 (2015) 726–731. doi: 10.1038/pr.2015.54.
27. WANG, Mei; MONACO, Marcia H.; DONOVAN, Sharon M. – Impact of early gut microbiota on immune and metabolic development and function. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**. ISSN 18780946. 21:6 (2016) 380–387. doi: 10.1016/j.siny.2016.04.004.
28. SENN, Viola *et al.* – Microbial colonization from the fetus to early childhood—A comprehensive review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 22352988. 10: 573735 (2020). doi: 10.3389/fcimb.2020.573735.
29. KOPLIN, Jennifer *et al.* – Is caesarean delivery associated with sensitization to food allergens and IgE-mediated food allergy: A systematic review. **Pediatric Allergy and Immunology**. ISSN 09056157. 19:8 (2008) 682–687. doi: 10.1111/j.1399-3038.2008.00731.x.

30. REYMAN, Marta *et al.* – Impact of delivery mode-associated gut microbiota dynamics on health in the first year of life. **Nature Communications**. ISSN 20411723. 10:1 (2019). doi: 10.1038/s41467-019-13014-7.
31. RUTAYISIRE, Erigene *et al.* – The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: A systematic review. **BMC Gastroenterology**. ISSN 1471230X. 16:1 (2016). doi: 10.1186/s12876-016-0498-0.
32. IWEALA, Onyinye I.; NAGLER, Cathryn R. – The microbiome and food allergy. ISSN 15453278. 37:1 (2019) 377-403. doi: 10.1146/annurev-immunol-042718.
33. ZHOU, Lepeng *et al.* – Effects of vaginal microbiota transfer on the neurodevelopment and microbiome of cesarean-born infants: A blinded randomized controlled trial. **Cell Host & Microbe**. ISSN 19313128. 31:7 1-16 (2023). doi: 10.1016/j.chom.2023.05.022.
34. DABROWSKA, Krystyna; WITKIEWICZ, Wojciech – Correlations of host genetics and gut microbiome composition. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664302X. 7:1357 (2016). doi: 10.3389/fmicb.2016.01357.
35. YANG, Jing *et al.* – Gut bacteria formation and influencing factors. **FEMS Microbiology Ecology**. ISSN 15746941. 97:4 (2021). doi: 10.1093/femsec/fiab043.
36. PATANGIA, Dharti V. *et al.* – Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. **MicrobiologyOpen**. ISSN 20458827. 11:1 (2022). doi: 10.1002/mbo3.1260.
37. MCDONNELL, Lucy *et al.* – Association between antibiotics and gut microbiome dysbiosis in children: systematic review and meta-analysis. **Gut Microbes**. ISSN 19490984. 13:1 (2021) 1–18. doi: 10.1080/19490976.2020.1870402.
38. FEWTRELL, Mary *et al.* – Complementary feeding: A position paper by the european society for paediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition (ESPGHAN) committee on nutrition. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. ISSN 15364801. 64:1 (2017) 119–132. doi: 10.1097/MPG.0000000000001454.
39. CUKROWSKA, Bożena *et al.* – The relationship between the infant gut microbiota and allergy. The role of *Bifidobacterium breve* and prebiotic oligosaccharides in the activation of anti-allergic mechanisms in early life. **Nutrients**. ISSN 20726643. 12:4 (2020). doi: 10.3390/nu12040946.

40. MARRS, Tom *et al.* – Gut microbiota development during infancy: Impact of introducing allergenic foods. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. ISSN 10976825. 147:2 (2021) 613-621. doi: 10.1016/j.jaci.2020.09.042.
41. KASHTANOVA, Daria A. *et al.* – Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. **Nutrition**. ISSN 18731244. 32:6 (2016) 620–627. doi: 10.1016/j.nut.2015.12.037.
42. Fórmulas Infantis: indicação, função e constituição – **Acta Portuguesa de Nutrição**. ISSN 21835985. 27 (2021) 18-23. doi: 10.21011/apn.2021.2704.
43. MA, Jingran *et al.* – Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: a study of 91 term infants. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 10:1 (2020). doi: 10.1038/s41598-020-72635-x.
44. CUF – **Alimentação no 1º ano de vida**. (2019). [Acedido a 24 junho de 2023]. Disponível em: <https://www.cuf.pt/mais-saude/alimentacao-no-1o-ano-de-vida>
45. LAURSEN, Martin F. *et al.* – First foods and gut microbes. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664302X. 8:356 (2017). doi: 10.3389/fmicb.2017.00356.
46. MORAIS, Mário *et al.* – Alergia alimentar em crianças numa consulta de imunoalergologia. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**. ISSN 21843856. 7:3 (1999) 167-171.
47. SICHERER, Scott H.; SAMPSON, Hugh A. – Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. ISSN 10976825. 141:1 (2018) 41–58. doi: 10.1016/j.jaci.2017.11.003.
48. BLÁZQUEZ, Ana B.; BERIN, M. Cecilia – Microbiome and food allergy. **Translational Research**. ISSN 18781810. 179 (2017) 199–203. doi: 10.1016/j.trsl.2016.09.003.
49. ZHAO, William; HO, Hsi En; BUNYAVANICH, Supinda – The gut microbiome in food allergy. **Annals of Allergy, Asthma and Immunology**. ISSN 15344436. 122:3 (2019) 276–282. doi: 10.1016/j.anai.2018.12.012.
50. INOUE, Yuzaburo; SHIMOJO, Naoki – Microbiome/microbiota and allergies. **Seminars in Immunopathology**. ISSN 18632300. 37:1 (2015) 57–64. doi: 10.1007/s00281-014-0453-5.
51. BUNYAVANICH, Supinda *et al.* – Early-life gut microbiome composition and milk allergy resolution. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. ISSN 10976825. 138:4 (2016) 1122–1130. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.041.

52. COSTANZO, Margherita DI *et al.* – Gut microbiome modulation for preventing and treating pediatric food allergies. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 21:15 (2020) 1–17. doi: 10.3390/ijms21155275.
53. YU, Dahai *et al.* – Implications of gut microbiota in complex human diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 22:23 (2021). doi: 10.3390/ijms222312661.
54. BUNYAVANICH, Supinda; BERIN, M. Cecilia – Food allergy and the microbiome: Current understandings and future directions. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. ISSN 10976825. 144:6 (2019) 1468–1477. doi: 10.1016/j.jaci.2019.10.019.
55. YANG, Hui *et al.* – Research progress on the correlation between the intestinal microbiota and food allergy. **Foods**. ISSN 23048158. 11:18 (2022). doi: 10.3390/foods11182913.
56. SAVAGE, Jessica H. *et al.* – A prospective microbiome-wide association study of food sensitization and food allergy in early childhood. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**. ISSN 13989995. 73:1 (2018) 145–152. doi: 10.1111/all.13232.
57. SAMPSON, Hugh A. *et al.* – Mechanisms of food allergy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. ISSN 10976825. 141:1 (2018) 11–19. doi: 10.1016/j.jaci.2017.11.005.
58. YU, Wong; FREELAND, Deborah M. Hussey; NADEAU, Kari C. – Food allergy: Immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. **Nature Reviews Immunology**. ISSN 14741741. 16:12 (2016) 751–765. doi: 10.1038/nri.2016.111.
59. FEEHLEY, Taylor *et al.* – Healthy infants harbor intestinal bacteria that protect against food allergy. **Nature Medicine**. ISSN 1546170X. 25:3 (2019) 448–453. doi: 10.1038/s41591-018-0324-z.
60. CHERNIKOVA, Diana A.; ZHAO, Matthew Y.; JACOBS, Jonathan P. – Microbiome Therapeutics for Food Allergy. **Nutrients**. ISSN 20726643. 14:23 (2022). doi: 10.3390/nu1423155.