



Novos antibióticos para bactérias patogénicas multirresistentes: O caso da bactéria
Helicobacter pylori.

Alexandre Rodrigues Canhoto

Orientadora:
Professora Doutora Maria Leonor Faleiro

2021
Faro



Novos antibióticos para bactérias patogénicas multirresistentes: O caso da bactéria
Helicobacter pylori.

Alexandre Rodrigues Canhoto

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Orientadora:
Professora Doutora Maria Leonor Faleiro

2021
Faro

Declaração de autoria de trabalho

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

Copyright Alexandre Rodrigues Canhoto

A Universidade do Algarve reserva para si o direito, em conformidade com o disposto no Código do Direito de Autor e dos Direitos Conexos, de arquivar, reproduzir e publicar a obra, independentemente do meio utilizado, bem como de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição para fins meramente educacionais ou de investigação e não comerciais, conquanto seja dado o devido crédito ao autor e editor respetivos

Agradecimentos

Um especial obrigado aos meus pais que sempre se esforçaram para dar-me os melhores conselhos e os melhores recursos, mesmo quando todas as circunstâncias não ajudavam.

À Estrela e à avó Láide, que se orgulham de mim por escolher o percurso universitário.

Aos meus padrinhos e tios, que mesmo tão longe lembram-se sempre de mim.

Ao João e à Guida, que no meio de tantas discussões temáticas, tanto fizeram por me aconselhar e ensinar aquilo que é a vida.

À Daniela e ao Xanito, que mesmo tão distantes, conseguem arranjar sempre um bocadinho para uma tertúlia de última hora.

À Dr.^a Ana, à Dr.^a Bárbara, ao Mário e à Silvia, que tanto me infernizaram a vida com ampolas no Hospital dos Lusíadas Albufeira.

Ao Dr. Diogo, ao Dr. Ricardo, ao Dr. Miguel, ao Márcio, à Luísa, à Paula, à Alexandra e a toda a administração da Farmácia Montepio e da Associação de Socorros Mútuos Protetora dos Artistas de Faro, que no meio de tanta brincadeira e conversa parva conseguiram dar-me os ensinamentos para trabalhar numa farmácia comunitária e tornar-me num profissional de saúde digno da profissão farmacêutica.

À Professora Doutora Leonor, um enorme obrigado pela orientação desta dissertação, mesmo com os meus delírios de temas inapropriados e parágrafos cortados, teve sempre uma enorme disponibilidade em ajudar-me durante todo o percurso.

Ao Algarve, que após receber-me ao longo de uma infância afortunada, acolheu-me novamente durante 5 anos de universidade.

Ao Não Sei, que no meio de tantos memes, saídas à noite e discussões disparatadas, estiveram sempre lá para me ajudar e acompanhar durante todo o percurso universitário. Desde a praxe aos jantares dos Gambelosos, desde os arraiais à Rua do Crime, desde os J's à Biblioteca, desde o Algarve até Berlim. Não Sei como seria sem vocês.

Um especial obrigado à Olga, que no meio de tanto riso e brincadeira, tanto me apoiou, mesmo nos momentos de maior stress e dificuldade. Tiveste sempre paciência para criticar e cultivar o meu trabalho desenvolvido, entre tantas palavras trocadas e emoções partilhadas, destacam-se os meus sinceros agradecimentos por tudo.

Resumo

A presente dissertação pretende abordar a necessidade do desenvolvimento de novos antibióticos para o combate à infecção por *Helicobacter pylori*. A caracterização da bactéria, o seu processo de patogênese, fatores de virulência e as diferentes patologias associadas são apresentadas. São abordados os mecanismos de resistência aos antibióticos usados na terapêutica e possíveis alternativas suplementares ao tratamento antibacteriano. Em 2017, a bactéria *H. pylori*, foi classificada pela Organização Mundial de Saúde, como um organismo de prioridade alta na pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos.

Devido à capacidade de colonizar o estômago humano, a bactéria *H. pylori* consegue promover vários processos de patogênese, com consequências patológicas graves para o hospedeiro, como úlceras pépticas gástricas, cancro gástrico e o desenvolvimento de linfoma de MALT.

Em paralelo, a resistência das bactérias aos antibióticos é um problema de saúde mundial em crescente, incluindo *H. pylori*, sendo reportado o aumento de taxas de reincidência após erradicação e o menor grau de erradicação de *H. pylori* para os planos terapêuticos duplos, triplos e quádruplos, compostos por amoxicilina, claritromicina, metronidazol e levofloxacina, acompanhando o perfil da era pós-antibióticos em que vivemos atualmente.

Desta forma, a realização periódica de seminários e discussões científicas, como o Consenso de Maastricht, contribuem para ganhos significativos na prevenção, no diagnóstico e nas terapêuticas de erradicação através de estratégias terapêuticas fundamentadas na administração de probióticos, da lactoferrina e de novos esquemas terapêuticos e novos antibióticos.

Por último, destaca-se o contexto hospitalar, a má adesão à terapêutica, a automedicação, a indústria alimentar e a agricultura abusiva e extensiva como causa emergente das resistências de *H. pylori* e de outras bactérias patogénicas aos antibióticos.

Termos-chave: *Helicobacter pylori*, resistência antimicrobiana, úlceras pépticas gástricas, cancro gástrico, linfoma de MALT, amoxicilina, claritromicina, metronidazol, levofloxacina, probióticos, lactoferrina.

Abstract

This dissertation highlights the need for the development of new antibiotics to fight the infection caused by *Helicobacter pylori*. The characterization of the bacterium, its pathogenesis process, virulence factors and the different associated pathologies are presented. The mechanism of resistance to antibiotics used in therapy and possible supplementary alternatives to the antibacterial treatment are highlighted. Since 2017, the bacteria *H. pylori* was classified by World Health Organization as a microorganism with high priority for research and development of new antibiotics.

Due to the ability to colonize the human stomach, the bacteria *H. pylori* can promote multiple pathogenesis mechanisms, with several pathological consequences for the host, like peptic gastric ulcers, gastric cancer and gastric MALT lymphoma.

In parallel, bacterium's resistance to antibiotics is an increasing worldwide health problem, which can be observed the raising of resistance and reinfection rates, as well as the down crease of *H. pylori* eradication rates for dual, triple and quadruple therapeutic plans supported by amoxicillin, clarithromycin, metronidazol, levofloxacin, going along with the currently post-antibiotic era pattern.

Furthermore, the periodic realization of seminars and scientific discussions, like Maastricht consensus, contributes to noteworthy gains of prevention, diagnosis and eradication therapies through strategies based on probiotics, lactoferrin, new therapeutic plans and new antibiotics.

Lastly, the hospital context, the medication adherence, the self-medication, the food industry and the abusive and extensive agriculture justify a highlight as the cause of emergent resistant *H. pylori* and other resistant pathogenic bacteria to current antibiotics.

Keywords: *Helicobacter pylori*, antimicrobial resistance, peptic gastric ulcers, gastric cancer, gastric MALT lymphoma, amoxicillin, clarithromycin, metronidazol, levofloxacin, probiotics, lactoferrin.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo.....	ii
Abstract	iii
Lista de Figuras.....	vi
Lista de Tabelas	vii
Acrónimos	viii
1 Introdução.....	1
1.1 Casos de multirresistência em Portugal	2
2 A diversidade da microbiota do trato gástrico humano.....	5
3 A bactéria <i>Helicobacter pylori</i>	7
3.1 Características de <i>Helicobacter pylori</i>	9
3.2 O genoma de <i>Helicobacter pylori</i>	11
3.3 O processo de transmissão	11
3.4 Medidas de prevenção	13
3.5 Diagnóstico da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	13
3.6 Processo de patogénese	16
3.6.1 A motilidade e adesão como impulsionador da patogénese	16
3.6.2 O gene <i>cagA</i> no processo de patogénese	17
3.6.3 O gene <i>vacA</i> no processo de patogénese	17
3.6.4 A atividade da urease no processo de patogénese	18
3.6.5 As proteínas da membrana externa no processo de patogénese	19
4 A bactéria <i>Helicobacter pylori</i> como potencial causa de gastrite.....	22
4.1 A bactéria <i>Helicobacter pylori</i> como potencial causa de Úlceras Pépticas	24
4.2 A bactéria <i>Helicobacter pylori</i> como agente carcinogénico	28
4.3 A bactéria <i>Helicobacter pylori</i> e o Linfoma MALT	29
5 Classes de antibióticos utilizados, mecanismos e alvos terapêuticos.....	31
5.1 Amoxicilina	31
5.2 Claritromicina	32
5.3 Metronidazol	33
5.4 Levofloxacina	34
6 A submissão dos planos terapêuticos convencionais à resistência de <i>Helicobacter pylori</i>	36
6.1 Terapêutica convencional – IV consenso de Maastricht	36
6.2 Terapêutica convencional – plano duplo, triplo e quadruplo	37
6.3 Terapêutica convencional – Lactoferrina	39
6.4 Resistência aos antibióticos dos planos convencionais	40
6.5 Os mecanismos de resistência à amoxicilina	42
6.6 Os mecanismos de resistência à claritromicina	44

6.7	Os mecanismos de resistência ao metronidazol	44
6.8	Os mecanismos de resistência à levofloxacina	45
7	A importância dos Probióticos	47
7.1	Probióticos no tratamento da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	48
8	A necessidade emergente de novos planos terapêuticos.....	52
8.1	O contexto hospitalar como causa de resistência	53
8.2	A má adesão à terapêutica como causa de desenvolvimento de resistência	54
8.3	A automedicação como causa de desenvolvimento de resistência	55
8.4	A utilização de antibióticos na indústria e agricultura como causa de resistência	57
8.5	V consenso de Maastricht	58
8.6	Novos antibióticos e novos planos terapêuticos no combate à infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	60
9	Conclusão	65
	Bibliografia	66

Lista de Figuras

Figura 1 As proteínas da membrana externa no processo de patogénese.....	21
Figura 2 Fluxograma de decisão para diagnóstico e tratamento de úlceras pépticas. Adaptado de Wells, B. et al, 2009.	27
Figura 3 Estrutura molecular da amoxicilina	32
Figura 4 Estrutura molecular da claritromicina.....	33
Figura 5 Metranidazol e metabolitos celulares tóxicos resultantes da sua redução .	34
Figura 6 Estrutura molecular da levoploxacina.....	35

Lista de Tabelas

Tabela 1. Evolução do consumo de antibióticos em ambulatório e em internamento hospitalar por 1000 habitantes/dia (DHD), entre 2013 e 2017, segundo o Relatório Anual do Programa Prioritário das Infecções e Resistências aos Antimicrobianos de 2018..... 3

Tabela 2. Evolução da percentagem de isolados resistentes para as bactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* entre 2013 e 2017, segundo os dados estabelecidos no Relatório Anual do Programa Prioritário das Infecções e Resistências aos Antimicrobianos de 2018. 4

Tabela 3. Fatores responsáveis pelo estímulo do crescimento da bactéria *H. pylori*. Adaptado de Nedenskov, 1994..... 10

Tabela 4. Alelos do gene *vacA* identificados nas amostras diagnosticadas com carcinoma e com gastrite crónica. Adaptado do Foegeding, et al, 2016. 18

Tabela 5 Principais características dos planos de tratamento convencionais para a erradicação da bactéria *H. pylori*..... 37

Tabela 6 Evolução da taxa de resistência da bactéria *Helicobacter pylori* aos diferentes antibióticos, entre 2006 e 2008 entre 2009 e 2011 e entre 2012 e 2016 na Europa e a taxa de resistência primária e secundária aos diferentes antibióticos e planos terapêuticos em Portugal. Adaptado de (Savoldi, A. Et al, 2018) e (Lopo, I. Et Al, 2018). 42

Tabela 7 Mecanismos de interação de origem imunológica e não imunológica dos probióticos com benefício para o hospedeiro. Adaptado de (Guarner, F. et al, 2017).....48

Tabela 8 O papel do farmacêutico na prevenção de infeções nosocomiais. Adaptado de (Ducel, G.; Et al, 2002)..... 54

Tabela 9 Resumo das principais recomendações acordadas no decorrer do V Consenso de Maastricht, categorizadas de acordo com o grau de recomendação e grau de evidência. Adaptado de (Malfërtheiner, P.; et al, 2016). 60

Acrónimos

AINEs - Anti-inflamatórios não Esteroides

AlpA/B – do inglês *Adherence-associated Lipoprotein A and B*

BabA – do inglês *Blood-group-antigen-binding Adhesin*

CEACAM – do inglês *Carcinoembryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecule Family*

CG – Cancro Gástrico

DDD - Doses Diárias Definidas

DHD – DDD expressas por 1000 habitantes/dia

DGS – Direção Geral de Saúde

EGFR – do inglês *Epidermal Growth Factor Receptor*

Erk1/2 – do inglês *Extracelular Signal-regulated Kinases 1 and 2*

EMA – do inglês *European Medicines Agency*

FA – Formicina A

FAK – do inglês *Focal Adhesion Kinase*

GA – Gastrite Aguda

GAAI – Gastrite Atrófica Autoimune

GC – Gastrite Crónica

cagA – do inglês *Citotoxin Antigen Associated*

HopQ – do inglês *Outer Membrane Protein Q*

IACS - Infecções Associadas aos Cuidados de Saúde

IBP- Inibidor da Bomba de Protões

MALT – do inglês *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*

MIC – do inglês *Minimum Inhibitory Concentration*

NADPH-FORT - NADPH-flavina Óxido-redutase

NADPH-NRT-NSO - NADPH Nitroredutase não Sensível ao Oxigénio

NPET – do inglês *Nascent Peptide Exit Tunnel*

OipA – do inglês *Outer Inflammatory Protein A*

PBP-1A – do inglês *Penicillin Binding Protein 1A*

PME – Proteínas da Membrana Externa

PPCIRA - Programa de Prevenção e Controlo de Infecção e Resistências aos Antimicrobianos

PQB – Plano Terapêutico Quadruplo com Sais de Bismuto

PQsB – Plano Terapêutico Quadruplo sem Sais de Bismuto

PS – Plano Terapêutico Sequencial

PTamo-lev – IBP dose standard 2id, 500 mg de amoxicilina 4id e 500 mg de levofloxacina por dia

PTC – do inglês *Peptidyl Transferase Centre*

QRDR – do inglês *Quinolones Resistance-determining Region*

SabA – do inglês *Sialic Acid-binding Adhesin*

UP - Úlceras Pépticas

VacA – do inglês *Vacuolating Cytotoxin*

VE ILC - Vigilância Epidemiológica da Infecção do Local Cirúrgico

1 Introdução

Numa era pós-antibióticos, em pleno século XXI, a resistência aos antibióticos é um problema de saúde mundial, em fase de crescimento (1,2).

Apesar da capacidade de adaptação das bactérias à presença de novos fatores exógenos desfavoráveis no meio envolvente, como os antibióticos, é importante salientar o uso frequentemente inadequado dos antibióticos como o principal fator promotor da emergência e seleção de bactérias resistentes e multirresistentes (3). Posto isto, há uma clara evidência entre o nível de consumo de classes específicas de antibióticos e o curso natural da bactéria em desenvolver resistência a essas classes (3).

Em questão, está uma diminuição da eficácia (e segurança) dos fármacos e planos terapêuticos, que traduzem um resultado clínico negativo (1). A disparidade entre o resultado esperado e as dificuldades no tratamento, revelam um aumento do custo e tempo de internamento, e um aumento da cronicidade e mortalidade dos problemas de saúde causados por microrganismos resistentes (1,4).

Desta forma, é essencial considerar o impacto dos microrganismos resistentes a antibióticos na comunidade atual, amplamente influenciada pelo sistema de saúde, meio ambiente, agricultura e criação de gado (5,6).

Face ao novo problema de saúde mundial, em 2017, a Organização Mundial de Saúde, actualizou a lista prioritária de microrganismos patogénicos resistentes a antibióticos, segmentada segundo a prioridade e risco para a saúde humana (7). A bactéria *Helicobacter pylori* resistente à claritromicina é uma das bactérias de prioridade elevada para a obtenção de novos antibióticos (7).

Em Portugal, face à crescente necessidade de monitorização epidemiológica, o atual Programa de Prevenção e Controlo de Infecção e Resistências aos Antimicrobianos, (PPCIRA), cinge sinergicamente o controlo de infeções e a prevenção de resistências aos antimicrobianos, através de estratégias de intervenção comuns e/ou complementares, uma vez que o consumo inadequado de antimicrobianos é um dos principais fatores responsáveis pelo aumento de resistências. (8).

1.1 Casos de multirresistência em Portugal

Em Portugal, o atual PPCIRA atua nas áreas da Estratégia Multimodal de Promoção das Precauções Básicas em Controlo de Infeção, da Vigilância Epidemiológica, do Consumo de Antibióticos e da Resistência aos Antibióticos (9).

A área da Estratégia Multimodal de Promoção das Precauções Básicas em Controlo de Infeção envolve um conjunto de boas práticas padronizadas direcionadas à prevenção e consequente diminuição das Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde, (IACS), dos quais se destacam a monitorização de adesão às boas práticas em Higiene das Mãos e monitorização do uso de luvas nas unidades de saúde (9,10).

Por sua vez, a área da Vigilância epidemiológica de incidência de infeções afere inquéritos quanto à prevalência de Infeções e quanto à monitorização das diferentes Unidades de Cuidados de Saúde, com especial relevância das Unidades de Cuidados Intensivos Neonatais e das Infeções Nosocomiais da Corrente Sanguínea (9).

Com o decorrer dos anos, é possível observar um aumento da vigilância epidemiológica nas unidades hospitalar portuguesas, quer sob tutela do Estado, do Setor Privado ou Social, chegando a atingir uma cobertura nacional de 68%, com 30 unidades de cuidados intensivos em território nacional e 54 unidades hospitalares a monitorizarem a Vigilância Epidemiológica da Infeção do Local Cirúrgico (VE ILC) (9). No caso da Vigilância Epidemiológica de Infeções em unidades de Cuidados Intensivos Neonatais há cobertura nacional total, dado o impacto da neonatologia (9).

Em paralelo, o Inquérito Europeu de Prevalência de Ponto de Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde permitiu estabelecer uma evolução entre 1988 e 2017 da percentagem de doentes internados com IACS, sendo que 10,0% dos doentes internados com IACS em 1988 decresceram para 7,8% de doentes internados com IACS nas 125 unidades hospitalares das 7 regiões de Saúde e regiões autónomas de Portugal, em 2017 (9).

Consequentemente, o relatório aborda, também, o registo e interpretação do consumo de antibacterianos em Ambulatório e Internamento Hospitalar, assim como as resistências aos diferentes grupos de antibacterianos das diferentes espécies bacterianas (9). Na **Tabela 1** estão indicadas as doses diárias definidas (DDD) correspondentes ao consumo de antibióticos em contexto hospitalar, expressas por 1000 habitantes/dia (DHD), de acordo com os dados fornecidos no Relatório Anual do Programa Prioritário de Infeções e Resistências aos Antimicrobianos de 2018 (9).

Segundo o relatório, verifica-se um aumento do consumo de cefalosporinas em ambulatório de 1,42 DHD, em 2013, para 1,63 DHD, em 2017, que contrasta com a diminuição drástica do consumo de fluoroquinolonas em ambulatório de 2,17 DHD, em 2013, para os 1,24 DHD, em 2017 (9). Como indicado na **Tabela 1**, também há um aumento em 6,14% do consumo de cefalosporinas em internamentos hospitalares de 0,29 DHD, em 2013, para 0,31 DHD, em 2017. Em relação ao consumo de Carbapenemos e fluoroquinolonas, ocorreu uma diminuição de 0,15 DHD e 0,18 DHD, em 2013, para 0,11 DHD e 0,13 DHD, em 2017, respectivamente (9).

Na **Tabela 2** é possível analisar a evolução da porcentagem de isolados resistentes para as bactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* entre 2013 e 2017, segundo os dados apresentados no Relatório Anual do Programa Prioritário das Infecções e Resistências aos Antimicrobianos de 2018 (9). Dada a existência explícita de uma ligação entre o consumo de antibióticos e o respectivo aumento de resistência das bactérias aos antibióticos, o aumento do consumo de cefalosporinas em contexto hospitalar entre 2013 e 2017 pode justificar o aumento de isolados de *K. pneumoniae* resistentes às cefalosporinas, para o mesmo período de tempo. Em paralelo, o consumo menor de fluoroquinolonas e carbapenemos também parece justificar a diminuição de isolados de *E. coli* resistentes às fluoroquinolonas e a diminuição de isolados de *P. aeruginosa* resistentes aos carbapenemos (9).

Tabela 1. Evolução do consumo de antibióticos em ambulatório e em internamento hospitalar por 1000 habitantes/dia (DHD), entre 2013 e 2017, segundo o Relatório Anual do Programa Prioritário das Infecções e Resistências aos Antimicrobianos de 2018.

Ano		2013	2014	2015	2016	2017
Consumo em ambulatório (DHD)	Cefalosporinas	1,42	1,43	1,54	1,54	1,63
	Fluoroquinolonas	2,17	2,11	2,04	1,91	1,24
Consumo em internamento hospitalar (DHD)	Cefalosporinas	0,29	0,29	0,30	0,31	0,31
	Carbapenemos	0,15	0,14	0,13	0,12	0,11
	Fluoroquinolonas	0,18	0,17	0,15	0,14	0,13

Tabela 2. Evolução da percentagem de isolados resistentes para as bactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* entre 2013 e 2017, segundo os dados estabelecidos no Relatório Anual do Programa Prioritário das Infecções e Resistências aos Antimicrobianos de 2018.

Ano		2014	2015	2016	2017
<i>Escherichia coli</i>	Fluoroquinolonas	32,4	29,7	28,9	27,3
	Carbapenemos	0,0	0,1	0,0	0,3
	Cefalosporinas	16,4	16,1	16,1	15,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fluoroquinolonas	36,5	38,6	41,7	45,7
	Carbapenemos	1,8	3,4	5,2	8,6
	Cefalosporinas	40,9	40,4	46,7	44,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fluoroquinolonas	26,3	22,7	20,1	23,7
	Carbapenemos	22,5	19,8	19,2	18,3
<i>Acinetobacter spp.</i>	Fluoroquinolonas	52,7	55,8	50,5	38,4
	Carbapenemos	53,1	57,7	51,9	40,7

2 A diversidade da microbiota do trato gástrico humano.

Do ponto de vista clínico, o desenvolvimento de técnicas e métodos capazes de identificar e caracterizar uma comunidade microbiana dinâmica responsável pela colonização do trato gástrico e intestinal é importante para um correto diagnóstico e para a escolha de um plano terapêutico adequado às diferentes patologias gástricas e não-gástricas (11).

Os diferentes órgãos do trato gastro-intestinal são caracterizados por condições distintas a nível do valor do pH no meio, do gradiente de oxigénio, das enzimas segregadas, e até da atividade das células de Paneth, pelo que será de esperar uma diferença quantitativa e qualitativa entre a carga microbiana no trato gástrico e a carga microbiana do restante trato intestinal, aproximadamente 10^4 CFU/mL e 10^{12} CFU/mL, respetivamente (12,13).

Em paralelo, alguns fatores externos, como a toma de inibidores da bomba de prótons (IBP), também desempenham um papel crucial no desequilíbrio da microbiota gástrica, inclusive sobre a bactéria *H. pylori*, quer pela inibição direta das bombas de prótons de alguns fungos e bactérias, quer pelo aumento do pH gástrico (13,14). Na realidade, após o desequilíbrio devido a IBPs, o meio gástrico está mais suscetível a bactérias de origem orofaríngea e fecais, como é o caso das bactérias do género *Streptococcus*, *Micrococcaceae*, *Enterococcaceae* e *Staphylococcaceae*, como é referido em alguns estudos (11,14,15). Também a toma de antibióticos leva, naturalmente, a flutuações na diversidade microbiana de todo o trato gastro intestinal (15). Não menos importante, também alguns fatores externos, como uma alimentação rica em produtos lácteos, como os iogurtes com probióticos, como exemplo *Lactobacillus gasseri*, podem contribuir para uma diminuição de disbioses em doentes com dispepsias funcionais (16,17).

O percurso normal dos microrganismos no trato gastrointestinal, desde a cavidade oral até ao intestino, dificulta a caracterização da microbiota gástrica, já que as espécies detetadas na mucosa e no fluido gástrico podem colonizar ou apenas permanecer temporariamente no meio (14).

Desta forma, o fluido gástrico de um indivíduo saudável é frequentemente composto por bactérias do género *Streptococcus* (do Filo *Firmicutes*), por *Prevotella* e *Porphyromonas* (do Filo *Bacteroidetes*) e pelo Filo *Actinobacteria*, enquanto a mucosa gástrica é frequente colonizada por bactérias do género *Streptococcus* e por *Helicobacter*

pylori (do Filo *Proteobacteria*) (11,14,18). É importante destacar que o Filo *Proteobacteria* corresponde a aproximadamente 96% das bactérias totais do meio gástrico e as bactérias do género *Prevotella* e *Porphyromonas* são as mais predominantes no caso de um indivíduo saudável, não infetado por *H. pylori* (14).

Por outro lado, a microbiota gástrica também pode sofrer alterações aquando de um problema de saúde, pelo que a análise dos diferentes microrganismos permite traçar uma assinatura para algumas patologias gástricas de carácter bem definido, como é o caso da gastrite crónica ou mesmo do cancro gástrico associado recorrentemente a infeções pela bactéria *H. pylori* (11,16).

Numa última análise, a microbiota gástrica é composta por um sistema complexo e articulado de microrganismos, pelo que será de esperar interações e desequilíbrios entre a bactéria *H. pylori* e a restante microbiota gástrica, sendo que em alguns casos, a microbiota gástrica pode sofrer uma oscilação da diversidade negativamente em 28% da microbiota total (11,16). Por outro lado, as espécies de *Lactobacillus johnsonii*, *L. murinus* e *L. reuteri* apresentam a capacidade de inibir o crescimento de *H. pylori*, enquanto que a espécie *Streptococcus mittis* consegue não só inibir o crescimento, como também estimular a conversão da forma espiral para a forma coco da bactéria *H. pylori* (12,14). Este aspeto pode ser crítico, pois as formas em coco de *H. pylori* não são recuperadas em cultura, o que pode dar origem a resultados falsos negativos.

3 A bactéria *Helicobacter pylori*

Pensa-se que o início da infeção pela bactéria *H. pylori*, embora com alguma incerteza, remota para a antiguidade, através da descrição de manifestações clínicas semelhantes à gastrite crónica e úlceras pépticas (19). É importante contextualizar que antes do século XX não havia metodologias de diagnóstico fiáveis o suficiente para diagnosticar a associação direta de uma infeção pela bactéria *H. pylori* a casos de gastrites crónicas e de úlceras gástricas e duodenais, logo é difícil determinar com exatidão o início da incidência da bactéria no ser humano (19).

Assim, em 1982 deu-se a descoberta da bactéria por Marshall e Warren, designada primeiramente por *Campylobacter pyloridis*, sendo que graças às inovadoras técnicas de diagnóstico e sequenciação, apenas em 1989, após a sequenciação genética, a bactéria passou a designar-se por *H. pylori*, onde *Heli*, do grego, significa espiral e enrolado (19). Na realidade, os séculos XIX e XX são marcados por uma maior consciência da associação das gastrites à *H. pylori* e por uma maior fiabilidade dos métodos de diagnóstico (19).

Helicobacter pylori é uma bactéria Gram-negativa, cuja célula tem a forma espiral ou em forma de “S”, com 2,5-3,5 µm de comprimento e 0,5-1,0 µm de diâmetro (20). A presença de 1 a 6 flagelos numa das extremidades conferem uma elevada mobilidade a esta bactéria (20).

Quando a bactéria se encontra no estômago do hospedeiro humano, a sua forma é maioritariamente espiral, porém, quando em condições adversas a bactéria reverte para a forma de coco, mas perde a sua culturabilidade, ou seja não é possível recuperar a bactéria em cultura, e entra assim no estado viável mas não cultivável (do inglês *Viable But Not Culturable*, VBNC) (20,21). Contudo, através de colorações que distinguem as células viáveis das não viáveis é possível a sua deteção com recurso à coloração com o kit Live/Dead (Invitrogen), ou ainda pode ser identificada através da deteção do seu DNA, contudo por este último não é possível indicar o estado da sua viabilidade (22,23).

Assim, a forma coco pode desenvolver-se durante a fase estacionária do crescimento bacteriano, e pode, também, ser induzida por diversos fatores não favoráveis do ambiente envolvente, como quando a probabilidade de sobrevivência da bactéria é baixa (21,24). Posto isto, a formação de cocos viáveis em estado latente, pela bactéria *H. pylori*, é sugerida como uma estratégia de sobrevivência em condições adversas, devido

ao decréscimo acentuado do metabolismo, infecciosidade e divisão celular e, ainda devido ao aumento do tempo de sobrevivência da bactéria (21,22,25).

A ausência de oxigénio, prolongada no tempo, induz a adoção da forma coco e a formação de aglomerados por *H. pylori* (21,26). Os resultados de um estudo *in vitro* revelaram que, em meios de cultura com concentrações de oxigénio inferiores a aproximadamente 1%, o crescimento de *H. pylori* diminuiu significativamente após 72h do início da experiência, e, ao final de 7 dias, a bactéria não foi recuperada (26). Em comparação, na presença de uma concentração de oxigénio perto de 5%, o número de bactérias aumentou 100 vezes face à concentração inicial de *H. pylori* (26).

A adoção da forma cocos pela bactéria, pode indicar, também, a presença de antibacterianos no meio envolvente, como é o caso dos antibióticos amoxicilina, claritromicina, metronidazol e eritromicina (24,25). Em particular, num estudo na presença de concentrações de amoxicilina acima de 0,01 µg/mL, após 6 horas do início da incubação, ocorreu um aumento da frequência relativa de formas coco no meio de cultura em comparação com o grupo controlo, que apresentou exclusivamente células bacterianas na forma espiral (24). Para a mesma concentração, após 36 horas do início da incubação, os autores observaram a prevalência de células na formas coco e nas concentrações superiores a 1,0 µg/mL apenas observaram as células de *H. pylori* na forma de coco (24).

Outras condições adversas como o aumento da temperatura, por exemplo acima de 40°C, e o aumento do valor de pH para 5.5, também induzem a conversão da forma da bactéria para coco (25,27).

Na realidade, a dinâmica das formas mucoides-cocos, confere à bactéria *H. pylori* a habilidade de formar um biofilme (células aderentes a uma superfície), onde as bactérias mais superficiais conferem uma barreira protetora, face às condições adversas do meio mencionadas anteriormente, às bactérias presentes no interior do biofilme (22,25,28).

Não menos importante, as proteínas essenciais ao citoesqueleto de *H. pylori*, como a mutação na proteína da parede celular FtsZ, que torna a bactéria sensível à temperatura (do inglês *Filamenting Temperature Sensitive* mutante Z), as proteínas do tipo resistentes às (pev)-mecillinam (do inglês *Mecillinam Resistance-like Proteins*), Mre-like proteins, e as proteínas do tipo filamentosas intermédias (do inglês *IF-like Proteins*), são responsáveis pela síntese de novo peptidoglicano na zona do septo e pela síntese de novo peptidoglicano na parede celular com função auxiliar na estrutura da bactéria, respetivamente (23).

Ao passo que, a morfologia e a motilidade de *H. pylori* são amplamente influenciadas pela presença de quatro genes codificantes para as IF-Like Proteins, HP0058, HP0059, HP1142 e HP1143, responsáveis, respetivamente, pela síntese de Ccrp58, Ccrp59, Ccrp1142 e Ccrp 1143 (do inglês *Coiled Coil Rich Proteins*), cuja estrutura secundária se deve ao enrolamento das duas estruturas primárias sobre si próprias (29,30). Eliminar o gene codificante da proteína Ccrp59 leva à conversão, na totalidade, da forma espiral da bactéria em forma de bastonete, contudo silenciar o gene responsável por Ccrp1143 apenas resulta em diferentes graus de curvatura da célula de *H. pylori* (29,30).

As variações a nível morfológico e quantitativo dos flagelos também podem contribuir com diferentes níveis e tipos de motilidade à bactéria *H. pylori* (31). *H. pylori* apresenta entre 4 a 8 flagelos, apenas numa das extremidades, quando em forma espiral ou bastonetes contudo quando em forma de coco não apresenta flagelos (20–23). Os respetivos filamentos são compostos por duas flagelinas, FlaA e FlaB, pelo que a supressão dos respetivos genes resulta em bactérias com flagelos irregulares e menores, e, conseqüentemente, sem motilidade (31,32).

Deste modo, apesar da morfologia da bactéria influenciar a presença de flagelos, sabe-se que o grau de motilidade da bactéria não varia diretamente em função da forma, como é caso da inibição do gene responsável pela síntese de Ccrp59, onde as células de *H. pylori* apesar de apresentarem flagelos sem alterações, apresentam uma elevada redução na motilidade (29,30,33).

Por fim, conclui-se que para compreender a patogenicidade de *H. pylori*, é necessário considerar as diferentes oscilações na morfologia, na motilidade, na extensão da colonização, na infecciosidade e na virulência da bactéria.

3.1 Características de *Helicobacter pylori*

Como mencionado no secção anterior, em condições normais, o teor de oxigénio de 5% na atmosfera de incubação permite uma taxa de crescimento particularmente favorável da bactéria, característica comum aos organismos microaerofílicos como *H. pylori* (26,34).

Apesar da acidez no lúmen gástrico, *in vitro*, a taxa de crescimento ótima da bactéria é atingida quando o valor de pH do meio de cultura se aproxima de 8,5 (35,36). A origem desta notória incongruência reside parcialmente na participação da enzima urease no metabolismo da bactéria, que é responsável pela conversão da ureia em amónia

e dióxido de carbono, e, conseqüentemente, pela produção de um teor de amónia, que permite atingir um valor de pH de cerca de 6.1 no periplasma, enquanto que o valor de pH no meio externo celular pode atingir 1-2 (37–39). Com esta capacidade, a bactéria *H. pylori* apresenta características comuns às bactérias neutrófilas (39).

O crescimento de *H. pylori* ocorre a temperaturas superiores a 30°C e inferiores a 40°C, com um valor máximo a 37°C, gama de temperaturas comuns aos microrganismos mesófilos e ao hospedeiro humano (20,27,36,40).

A bactéria *H. pylori* é dotada da enzima hidrogenase, enzima responsável pela produção de energia através da oxidação de hidrogénio molecular, H_2 , libertado pelo trato gastrointestinal humano (41). Em conformidade, a presença de apenas 10% de H_2 traduz um aumento da atividade de hidrogenase e um aumento da reprodução de *H. pylori* (41). Assim, quando na presença de H_2 , ocorre um aumento da captação de HCO_3 em cerca de três vezes, pela bactéria e posterior fixação de CO_2 , de maneira que *H. pylori* apresenta um carácter distintivo de microrganismos litoquímico-autotróficos (42).

H. pylori é auxotrófica para vários aminoácidos, como cisteína, serina e prolina (43).

A presença de ferro no meio de cultura é essencial para uma taxa de crescimento ótima, pelo que, em muitos casos, as infeções por *H. pylori* estão associadas a anemia no hospedeiro (44,45).

Como indicado na **Tabela 3**, o estímulo do crescimento da bactéria depende, também, da presença da vitamina tiamina, da presença de purina e da presença de aminoácidos como a leucina, a valina, a metionina, a arginina, a histidina, a fenilamina e a isoleucina no meio de cultura (43).

Tabela 3. Fatores responsáveis pelo estímulo do crescimento da bactéria *H. pylori*. +, Aminoácido estimula o crescimento da bactéria; +/-, aminoácido estimula o crescimento para algumas estirpes da bactéria; - aminoácido não estimula o crescimento de *H. pylori*. Adaptado de Nedenskov, 1994.

Aminoácido	Leu	Val	Met	Arg	His	Fen	Ile	Pro	Cis
Crescimento	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-
Aminoácido	Ser	Tir	Asp	Tre	Lis	Gli	Trp	Glu	Ala
Crescimento	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-

3.2 O genoma de *Helicobacter pylori*

Ao contrário de outras bactérias, a bactéria *H. pylori* é dotada de inúmeras linhagens, quer devido à elevada taxa de mutações, quer devido à capacidade de recombinação de material genético entre diferentes estirpes/espécies de *H. pylori* presentes no meio ambiente (46,47).

Consequentemente, é possível observar um número elevado de polimorfismos genéticos intra-estirpes, inclusive polimorfismos associados a genes essenciais à sobrevivência de *H. pylori* (46,48). Desta forma, não é possível sequenciar uma determinada estirpe de *H. pylori* e generalizar o resultado a todas as estirpes, pelo que se indica, de forma representativa, apenas a sequência de referência do genoma NC_000915.1 da linhagem da estirpe 26695 de *H. pylori* (49,50).

Os 1,67 Mb de pares de base da sequência de referência da estirpe 26695 compõem as 1447 proteínas, os 1583 genes e os 91 pseudogenes responsáveis pela normal atividade celular que compreende os diversos fatores de virulência, infecciosidade e resistência que serão abordados nas seções seguintes, como as diversas citotoxinas, a ilha de patogenicidade *cag* e os genes codificantes da enzima urease e *VacA* (50).

3.3 O processo de transmissão

A prevalência de infecções por *H. pylori* não é igual para as diferentes populações a nível mundial, pelo que as taxas de infecção são tendencialmente mais altas nos países em desenvolvimento face às taxas de infecção nos países desenvolvidos (51). Em seguimento, o continente africano apresenta uma prevalência da bactéria *H. pylori* de 70,1% (95% IC, 62,6% - 77,6%) face aos 34,3% (95% IC, 31,3% - 37,2%) da prevalência da bactéria na Europa ocidental e aos 24,4% (95% IC, 18,5% - 30,4%) de prevalência de *H. pylori* na Oceânia (51).

O veículo de transmissão da bactéria entre os seres humanos ainda não foi estabelecido, contudo a disparidade entre a prevalência de 35,6% (95% IC, 30,0% - 41,1%) da bactéria *H. pylori* nos Estados Unidos da América (EUA) e a prevalência de 74,8% (95% IC, 72,9% - 76,7%) da bactéria nas comunidades indígenas no Alasca permitem atribuir uma ligação à falta de condições sanitárias e elevada precariedade aos valores mais elevados da taxa de prevalência da bactéria naquela população indígena dos EUA (51).

Na realidade pressupõe-se que o mecanismo de transmissão direta e indireta entre os seres humanos ocorre através da via fecal-oral e oral-oral. Pelo que, aquando de

indisposições gástricas, pode haver uma transferência da bactéria *H. pylori* do meio gástrico para a cavidade oral, onde a bactéria pode permanecer sob a forma de biofilme ou de cocos isolados, viabilizando assim transmissões diretas por via oral-oral (22,52,53). No caso dos países em desenvolvimento, devido às más condições de higiene e sanitárias ocorre uma maior oportunidade de contaminação fecal-oral e oral-oral de forma direta, entre duas pessoas, ou de forma indireta, entre um hospedeiro e um reservatório contendo a bactéria *H. pylori*, no ambiente envolvente (22,40,53).

A presença da bactéria *H. pylori* na água até 72 h e até 96 h após inoculação, à temperatura de 25°C e 4°C, respetivamente, leva a reforçar a hipótese de transmissão fecal-oral através de reservatórios de água contaminada associados a condições de higiene precários (54,55).

Teoricamente, alguns alimentos, devido a propriedades físico-químicas intrínsecas, também podem ser potenciais reservatórios para eventuais fontes de contaminação, como o caso do leite, onde, após 240 horas (10 dias) a incubação inicial é possível observar células de *H. pylori* no meio de cultura, a uma temperatura de 4°C (40,54).

Na realidade, diversos estudos suportam a evidência de culturas de bactérias viáveis durante largos dias em diversos alimentos como carne, lacticínios, espinafres e outras verduras, carnes fermentadas e alguns alimentos embalados a vácuo (40).

Assim, a taxa de transmissão é afetada por um conjunto multifatorial de condições e estatutos sociais e económicos, de acordo com algumas regiões, países ou continentes, pelo que é natural estudos, como o levado a cabo em Isfahan, no Irão, permitirem estabelecer uma forte correlação entre o acesso a água potável e uma maior taxa de infeção entre crianças (55).

Numa última meta-análise, em Portugal, a prevalência de infeções pela bactéria *H. pylori* permanece num valor de 66,2% (para um intervalo de confiança a 95%, 63,6-68,7%), enquanto que a taxa de incidência é de 4.1/100 pessoas-ano (para um intervalo de confiança a 95%, 3,0-5,8%), valores que estão correlacionados inversamente com a escolaridade e a educação paternal (56). Em suma, verificam-se maiores valores de prevalência nos sujeitos em casas com maiores agregados familiares, nos sujeitos a frequentar o ensino público e com idades por volta dos 13 anos (56,57).

Por fim, a taxa de incidência numa dada população pode ser reduzida aquando do cumprimento de medidas de prevenção.

3.4 Medidas de prevenção

Assumindo o papel de um profissional na área da saúde, cabe ao farmacêutico a sensibilização da comunidade para o uso correto do antibiótico, bem como para a consciencialização de medidas de prevenção no combate à infeção pela bactéria *H. pylori*.

Primeiramente, são privilegiadas boas práticas de higiene, como a frequente lavagem das mãos, a lavagem cautelosa dos alimentos e a aquisição de condições sanitárias como redes de esgotos e canalização de água potável (58). Em paralelo, deverá haver uma minimização das transmissões verticais entre pais e filhos, que podem ocorrer indiretamente através da partilha de talheres, escovas de dentes e outros objetos de higiene pessoal, aquando do contacto entre as secreções gástricas, saliva ou contaminação fecal dos progenitores para a criança (59).

Posteriormente, medidas de profilaxia, como rastreios à população e métodos de diagnóstico específicos, permitem diminuir quer a exposição aos membros da família, quer o risco de co-morbilidades associadas à infeção por *H. pylori*, temáticas abordadas no seguimento da presente monografia (58).

Mais uma vez, no papel do profissional do medicamento, o farmacêutico deve consciencializar a população para a importância do uso racional do antibiótico e a importância de uma adesão total do utente à terapêutica prescrita, com o intuito *pro bono* de minimizar reincidências e garantir uma maior efetividade e segurança do medicamento e/ou plano terapêutico, temáticas abordadas ao longo dos capítulos seguintes (60).

Por fim, uma economia viável, uma sociedade robusta e um conjunto de leis que permitem a otimização das medidas de prevenção e consciencialização mencionadas acima.

3.5 Diagnóstico da infeção por *Helicobacter pylori*

O diagnóstico antecipado preventivo torna-se uma ferramenta clínica bastante útil quando o utente manifesta sintomatologia comum a infeções por *H. pylori*, uma vez que permite evitar novos focos de transmissão, permite a seleção de um plano terapêutico mais adequado ao perfil da infeção e evita a evolução da infeção para estados patológicos mais complexos abordados nos capítulos seguintes, como úlceras pépticas, linfomas MALT e cancro no estômago (20,61).

Após o cumprimento do plano terapêutico, de forma a assegurar a erradicação da infeção, o utente deverá realizar um método de diagnóstico adequado ao despiste de reincidência (61).

De um modo geral, a escolha do método de diagnóstico mais adequado ao perfil clínico do utente depende de uma decisão ponderada entre as diferentes vantagens e desvantagens intrínsecas para cada teste, que compreendem características como a sensibilidade e especificidade do método, a disponibilidade e a acessibilidade do utente (62).

A deteção da bactéria poderá ser realizada com recurso a amostras de sangue, amostras gástricas ou de fezes, e o tipo de método de diagnóstico poderá ser subdividido em invasivo, como a endoscopia com biopsia histológica e testes rápidos de deteção da urease, ou não-invasivo, como a análise das fezes e níveis serológicos (62,63).

A utilidade dos testes de imagem através de endoscopia reflete o diagnóstico de patologias associadas à infeção por *H. pylori*, sendo que, durante o procedimento analítico, poderão ser obtidas amostras da mucosa gástrica, para métodos de diagnóstico invasivos complementares, como os testes rápidos de urease e as biopsias histológicas (62).

A distribuição não uniforme da bactéria *H. pylori* na parede gástrica, leva, inevitavelmente, a erros de amostragem, pelo que a precisão e sensibilidade dos valores obtidos depende diretamente da zona do estômago analisada, que deverá preferencialmente ser a zona do antrum, e depende, também, do profissional que leva a cabo o diagnóstico por endoscopia (64). Na realidade, as análises são tanto mais precisas quanto maior a experiência do profissional que leva a cabo a técnica de diagnóstico (62,64).

A metodologia responsável pelos testes rápidos de urease tem como base a deteção indireta de urease na mucosa gástrica (62,65). Assim, os testes rápidos de urease são dotados de uma elevada especificidade, rapidez, facilidade e baixo custo, tornando-se uma ferramenta bastante útil no diagnóstico da infeção por *H. pylori* (62,65).

Este tipo de testes apresenta uma elevada acessibilidade devido aos vários kits comerciais disponíveis, pelo que, a precisão, sensibilidade e tempo de obtenção do resultado dos valores obtidos varia ligeiramente entre os diferentes modelos comerciais (62). Na realidade, os valores de especificidade para este tipo de testes ronda os 95% e de sensibilidade os 90%, valores superiores aos testes por endoscopia (62,66).

No entanto, independentemente do modelo utilizado, o resultado obtido pode ser influenciado pela toma em paralelo de algumas classes de medicamentos, como inibidores da bomba de prótons (IBP), e antibióticos, pelo tempo de espera do resultado inferior ao recomendado, e pelo número recomendado de bactérias presentes na amostra de mucosa

gástrica testada (valor recomendado superior a 10^5 bactérias de *H. pylori*) (62,66). Por último, a zona de recolha da mucosa gástrica deverá ser escolhida de acordo com o quadro clínico do doente (66).

Por sua vez, as biopsias histológicas apresentam uma elevada especificidade, perto dos 100%, mas uma baixa sensibilidade, entre 85 e 95% (62). Os resultados obtidos por esta metodologia são mais demorados que outros métodos e dependem diretamente do isolamento e posterior incubação *in vitro* da bactéria, pelo que a escolha inadequada das condições e meio de cultura, a falta de experiência do técnico e a falta de condições do laboratório de análises podem afetar negativamente os resultados obtidos (62,67). À semelhança dos testes rápidos de urease, o resultado obtido por biopsias histológicas também é influenciado pela toma em paralelo de IBP e antibióticos e pela zona gástrica de recolha da amostra (62).

Os testes através de cultura de biopsias histológicas revelam-se bastante úteis nos casos em que o plano de tratamento de segunda linha não manifesta eficácia, uma vez que permitem posteriormente caracterizar adequadamente o fenótipo e genótipo da estirpe infetante (62).

Contudo, a necessidade de métodos não invasivos surge com os casos mais complexos, muitas vezes limitados pelas co-morbilidades e pelas contra-indicações, como crianças, grávidas e doentes pós-cirúrgicos. Nestes casos, há preferência por métodos de diagnóstico mais cómodos, convenientes e baratos, como a análise das fezes e o teste respiratório com ureia marcada (62,68).

A análise de fezes tem como base a deteção de antigénios associados a uma infeção por *H. pylori*, e pode ser subdividido de acordo com a metodologia levada a cabo. Assim, os resultados podem derivar de técnicas como ELISA e de técnicas de imunocromatografia (62,69). Desta forma, os resultados obtidos através de técnicas como o teste ELISA são mais precisos do que os resultados obtidos através de técnicas como a imunocromatografia e são mais reproduzíveis quando utilizados anticorpos monoclonais face aos anticorpos policlonais (62,69). A existência de diversos kits de teste, com diferentes protocolos, confere uma maior diversidade de precisão entre protocolos, mas permite uma maior disseminação dos métodos de diagnóstico, assim como uma maior acessibilidade e menor custo para o utente (62).

Por outro lado, o teste respiratório com ureia marcada tem como base a ingestão ureia marcada por carbono 13, C^{13} , ou por carbono 14, C^{14} , que será metabolizado, através da hidrólise, a CO_2 caso na presença de urease (62,68). Posteriormente o CO_2 marcado é

absorvido pela corrente sanguínea e, por fim, é detetável no ar eliminado pelas vias respiratórias (62,68).

Em suma, o teste respiratório com ureia marcada apresenta elevada segurança, sendo utilizado em crianças e grávidas, contudo mais dispendioso, mas garante uma maior sensibilidade e especificidade do que as análises de fezes (62).

Por fim, ambos os métodos não-invasivos são utilizados como métodos de diagnóstico e complemento de monitorização da eficácia terapêutica e diagnóstico pós-erradicação (62).

3.6 Processo de patogénese

Na bactéria *H. pylori*, o processo de patogénese reside fundamentalmente na capacidade de motilidade e nos diferentes fatores de virulência da bactéria, responsáveis por várias lesões no hospedeiro. Por sua vez, as variações genómicas dos genes responsáveis pelos fatores de virulência e motilidade traduzem diferentes níveis de expressão, e conseqüentemente, diferentes níveis de lesão no hospedeiro.

3.6.1 A motilidade e adesão como impulsionador da patogénese.

Como abordado no **capítulo 3**, a versatilidade em adquirir diferentes morfologias e a presença de flagelos numa das extremidades, conferem uma elevada mobilidade à bactéria, que resulta, naturalmente, numa maior extensão de áreas no estômago afetadas e na migração da bactéria para o duodeno (70).

Assim, a elevada motilidade e capacidade de adesão a tecidos por *H. pylori* permitem que a bactéria colonize a camada do epitélio gástrico e o respetivo muco protetor, asseguram proteção às condições adversas de valores de pH desfavoráveis no lúmen gástrico e, conseqüentemente, atribuem um carácter mais persistente e invasivo à infeção por *H. pylori* (71). Na realidade, a colonização do epitélio gástrico e do epitélio duodenal por *H. pylori* resulta em processos de patogénese, como úlcera, inflamação e carcinoma dos respetivos epitélios (71).

Após colonização, a mucosa saudável transita para uma gastrite crónica e superficial, seguindo-se de uma gastrite atrófica, patologia responsável pela destruição de células epiteliais secretoras de enzimas digestivas e ácido gástrico (72).

Posteriormente o quadro clínico pode progredir para metaplasias intestinais, seguidas de displasias gástricas e, por fim, seguidas eventos de adenocarcinoma e linfoma de MALT (72).

Por último, enquanto a manifestação de úlceras duodenais dá-se mais recorrentemente nos indivíduos cujas infeções predominam fundamentalmente nas zonas de maior produção de ácido gástrico, como o antrum, os indivíduos cuja infeção predomina nas zonas de menor secreção de ácido gástrico, como o corpo do estômago, costumam desenvolver mais recorrentemente episódios de cancro (72,73).

3.6.2 O gene *cagA* no processo de patogénese

A descoberta do gene *cagA*, *Citotoxin Antigen Associated*, marca o primeiro fator de virulência identificado como responsável pelo desenvolvimento de cancro gástrico.

O gene *cagA* encontra-se presente em aproximadamente 60% das estirpes de *H. Pylori*, pelo que a diferente distribuição alélica de contribui para diferentes níveis de expressão deste gene, como as infeções causadas por estirpes CagA⁺, que tendem a ser mais infecciosas e a apresentar uma maior expressão de citocinas (74).

Com 40 Kb, o gene *cagA* é o ultimo da ilha de patogenicidade, *cag*-PAI, que, para além de outros componentes, codifica para o sistema de transporte tipo 4 (T4SS), o que permite a passagem de macromoléculas, como peptidoglicanos e DNA bacteriano, para o interior das células hospedeiras (74–76). Após a secreção, há indução de uma resposta inflamatória, bem como alteração da polaridade, alteração das tight junctions e alteração dos mecanismos de diferenciação e proliferação das células do hospedeiro (74).

Na realidade, em alguns casos, é possível detetar a presença do gene CagA em, aproximadamente, 92,3% dos pacientes vítimas de gastrite crónica e vítimas de carcinoma gástrico da amostragem, pelo que se associa a este gene uma propriedade carcinogénica (77).

3.6.3 O gene *vacA* no processo de patogénese

A proteína VacA, *Vacuolating cytotoxin*, codificada pelo gene *vacA*, é responsável pela formação de vacúolos, que conseqüentemente levam à apoptose celular e à alteração do epitélio gástrico do hospedeiro humano, devido ao aumento da permeabilidade celular, à formação de canais seletivos de aniões e à despolarização do potencial de membrana (78).

Na realidade, a proteína VacA também induz danos diretos nas células epiteliais gástricas, através da alteração do citoesqueleto, da eliminação da proliferação celular e da imunossupressão, uma vez que a proteína VacA inibe a ativação e proliferação das células T e B (78).

Com 140 kDa, a proteína VacA é segregada através de um autotransportador do tipo Va, processo na qual sofre clivagem do terminal N- e C- e apesar do gene *vacA* marcar presença num único cromossoma e em todas as estirpes de *H. pylori*, a atividade da proteína VacA varia notavelmente de acordo com as diferentes variações na sequência de nucleótidos das regiões do sinal peptídico, caso dos alelos s1 e s2, e a região média, caso dos alelos m1 e m2 (77,79,80). Posto isto, é de esperar que estirpes com a combinação alélica s1/m1 apresentem elevada virulência, enquanto estirpes com a combinação alélica s2/m2 apresentem baixa virulência (77).

Num estudo, foi possível identificar a região do s1 e s2 do gene *vacA* em 38,5% e 61,5% das amostras diagnosticadas com carcinoma gástrico, respetivamente, no entanto, para amostras diagnosticadas com gastrite crónica, a região s1 e s2 do gene *vacA* foi identificada em 30,8% e 69,2% dos casos, respetivamente (77). Em paralelo a região m1 e m2 do gene *vacA* foi detetada em 34,6% e 69,2% das amostras diagnosticadas com carcinoma gástrico, respetivamente, e a identificação da região m2 do gene *vacA* ocorreu em 7,7% e 92,3% das amostras diagnosticadas com carcinoma gástrico e com gastrite crónica, respetivamente (77). Na **Tabela 4** são apresentados os resultados mencionados acima, que revelam ser bastante promissores, uma vez que permitem a associação da presença do gene *vacA* na estirpe bacteriana a uma maior virulência da bactéria.

Tabela 4: Alelos do gene *vacA* identificados nas amostras diagnosticadas com carcinoma e com gastrite crónica. Adaptado do Foegeding, et al, 2016.

Diagnostico da amostra	Alelo s1	Alelo s2	Alelo m1	Alelo m2
Carcinoma Gástrico	38,5%	61,5%	34,6%	69,2%
Gastrite Crónica	30,8%	69,2%	7,7%	92,3%

3.6.4 A atividade da urease no processo de patogénese

A urease, enzima com um peso molecular compreendido entre os 500 e os 600 KDa, hidrolisa a ureia presente no meio gástrico, com libertação de CO₂ e amónia útil na consequente neutralização do pH gástrico (81).

Desta forma, a presença de urease no citoplasma da bactéria permite a manutenção do potencial de membrana e do pH adequado no periplasma de *H. pylori*, pelo que a segregação das subunidades UreA e UreB da enzima, através de vesículas, permite a neutralização do pH gástrico e viabilidade das toxinas segregadas (82,83).

A expressão da enzima deve-se ao gene *ureA*, responsável pela codificação das subunidades β e γ , e ao gene *ureB*, responsável pela codificação da subunidade α (81). Para uma urease funcional, a enzima necessita de sofrer um processo de maturação (através da inserção de dois iões de níquel no local ativo), com o auxílio das proteínas UreE, UreF, UreG e UreH, (84).

Na realidade, *H. pylori* produz níveis elevados de urease, até 15% do peso total de todas as proteínas da bactéria, dado o papel tão importante na sobrevivência e patogenicidade da bactéria (81).

Posto isto, a presença de uma urease funcional é essencial para a colonização crónica do trato gástrico pela bactéria *H. pylori*, sendo naturalmente evidente que, a inativação do gene responsável pela enzima urease provoca uma diminuição drástica da virulência da bactéria (85,86).

É importante destacar a capacidade da urease promover patologias no hospedeiro, como a modulação e indução à capacidade de angiogénese nas células epiteliais gástricas, formação de novos vasos sanguíneos nos tecidos tumorais, essencial para o crescimento, invasão e disseminação metástica do tumor gástrico (82).

Em paralelo, a enzima urease e respetivas subunidades parece estar associada ao desenvolvimento de patologias fora do trato gástrico, como doenças cardiovasculares e tromboembólicas, devido à aparente habilidade da enzima para estimular a agregação de plaquetas sanguíneas (87). Por fim, a urease como fator de virulência também reside na capacidade da enzima em induzir a pró-inflamação gástrica mediada pela ativação de outras células, como os neutrófilos e as plaquetas (87,88).

3.6.5 As proteínas da membrana externa no processo de patogénese

Como abordado anteriormente, a adesão de *H. pylori* aos tecidos constitui o primeiro passo na colonização inicial da camada epitelial gástrica e respetivo muco protetor (71).

As proteínas da membrana externa (PME), são responsáveis por várias funções celulares, como o transporte de moléculas, sinalização celular e manutenção estrutural da bactéria, mas na bactéria *H. pylori* parecem ainda assumir um papel na ligação da célula

bacteriana às células do hospedeiro, passo essencial para a colonização e, também, responsável pelo aumento da virulência da bactéria (89).

Neste âmbito, destaca-se pelo seu papel na adesão da bactéria às células epiteliais do hospedeiro a adesina SabA (do inglês *Sialic Acid-binding Adhesin*), a adesina BabA (do inglês *Blood-group-antigen-binding Adhesin*), a proteína externa OipA (do inglês *Outer Inflammatory Protein A*), e a proteína externa HopQ (do inglês *Outer Membrane Protein Q*) (89).

Primeiramente, a adesão da bactéria às células epiteliais do hospedeiro deve-se ao domínio de 70 kDa da proteína SabA, responsável pela ligação ao antígeno sLe^x e ao antígeno LewisX, antígenos usualmente ausentes na mucosa gástrica saudável (89). Como descrito na **Figura 1 (A)**, apesar de ainda desconhecido o mecanismo, sabe-se que o processo de adesão de *H. pylori* ao tecido epitelial através da adesina SabA é dinâmico e interage com o sistema de transporte tipo 4 (T4SS), que é capaz de induzir a expressão da transferase β 3GnT5 essencial para a biossíntese de antígenos de Lewis como o antígeno sLe^x e o antígeno LewisX (89,90). Posteriormente, (**Figura 1 (B)**) o antígeno migra até à membrana celular das células epiteliais gástricas, onde vai interagir com o domínio da adesina SabA responsável pela ligação SabA-sLe^x, estabelecendo-se assim a adesão da bactéria às células da mucosa gástrica do hospedeiro (89,90).

À semelhança da adesina SabA, a adesina BabA (**Figura 1 (C)**) também apresenta um domínio responsável pela ligação a um antígeno de Lewis, neste caso o antígeno sanguíneo Le^b, o que confere à bactéria seletividade pelo hospedeiro humano (89,90). Pensa-se que a ligação da adesina ao antígeno Le^b seja responsável pela ativação do sistema de transporte tipo 4 (T4SS), o que leva à translocação do fator de virulência CagA para o interior das células epiteliais da mucosa gástrica (89,90).

Em paralelo, a capacidade de adesão da proteína externa HopQ ao antígeno carcinogênico embrionário CEACAMs (do inglês *Carcinoembryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecule Family*) (**Figura 1 (D)**), também permite a ancoragem de *H. pylori* às células epiteliais do hospedeiro humano (89,90).

A fosforilação do EGFR também parece levar à ativação da via de sinalização Akt (**Figura 1(E)**), o que resulta na consequente ativação dos fatores de transcrição FoxO, e por fim, na biossíntese da interleucina 8 (IL-8), interleucina mediadora da resposta imune inata e inflamatória inicial aos microrganismos patogênicos como *H. pylori* (89). Em paralelo, a proteína externa OipA promove a adesão da bactéria às células epiteliais através da fosforilação do recetor do fator de crescimento epitelial EGFR presente nas

células hospedeiro (do inglês, *Epidermal Growth Factor Receptor*) (**Figura 1 (F)**), e a consequente ativação da quinase de adesão focal FAK (do inglês, *Focal Adhesion Kinase*), resultando na sinalização extracelular da Erk1 e Erk2 (do inglês, *Extracellular Signal-regulated Kinases 1 and 2*) (89).

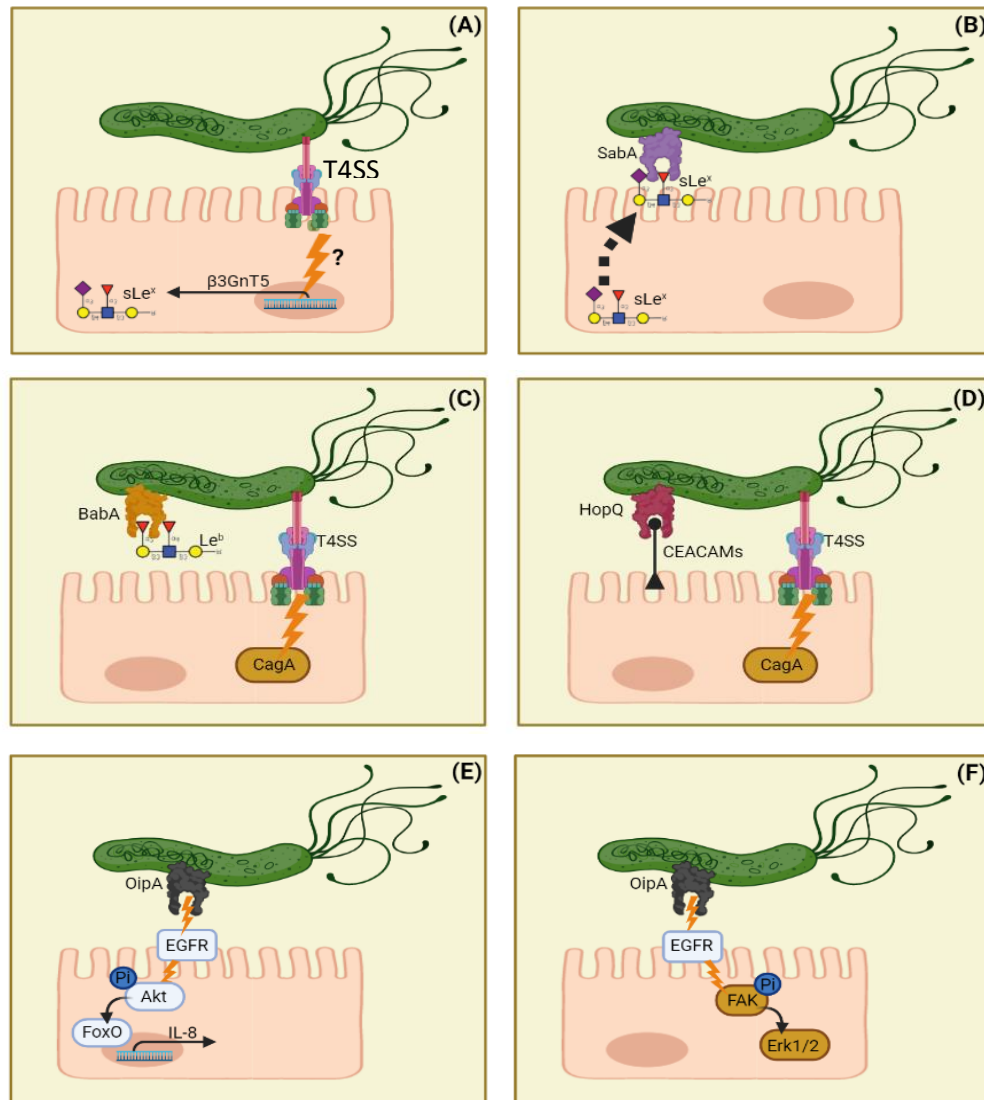


Figura 1. As proteínas da membrana externa no processo de patogênese. (A) Indução da expressão da transferase $\beta 3\text{GnT5}$, através do sistema de transporte tipo 4 (T4SS) por *Helicobacter pylori*. (B) Adesão da SabA ao antigênio sLe^x e consequente adesão da bactéria à célula da mucosa gástrica. (C) Ligação da adesina BabA ao antigênio Le^b , ativação do sistema de transporte tipo 4 (T4SS) e posterior translocação do fator de virulência CagA para o interior das células epiteliais da mucosa gástrica do hospedeiro. (D) Adesão de *H. pylori* às células epiteliais gástricas através da ligação da proteína externa HopQ ao antígeno carcinogênico embrionário CEACAMs. (E) Origem de patogênese, através de uma resposta inflamatória devido à interleucina IL-8. (F) Adesão da *H. pylori* às células epiteliais através da fosforilação do recetor do fator de crescimento epitelial EGFR e posterior ativação da via de sinalização extracelular Erk1 e Erk2. Adaptado de (Matsuo, Y., et al. 2017).

4 A bactéria *Helicobacter pylori* como potencial causa de gastrite

O termo gastrite é utilizado para identificar casos de inflamação gástrica, muitas vezes acompanhada de alterações estruturais na mucosa, podendo ser identificada como gastrite aguda (GA), quando reversível, pontual, transitória e por vezes assintomática, ou como gastrite crónica (GC), quando irreversível e com sintomatologia bem definida (91). Na maioria dos casos de gastrite a sintomatologia manifestada, como dor abdominal, náuseas, vómitos e sangramento no trato gastrointestinal, pode estar associada à presença de fatores de risco (92).

Apesar de não existir uma correlação suficientemente clara entre o desenvolvimento de gastrite aguda e entre estilos de vida como os hábitos tabágicos, o consumo de álcool e cocaína, e fatores de risco como a toma de anti-inflamatórios não Esteroides (AINEs), e aspirina, sabe-se que existe uma forte evidência entre a bactéria *H. pylori* e uma maior prevalência de gastrite nos indivíduos infetados pela bactéria (91,93,94). Também o stress e alguns alimentos podem influenciar positivamente o aparecimento de gastrites (92).

Assim, os fatores acima referidos, podem favorecer diretamente alterações da mucosa gástrica, como eritema, hemorragia superficial da lâmina, descamação da mucosa, infiltração de neutrófilos e necrose da mucosa, o que leva à perda da função de síntese de prostaglandinas (92).

Uma vez que os casos de GA são maioritariamente reversíveis, a terapêutica farmacológica fundamenta no alívio dos sintomas e no uso de classes supressoras de ácido através de IBPS em paralelo às medidas não farmacológicas, que se centram em medidas preventivas, cujo objetivo é evitar a exposição aos fatores de risco mencionados acima (92).

Ao contrário das gastrites crónicas, a maioria das gastrites agudas com origem na infeção por *H. pylori* raramente são devidamente identificadas, o que justifica o posterior desenvolvimento para GC em cerca de 90% dos casos de infeção prolongada pela bactéria (92,95).

No último caso, a gastrite crónica pode ser manifestada sob a forma não atrófica ou sob a forma atrófica, dependendo da existência de resposta autoimune face a uma doença, como a doença de Crohn, ou à presença de outras infeções que não por *H. pylori*, sendo que a necessidade de identificar corretamente o tipo de GC prende-se com os

diferentes riscos de desenvolver metaplasia, displasia e carcinoma nestes dois eventos (96–98).

Estima-se que 50% dos casos de GC cujos pacientes expostos por longos períodos de tempo à bactéria *H. pylori* desenvolvem manifestações sob a forma atrófica, patologia responsável pela maior densidade de células inflamatórias no corpo e antrum do estômago e responsável pela perda da função das glândulas oxínticas, com posterior perda da secreção de ácido clorídrico e fator intrínseco, diminuição da absorção de cobalamina e ferro, e risco acrescido de anemia e adenocarcinoma gástrico devido a metaplasias no corpo e antrum do estômago (92,96).

Desta forma, o plano terapêutico é fundamentado primeiramente no objetivo de erradicar a bactéria, através de uma terapêutica cruzada de antibióticos com um grau de erradicação de pelo menos 90%, na diminuição da inflamação gástrica e na recuperação das funções gástricas (99,100). Posteriormente o plano terapêutico deve centrar-se na possibilidade de reverter as alterações metaplásicas e na prevenção de eventos carcinogênicos (100).

Na realidade, existe evidência da recuperação da estrutura histológica do corpo e antrum gástrico, nos indivíduos infetados, após a erradicação da bactéria *H. pylori* (101).

De notar que, ao contrário da GA, a existência da atrofia no corpo do estômago está associada a pouca secreção ácida (100). Desta forma, o recurso a sais de bismuto, em associação com os IBP, revelou-se mais promissor devido às capacidades antibacterianas de inibição do crescimento e maior eficácia na erradicação de *H. pylori*, quando associado a um regime duplo, triplo e quadruplo de antibióticos (100). Atualmente, já existem formulações comercializadas, como as cápsulas Pylera[®], contendo 140mg de um sal de bismuto na forma de subcitrato de bismuto potássico, 125mg de metronidazol e 125 mg de Tetraciclina, que revelam resultados de eficácia na ordem dos 90% na erradicação da bactéria *H. pylori* (100,102).

No caso da gastrite atrófica autoimune, GAAI, ocorrem alterações a nível do valor de pH e das dobras gástricas, fundamentalmente no fundo e no corpo do estômago, devido à infiltração de linfócitos na mucosa oxíntica e posterior perda da função, resultado, também, numa menor secreção de ácido clorídrico (99,100). Também na GAAI existe a presença da bactéria *H. pylori* em cenários paralelos, quer seja devido a uma infeção concomitante, quer seja devido à progressão de gastrite induzida pela bactéria para GAAI, pelo que a deteção e consequente erradicação de *H. pylori* representa uma estratégia fundamental no plano terapêutico, devido aos riscos acrescidos associados à infeção pela

bactéria (99). Também na GAAI, as medidas farmacológicas dependem do quadro clínico e centram-se primeiramente no alívio e resolução de manifestações hematológicas e neurológicas, devido a anemias por deficiência em ferro e cobalamina, e manifestações gastrointestinais (99).

4.1 A bactéria *Helicobacter pylori* como potencial causa de Úlceras Pépticas

A indução de lesões da mucosa e submucosa do estômago e do duodeno, com pelo menos 0.5 cm, devido ao ambiente péptico ácido do trato gástrico, do ponto de vista clínico, designam-se por Úlceras Pépticas (UP) (103,104).

O aparecimento de UP ocorre predominantemente entre os 25 e os 65 anos, representando 70% dos casos totais, no entanto quando silenciosas são mais frequentes em idosos e doentes sob terapêutica de AINEs (105). Contudo, o risco de mortalidade e a necessidade de hospitalização tem vindo a diminuir principalmente devido uma menor incidência de *H. pylori*, a melhores condições de higiene, a um aumento das prescrições capazes de regular a acidez do lúmen gástrico e a um maior cuidado e sensibilidade na hora de utilizar medicamentos da classe dos AINEs (104).

É recorrente os utentes afetados por UP desenvolverem sintomatologia associada à patologia, como dor ou inchaço abdominal, dispepsia, náuseas, vômitos e perdas de peso, no entanto, dois terços dos utentes não manifestam sintomatologia, pelo que é necessário um especial cuidado no diagnóstico da patologia (104,106). Como tal, a maior frequência de dor aquando de estômago vazio e o alívio com ingestão de alimentos diferenciam a úlcera duodenal da úlcera gástrica, que tenderá a não apresentar alívio com a ingestão de alimentos e apresenta dores com maior frequência uma a três horas pós-prandial (61).

A **Figura 2** apresenta um fluxograma de decisão para o diagnóstico e tratamento de úlceras pépticas, pelo que ajuda a despistar alguns fatores e hábitos de risco, como o uso irresponsável de AINEs, a toma de corticosteroides, a toma de antibióticos (como a eritromicina), o stress, a toma excessiva de café e o consumo de álcool e tabaco, que podem contribuir para uma maior incidência e prevalência da UP (103,106). Desta forma, do ponto de vista do farmacêutico como agente de saúde pública, é essencial alertar e educar a população para hábitos de vida saudáveis. No entanto, é importante salientar que a toma de AINEs em utentes infetados por *H. pylori* está fortemente associado a uma manifestação mais recorrente de UP, em comparação aos utentes apenas com um dos fatores de risco major, devido à inibição da cicloxigenase 1, COX-1, presente na células

do trato gastrointestinal, que leva a uma redução da segregação de prostaglandinas, e, posteriormente, a uma menor proteção da mucosa gástrica (107,108).

Desta forma, o aconselhamento de medidas não farmacológicas que diminuam fatores de risco, como a abstinência de AINEs COX-1 e de corticosteroides, associado à diminuição de alimentos que promovam dispepsia, como o álcool, o tabaco, o café e comidas picantes, servem de base inicial para o plano de tratamento de UP (61,106,109).

Em paralelo às medidas não farmacológicas, existe uma associação das medidas farmacológicas, que podem variar consoante um diagnóstico positivo ou negativo da infecção por *H. pylori*, já que a erradicação da bactéria contribui para uma menor reincidência de UP em comparação com os casos diagnosticados como positivos sem erradicação da bactéria (106,109,110). Naturalmente, para uma maior adesão à terapêutica, o tratamento deverá ser eficaz, bem tolerado, fácil de cumprir e económico (61).

Assim, nos casos diagnosticados como negativos, as medidas farmacológicas sustentam preferencialmente a administração de IBPs com o fim de promover a cicatrização das úlceras, de proteção da mucosa gástrica e de evitar o reaparecimento de úlcera, contudo a duração do tratamento e dose de IBP dependerá diretamente da etiologia e localização da ulcera (106,109).

A neutralização de um ambiente ácido também pode ser alcançada através de Antagonistas dos Recetores H₂ da Histamina (ARH₂H, no entanto esta classe está associada a maiores recorrências de úlceras pós tratamento, comparando relativamente aos IBPs (61,106). Excepcionalmente, aquando necessário um diagnóstico pós-tratamento, a neutralização do pH gástrico deverá ocorrer com recurso a um ARH₂H, 2 semanas antes do teste, uma vez que os IBPs podem levar a resultados de diagnóstico falsos-negativos (61,109).

Nos casos de UP livres de infecção por *H. pylori*, o recurso de Análogos Sintéticos das Prostaglandinas (ASPG) para proteção gástrica é desaconselhada, devido à eficácia de proteção ligeiramente menor que os ARH₂H (95,96). Por outro lado, a utilização de ASPG revelou-se mais eficaz na prevenção de úlceras gástricas e na proteção gástrica da agressão da Aspirina, comparando relativamente aos IBPs e aos ARH₂H (111).

Nos quadros clínicos diagnosticados como positivos, o algoritmo farmacológico é mais complexo, mas sustenta principalmente na erradicação da bactéria através de antibióticos e na promoção da cicatrização das úlceras através de IBPs, pelo que no caso da persistência dos sintomas após o tratamento é necessário realizar testes de diagnóstico

complementares, reavaliar a adesão à terapêutica e considerar a eficácia e os efeitos laterais de um plano terapêutico mais elaborado, como o recurso a uma terapia quadrúpla (106,109).

Por último, quando não é possível suspender a toma de AINEs em doentes com patologias crónicas, recomenda-se a troca para um AINE de COX-2, e em paralelo a toma de IBP como tratamento das úlceras (61,106,109). Como coterapia, para proteção da mucosa gástrica e evitar reaparecimentos de complicações relacionadas com úlceras, recomenda-se a prescrição simultânea de um IBP ou de misoprostol, análogo das prostaglandinas E₁ (61,106,109).

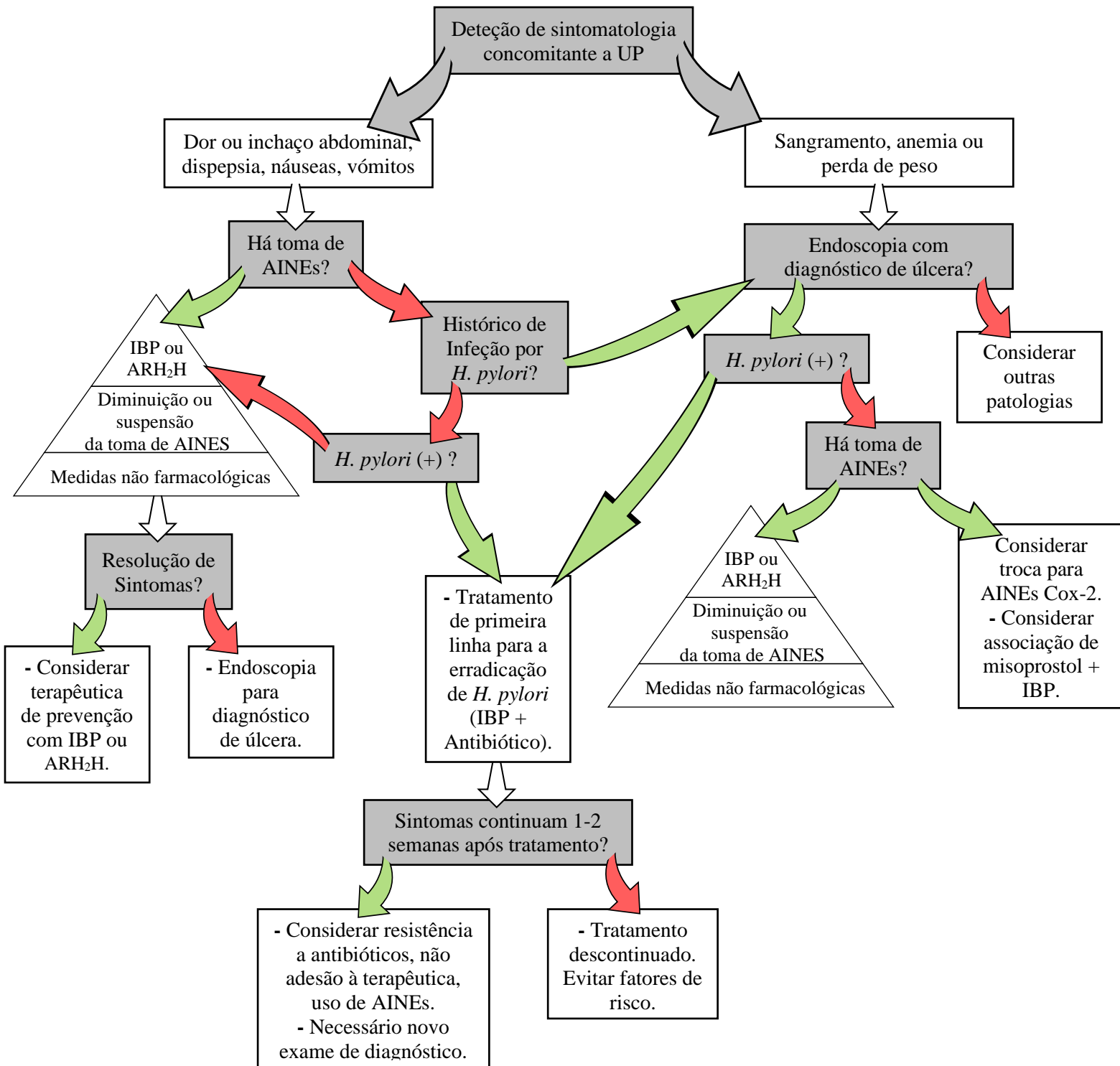


Figura 2. Fluxograma de decisão para diagnóstico e tratamento de úlceras pépticas. “Caixa de Cor Azul”, algoritmo de decisão; “Seta Verde”, resposta positiva ao algoritmo de decisão; “Seta Vermelha”, resposta negativa ao algoritmo de decisão. Adaptado de Wells, B. et al, 2009.

4.2 A bactéria *Helicobacter pylori* como agente carcinogénico

O cancro do estômago é a terceira maior causa de morte por cancro em Portugal, para ambos os sexos, e o quinto tipo de cancro mais frequente no mundo, sendo que, entre 2010 e 2014, o cancro do estômago foi responsável por mais de 11600 óbitos em Portugal (112–114). Em 2012, foram diagnosticados mais de 952 000 novos casos de cancro do estômago em todo o mundo, sendo mais prevalente em adultos com idades superiores a 50 anos e mais prevalente nos países em vias de desenvolvimento (114,115).

A maioria dos casos de cancro gástrico (CG) é assintomática, pelo que os sintomas mais comuns, como dispepsia, perdas de peso, dor abdominal e disfagia, são maioritariamente identificados apenas em estados avançados (116).

Alguns fatores ambientais e estilos de vida, como a obesidade e os hábitos tabágicos, as dietas hipersalinas e as dietas à base de alimentos defumados, ricos em nitratos e pickles, assim como o consumo de carne e peixe desidratado, carne vermelha e hidratos de carbono refinados, também estão associadas a um maior risco de desenvolver cancro gástrico (116,117). Por outro lado, o consumo regular de alimentos ricos em fibra, de vegetais e de fruta está inversamente associado a um maior risco de desenvolver cancro do estômago (117).

O desenvolvimento para cancro do estômago resulta de um processo complexo multifatorial, mas mais comum em doentes com infeção persistente por *H. pylori*, que, primeiramente, evolui para gastrite crónica atrofica, posteriormente para metaplasia e, por fim, para displasia e adenocarcinoma (116). Na realidade, infeções contínuas e persistentes durante a infância e adolescência, sem recurso a estratégias de erradicação de *H. pylori*, estão associadas ao desenvolvimento de CG em idades mais avançadas (117,118). Naturalmente, o risco de desenvolver cancro do estômago, sendo um processo complexo multifatorial, resulta de uma interação entre a suscetibilidade genética e resposta imunitária e entre o grau de extensão, a virulência e o historial de infeções por *H. pylori* (116–118). Como abordado anteriormente, a bactéria *H. pylori*, é caracterizada por diversos fatores de virulência, como o gene *vacA*, responsável pela indução de uma resposta inflamatória na mucosa gástrica, e o gene *cagA*, responsável pela infiltração células sanguíneas mononucleares e neutrófilos capazes de induzir atrofia e alterações nas células epiteliais gástricas, patologias que na sequência podem evoluir para metaplasia, displasia e, por fim, CG (117).

O CG é diferenciado segundo a etiologia anatómica em Cardia CG, caso surja na região gastro-esofágica, e em Não-Cardia CG, caso surja na porção inferior do estômago,

pelo que será de esperar uma relação entre a região anatómica de prevalência de *H. pylori* no estômago e o desenvolvimento de Não-Cardia CG, evidenciada por 86% dos casos Não-Cardia CG testados como positivos à bactéria (114,116,119).

Numa última análise, a principal forma de evitar a evolução para CG reside principalmente na consciencialização e adesão a hábitos e estilos de vida saudáveis e na renúncia aos fatores de risco mencionados acima, com intervenção de estratégias de erradicação nos casos diagnosticados como positivos para a bactéria *H. pylori*.

4.3 A bactéria *Helicobacter pylori* e o Linfoma MALT

O linfoma gástrico não-Hodgkin extranodal é o linfoma gástrico extra-nodal mais comum, representando entre 30% e 40% da totalidade de todos os linfomas extra-nodais (120,121). Na realidade, mais de 90% dos linfomas gástricos primários derivam de células B, comumente designados por linfomas MALT (do inglês, *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*), sendo a maioria de baixo grau (120,121).

O Linfoma MALT é tipicamente de baixo grau e é caracterizado por uma densa invasão e infiltração de tecido linfoide, capaz de atrofia das glândulas gástricas, o que resulta numa lesão linfoepitelial nos tecidos epiteliais gástricos, mais frequentemente na zona do antrum (122). Tipicamente, as manifestações clínicas associadas ao linfoma MALT não são específicas da patologia e incluem sintomas como dor e desconforto abdominal, náusea, vômitos e hemorragias associadas a perdas de peso e anemias por falta de ferro (122,123).

O desenvolvimento do tecido gástrico normal e saudável para um linfoma MALT é estimulada pela infeção crónica por *H. pylori*, cujas taxas de prevalência da bactéria aproximam-se de 79% dos casos de linfoma de MALT, no entanto a prevalência depende diretamente do grau de severidade do linfoma e da estirpe da bacteriana (124,125).

O papel da expressão da proteína CagA pelas estirpes de *H. pylori* portadoras do gene *cagA* no linfoma MALT prende-se com a capacidade de inibir a acumulação da proteína p53, responsável pela via de regulação da apoptose e supressão tumoral, e em paralelo com a capacidade de ligar-se à proteína tirosina fosfatase SHP-2, através da fosforilação, induzindo a proliferação de linfócitos B (126). Na realidade, cerca de metade dos indivíduos com linfoma MALT apresentam uma infeção concomitante de *H. pylori*, cuja estirpe é capaz de produzir a proteína CagA, o que sugere que a proteína CagA está associada diretamente com o desenvolvimento de linfoma MALT gástrico (126,127).

Não menos importante, a proteína VacA é capaz de inibir a ativação e proliferação dos linfócitos B e T e consegue induzir uma resposta positiva da via de sinalização da apoptose celular, pelo que apenas as estirpes de *H. pylori* com a combinação alélica s2/m2 com aparente baixa virulência revelam predominância no linfoma MALT gástrico, já que as estirpes com a combinação alélica s1/m1 favorecem o controlo da proliferação das células B e a apoptose das células tumorais (126).

Em paralelo, há evidências de regressão do linfoma nos casos de linfoma MALT gástrico, quando abordada uma estratégia de erradicação da bactéria *H. pylori* complementar às estratégias mais invasivas de quimioterapia, radioterapia e cirurgia (122,125). A extensão da regressão depende, naturalmente, de diversos fatores, sendo que quando implementada a terapêutica de erradicação em estágios iniciais do linfoma MALT gástrico há evidências de remissão superiores, aproximadamente 93% dos casos e evidências de remissão total entre 60% e 80% dos casos (125,128). Após a abordagem da estratégia de erradicação mais adequada é recomendado métodos de diagnósticos complementares periódicos, que avaliem a reincidência da bactéria, assim como o devido acompanhamento do utente, para avaliar e adequar as estratégias terapêuticas de acordo com o grau de remissão do linfoma (129).

Por fim, dadas as evidências acima mencionadas, destaca-se, mais uma vez, a necessidade emergente de estratégias de erradicação da bactéria *H. pylori* como medida profilática primária nos doentes infetados.

5 Classes de antibióticos utilizados, mecanismos e alvos terapêuticos

Para um maior enquadramento geral no tema principal da monografia é necessário abordar alguns conceitos chave do âmbito farmacológico dos medicamentos antibióticos. Desta forma, o presente capítulo é dedicado a um breve resumo das características gerais da amoxicilina, claritromicina, metronidazol e levofloxacina, ou seja, dos atuais antibióticos utilizados no tratamento de erradicação da bactéria *H. pylori*, bem como os seus mecanismos farmacológicos e alvos terapêuticos.

5.1 Amoxicilina

Comercializada desde 1972, a amoxicilina, **Figura 3**, continua um dos antibióticos mais prescritos mundialmente no combate a infeções do trato respiratório superior e inferior, infeções bacterianas de tecidos moles e da pele (130). Derivado semi-sintético da penicilina, a amoxicilina foi descoberta em meados dos anos 50, pelo que se insere na classe dos β -lactâmicos (130,131).

A capacidade de interferir com a biossíntese dos peptidoglicanos da parede celular bacteriana é uma característica universal aos antibióticos da classe dos antibióticos β -lactâmicos, o que confere uma larga escala de atividade contra bactérias Gram-positivas, mas com atividade limitada contra bactérias Gram-negativas (130,132).

A estrutura da amoxicilina é similar à estrutura do substrato D-Alanina-D-Alanina presente no peptidoglicano, o que permite ao antibiótico ligar-se ao domínio PBP-1A (do inglês, *Penicillin Binding Protein 1A*) da transpeptidase bacteriana (132,133). Consequentemente ocorre a acilação do terminal-C da enzima, o que leva a uma atividade autolítica na bactéria (132,133)

A amoxicilina apresenta um tempo de meia vida de 1 a 2 horas e uma elevada biodisponibilidade, entre 70 e 90%, no entanto, apesar de apresentar estabilidade em meio ácido, recomenda-se a toma concomitante de um inibidor da secreção ácida gástrica como os IBP, com o intuito de aumentar a atividade da molécula (130,132).

A toma de amoxicilina está frequentemente associada a distúrbios ligeiros no trato gastro-intestinal, como vómitos, náuseas e diarreia, no entanto, do ponto de vista toxicológico apresenta um intervalo de segurança melhor do que a de outros antibióticos da mesma classe (130,132).

Por último, do ponto de vista de um Farmacêutico Comunitário, a comercialização de genéricos da amoxicilina permite a dispensa de prescrições médicas com menores

custos associados, e conseqüentemente, do ponto de vista teórico, uma maior facilidade na adesão à terapêutica de erradicação.

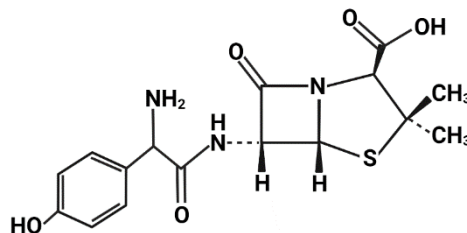


Figura 3. Estrutura molecular da amoxicilina.

5.2 Claritromicina

Vastamente utilizada no tratamento de infecções do trato respiratório, infecções na pele e infecções por *H. pylori* associadas a úlceras pépticas, a claritromicina pertence ao grupo dos macrólidos (134). Os macrólidos apresentam um anel lactona, normalmente contendo 14 a 16 átomos de carbono, como o caso da claritromicina (**Figura 4**), um macrólido de segunda geração com 14 carbonos, derivado semissintético da eritromicina (135,136).

A atividade de interferir com a biossíntese de proteínas bacterianas através de inibição ribossomal, confere a esta classe de antibióticos um espectro de ação bastante alargado para bactérias Gram-positivas, mas limitado para bactérias gram-negativas (135,136). A inibição do acoplamento do t-RNA ao ribossoma deve-se à ligação do anel lactona da claritromicina ao domínio a nascente da saída peptídica, NPET (do inglês, *Nascent Peptide Exit Tunnel*) e a adjacente do centro responsável pela peptidil transferase, PTC (do inglês, *Peptidyl Transferase Centre*) da subunidade 50S ribossomal (136). Desta forma, este tipo de antibióticos tem atividade bacteriostática, podendo ser bactericida em doses elevadas (134).

De notar que os macrólidos de segunda geração, como é o caso da claritromicina, apresentam uma maior estabilidade a valores de pH ácido, melhor absorção oral e maior biodisponibilidade oral, o que contribui para a administração de doses menores e menos frequentes (mais espaçadas), em comparação com o antibiótico eritromicina (135,136). Do ponto de vista do farmacêutico, a administração de doses menores leva a uma redução significativa de efeitos adversos e tomas menos frequentes permitem uma maior adesão da terapêutica perante o utente.

A claritromicina apresenta boa tolerância pelo organismo, pelo que a metabolização deste antibiótico ocorre no fígado pelo citocromo P450 3A4 e dá origem ao

metabolito 14-hidroxiclaritromicina, com atividade antibacteriana, sendo, posteriormente, excretado, através da urina, 30 a 40% da dose oral de claritromicina (134).

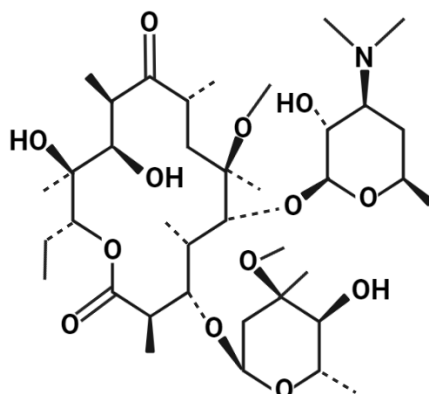


Figura 4. Estrutura molecular da claritromicina.

5.3 Metronidazol

O antibiótico metronidazol (**Figura 5 (A)**) tem sido utilizado como primeira linha no tratamento de infeções bacterianas anaeróbias e inflamatórias do trato gastrointestinal há mais de 45 anos (137,138). Este antibiótico pertence ao grupo dos derivados do nitroimidazol (137,138).

Largamente utilizado em infeções por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, o metronidazol apresenta alguma seletividade para as bactérias anaeróbias e microaerofílicas, como a *H. pylori* (138).

Pensa-se que a seletividade do metronidazol para as bactérias anaeróbias e microaerofílicas deve-se à presença do grupo nitro na estrutura molecular, característica comum nos derivados do nitroimidazol (138,139). Desta forma, o metronidazol é considerado um pró-fármaco, uma vez que apresenta atividade antibacteriana apenas após difusão passiva pela membrana celular e, apenas após sofrer redução do grupo nitro pela ferredoxina e flavodoxina bacteriana, dando origem a metabolitos celulares tóxicos como o ácido N-(2-hidroxietil) oxâmico (**Figura 5 (B)**), e o ácido oxâmico (**Figura 5 (C)**) (137,139). Por fim, os dois compostos induzem danos no DNA bacteriano ao formarem aductos com a guanósina e as espécies de oxigénio reativas formadas (137,139).

Numa última análise, o metronidazol apresenta uma elevada biodisponibilidade oral, 90%, é metabolizado pelo fígado e é, geralmente, bem tolerado, mas pode manifestar-se com sintomatologia ligeira como náuseas, dores abdominais e

diarreia (139). No entanto, embora pouco conclusivo, pensa-se que o metronidazol induz genotoxicidade dada a capacidade de formar aductos e lise das cadeias de DNA, especialmente entre as pontes de hidrogénio estabelecidas entre a adenina e a timina (137,139).

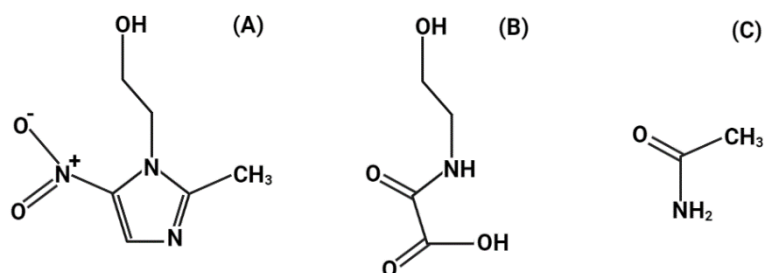


Figura 5. Metranidazol e metabolitos celulares tóxicos resultantes da sua redução. **(A)** Estrutura molecular do metronidazol. **(B)** Estrutura molecular do ácido N-(2-hidroxietil) oxâmico. **(C)** Estrutura molecular do ácido oxâmico.

5.4 Levofloxacina

O antibiótico levofloxacina (**Figura 6**) tem sido amplamente utilizado contra várias bactérias Gram-negativas incluindo *H. pylori*, mas também bactérias atípicas intracelulares Gram-positivas (140). A levofloxacina pertence aos antibióticos da classe fluorquinolonas de 3.^a geração (140). Estruturalmente, as fluorquinolonas e as quinolonas partilham uma base entre si, com um ácido carboxílico na posição 3 e uma cetona na posição 4, mas com a diferença do grupo fluor na posição 6, o que facilita a entrada nas células bacterianas e a afinidade pelo alvo terapêutico (140,141).

No decorrer da replicação bacteriana normal, as enzimas DNA girase e topoisomerase IV desempenham um papel fundamental no superenrolamento da molécula de DNA bacteriano (140). Desta forma, o mecanismo de ação das quinolonas de 3.^a geração prende-se com a capacidade de inibir a transcrição e a replicação de ácidos nucleicos bacterianos, através da ligação e inibição do complexo estabelecido entre a topoisomerase IV e o DNA bacteriano e entre a DNA girase e o DNA bacteriano, no caso das bactérias Gram-positivas (140).

A levofloxacina apresenta elevada biodisponibilidade, cerca de 99%, sendo maioritariamente excretada via renal e via hepatobiliar, desta forma, do ponto de vista do farmacêutico, é necessário o ajuste da posologia em doentes com disfunção renal e/ou

hepática. (142,143). A utilização de levofloxacina no tratamento de infecções bacterianas também revela uma boa eficácia e tolerância do organismo humano, com efeitos adversos pouco frequentes e maioritariamente ligeiros relacionados com o trato gastrointestinal (141,144). Mais uma vez, do ponto de vista do farmacêutico, a utilização de um antibiótico bem tolerado pelo organismo, como a levofloxacina, leva a ganhos substanciais na efetividade do plano terapêutico, já que existe menos probabilidade do utente não aderir à terapêutica de erradicação.

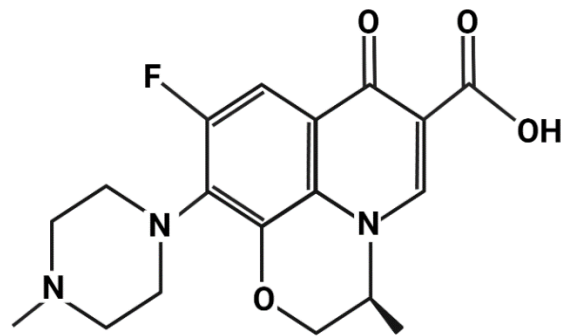


Figura 6. Estrutura molecular da levofloxacina.

6 A submissão dos planos terapêuticos convencionais à resistência de *Helicobacter pylori*

Ao longo do século XXI, surgiu uma maior consciencialização das resistências bacterianas aos antibióticos utilizados nos diversos regimes terapêuticos. Sem exceção, diversos estudos demonstram um aumento de resistência a determinadas classes de antibióticos utilizados no combate à infecção por *H. pylori*, um aumento das taxas de reincidência após erradicação da bactéria, e, conseqüentemente, um menor grau de erradicação da bactéria (145).

Em paralelo, em 2017 a classificação de prioridade elevada atribuída à bactéria *H. pylori* pela Organização Mundial da Saúde, devido à elevada prevalência de infecções pela bactéria e ao aumento de casos de resistência a diferentes classes de antibióticos, permitiu uma maior consciencialização do impacto das resistências aos antibióticos na saúde pública mundial (7,146).

Como expectável, o aumento de resistência da bactéria *H. pylori* a determinadas classes de antibióticos é sinérgico à elevada prevalência da bactéria em alguns países, pelo que há a necessidade emergente de estratégias de erradicação eficazes, bem toleradas e suportáveis economicamente, em complementaridade ou mesmo em substituição das estratégias convencionais (145).

6.1 Terapêutica convencional – IV consenso de Maastricht

A base da terapêutica convencional surge com a participação de quarenta e quatro especialistas do European Helicobacter Study Group no decorrer do IV consenso de Maastricht, em 2012, que delinearão orientações médicas adequadas ao diagnóstico, ao tratamento de patologias associadas à bactéria *H. pylori*, à erradicação da bactéria e à prevenção, em particular, do desenvolvimento de CG (147).

As diferentes orientações médicas do IV consenso de Maastricht procuraram responder positivamente ao aumento de casos de resistência bacteriana aos planos terapêuticos de 2010, focando-se em como responder em caso de ineficácia das diferentes estratégias terapêuticas, focando-se nos países e regiões com elevada percentagem de resistência à claritromicina, ao metronidazol e à levofloxacina e focando-se nos doentes com alergia aos derivados da penicilina (147).

Posto isto, através das orientações dadas pelo IV consenso de Maastricht há a padronização da dose e frequência adequada para cada classe de medicamentos, com visto

na otimização da estratégia de tratamento e erradicação escolhida para cada situação em particular (147).

6.2 Terapêutica convencional – plano duplo, triplo e quadruplo

As terapêuticas convencionais, podem ser agrupadas e resumidas em várias categorias (**Tabela 5**), de acordo com a complexidade, grau de eficácia e classes dos medicamentos utilizados, sendo o plano duplo o mais simples, composto por uma classe anti-ulcerosa, como compostos de bismuto ou IBPs, e por uma classe de antibiótico, normalmente amoxicilina ou claritromicina (148). Na categoria de terapêuticas convencionais, o plano duplo é o plano com maior tolerância pelo utente, no entanto, é o plano com menor eficácia na erradicação de *H. pylori*, contando com um grau de eficácia entre os 40 e os 60% (148).

Tabela 5. Principais características dos planos de tratamento convencionais para a erradicação da bactéria *H. pylori*. +, Boa tolerância e muita complexidade; +/-, Moderada tolerância e complexidade; -, Pouca tolerância e complexidade; PQB, Plano Terapêutico Quadruplo com Sais de Bismuto; PQsB, Plano Terapêutico Quadruplo sem Sais de Bismuto; PTamo-lev, IBP dose standard 2id, 500 mg de amoxicilina 4id e 500 mg de levofloxacina por dia.

Plano de tratamento	Eficácia de Erradicação	Tolerância dos Efeitos Adversos	Complexidade do plano
Plano Duplo	40% - 60%	+	-
Plano Triplo	80%	+/-	+/-
PQB	90%	+/-	+/-
PQsB	90%	+/-	+
PTamo-lev	70% - 80%	+/-	+/-

Segundo as normas da direção geral de saúde (DGS), a terapia tripla elabora a primeira linha de erradicação de *H. pylori* e inclui a combinação de um medicamento anti-ulceroso, como compostos de bismuto, IBPs ou ranitidina na dose standard, e de dois antibióticos de classes distintas, normalmente 500 mg de claritromicina 2id, combinado com 1000 mg de amoxicilina 2id ou com 500 mg de metronidazol 2id, durante 10 a 14 dias (149). Segundo o relatório de IV consenso de Maastrich, a utilização da terapia tripla

durante períodos de tempo mais prolongados, até aos 14 dias, associada a uma maior dose de um IBP, tipicamente 40 mg de omeprazol, assegura taxas de erradicação de *H. pylori* na ordem dos 90%, no entanto, existe evidências do decréscimo da eficácia ao longo do presente século para valores na ordem dos 80%, devido ao aumento de resistências a antibióticos por *H. pylori* (147,150,151). De notar que a utilização da terapia de erradicação tripla revela uma maior prevalência de efeitos adversos menos toleráveis pelo utente durante o tratamento em relação ao plano duplo, como diarreia, dor e desconforto abdominal, urticária e perdas de peso, o que em alguns casos, pode dificultar uma boa adesão à terapêutica e, consequentemente, um menor grau de erradicação (152).

A segunda linha terapêutica reside principalmente numa escolha ponderada entre uma terapêutica quadrupla com sais de bismuto (PQB) e entre uma terapêutica quadrupla sem sais de bismuto (PQsB) (147).

O plano terapêutico PQB tem como base o plano terapêutico triplo, um IBP dose standard a 2id, associado a 500 mg de metronidazol 3id e 500 mg de tetraciclina 4 id, com a adição de um composto de bismuto, normalmente 120 mg de subcitrato ou subsalicilato de bismuto 4id, e surge como recomendação nas áreas onde há evidência de resistência à claritromicina (147). O PQB é caracterizado por valores de eficácia de erradicação superiores a 90% e pela prevalência de efeitos adversos com o mesmo grau de incidência que o plano terapêutico triplo (147,153,154).

Em paralelo, o plano PQsB também tem como base o plano terapêutico triplo, mas existe uma associação com um terceiro antibiótico, que garante valores de eficácia de erradicação na ordem dos 90%, sem comprometer a tolerância da terapêutica com uma prevalência de efeitos adversos semelhante à do plano triplo (155–157). Em contra partida, o PQsB é ligeiramente mais complexo que o plano triplo e que o PQB, devido à toma acrescida do terceiro antibiótico duas vezes por dia, o que pode resultar numa menor adesão à terapêutica e, consequentemente, numa menor eficácia terapêutica (158).

Quando adequada, surge como segunda linha um regime triplo de substituição da claritromicina com um IBP dose standard 2id, 500 mg de amoxicilina 4id e 500 mg de levofloxacina por dia, PTamo-lev, durante um período de 10 dias (147,159). O PTamo-lev tem vindo a ser utilizado como regime de primeira e segunda linha há mais de 15 anos, pelo que o aumento inevitável da prevalência de resistência à levofloxacina contribuem para uma eficácia entre os 70% e os 80%, valor visivelmente menor do que os assegurados por um regime quadruplo (160,161). Não menos importante, o PTamo-

lev revela moderada frequência e severidade dos efeitos adversos, semelhante ao plano triplo, o que contribui para um bom grau de adesão à terapêutica (161).

Caso a erradicação com o plano terapêutico de segunda linha não seja eficaz devido a uma potencial resistência de *H. pylori* ao antibiótico, o mais adequado é testar a suscetibilidade da estirpe de *H. pylori* infetante às diferentes classes de antibióticos e escolher um plano adequado consoante os resultados (147)

Em caso de alergia aos derivados da penicilina, a estratégia de primeira linha mais adequada fundamenta-se na administração de um IBP em conjunto com claritromicina e metronidazol, quando em regiões/países com uma prevalência de resistência da bactéria à claritromicina baixa, no entanto, quando em áreas com elevada resistência à claritromicina, o plano mais adequado corresponde ao de um IBP associado à tetraciclina e metronidazol (147). Em último recurso, no caso da ineficácia da erradicação com o tratamento de primeira linha, um doente alérgico aos derivados da penicilina tem como opção de segunda linha a toma de IBP associada à levofloxacina e claritromicina (147).

6.3 Terapêutica convencional – Lactoferrina

A lactoferrina é uma glicoproteína, com peso molecular compreendido entre os 75 000 e os 80 000 Da, capaz de estabelecer ligações com elevada afinidade a 2 átomos de ferro no meio ácido do estômago (162). Segundo as orientações dadas pelo IV consenso de Maastricht em 2014, a lactoferrina pode ser utilizada como um complemento adjuvante à terapêutica tripla, devido a um alegado aumento da eficácia de erradicação (147). Em paralelo, alguns estudos revelam um potencial benefício da utilização da lactoferrina proveniente do leite bovino como adjuvante da terapêutica tripla de erradicação (162,163).

Na realidade, a administração acrescida de 200 mg de lactoferrina bovina duas vezes por dia, em conjunto com um plano terapêutico tripla padrão durante uma semana, resulta num aumento significativo da taxa de erradicação de *H. pylori*, sensivelmente 95,9%, comparando com a taxa de erradicação para o mesmo plano terapêutico tripla sem a administração de 200 mg de lactoferrina, que atinge cerca de 72,5 % (162). Num segundo estudo, a uma concentração de 40mg/mL de lactoferrina *in vitro*, existe efeito bacteriano em cerca de 50% das amostras, sendo que, aquando dos resultados *in vivo*, o mesmo estudo revela uma taxa de erradicação da bactéria *H. pylori* superior, na ordem de 96,07%, quando administrado um plano terapêutico contendo omeprazole, amoxicilina,

levofloxacina e lactoferrina bovina, em comparação com a taxa de erradicação na ordem de 75%, quando administrado o mesmo plano terapêutico sem lactoferrina bovina (163).

Não menos importante, é de salientar que a administração de lactoferrina bovina em associação com um plano terapêutico triplo não resulta num aumento significativo da taxa de efeitos adversos, o que traduz uma otimização sinérgica da estratégia de erradicação de *H. pylori* sem comprometer uma boa adesão da terapêutica, e consequentemente o resultado clínico positivo do plano terapêutico (162).

Pensa-se que a atividade antimicrobiana da lactoferrina deve-se, primeiramente, à capacidade de sequestrar os íons de ferro livres no lúmen gástrico, o que resulta numa inibição do crescimento bacteriano devido à privação de um substrato essencial à normal atividade bacteriana (162,164). Pensa-se, também, que a atividade antimicrobiana da lactoferrina esteja ligada à capacidade de ligação entre a lactoferrina bovina e os lipopolissacarídeos da parede bacteriana, o que resulta na formação de peróxidos catalisados pelo íon de ferro 3+ da lactoferrina bovina, e posteriormente na alteração da permeabilidade da parede celular e maior influxo do antibiótico para o lúmen citoplasmático da bactéria (162,164). Numa situação limite, pode dar-se a perda da permeabilidade da parede celular da bactéria *H. pylori*, o que resulta em lise celular (162,164).

Não abdicando da potencialidade sinérgica da lactoferrina, numa última análise, alguns estudos revelam que a administração de lactoferrina em associação com o plano terapêutico de erradicação não traz nenhum benefício à estratégia de erradicação, sendo que a adição acrescida de lactoferrina resulta numa maior complexidade do plano terapêutico desnecessária sem um aumento da taxa de erradicação de *H. pylori* suficientemente significativo (165).

6.4 Resistência aos antibióticos dos planos convencionais

Segundo a European Medicines Agency, EMA, a suscetibilidade de uma espécie bacteriana a um antibiótico pode ser dividida em suscetível, quando apresenta taxas de resistência entre 0 e 10%, em suscetível inconstante ou variável, quando apresenta taxas de resistência entre os 10% e os 50%, e em resistente, quando apresenta taxas de resistência superiores a 50% (166). De notar que, uma resistência pode ser dada como primária, quando não existe um tratamento prévio para a bactéria, e como secundária, quando não é alcançada a efetividade de um plano terapêutico.

Como abordado anteriormente, a resistência da bactéria *H. pylori* aos antibióticos dos planos convencionais podem traduzir-se num resultado clínico negativo do plano terapêutico e, posteriormente, num aumento da taxa de reinfeção pela bactéria. Naturalmente, o desenvolvimento de resistências às diferentes classes de antibióticos depende da virulência da estirpe infetante de *H. pylori*, da classe de antibiótico, da região geográfica e da automedicação e também à má adesão ao plano terapêutico levado a cabo pelo infetado (167).

O aumento significativo de resistência à claritromicina no decorrer da última década serve de exemplo para a variação da taxa de resistência consoante a região geográfica (168). Em alguns países asiáticos, como Taiwan, e em países nórdicos da Europa, como a Suécia, a bactéria *H. pylori* permanece suscetível à utilização de claritromicina, com taxas de resistência abaixo dos 10%, no entanto, nos países a ocidente e no sul da Europa a bactéria tem suscetibilidade variável, com taxas de resistência à claritromicina que atingem cerca de 50% em Itália (147,168).

Como indicado na **Tabela 6**, na Europa, à semelhança da claritromicina, a taxa de resistência primária da bactéria *H. pylori* ao metronidazol também se observou um aumento de 38%, entre 2006 e 2008, para 46% entre 2012 e 2016 (169). Entre 2012 e 2016 na região Mediterrânica oriental destaca-se pelo maior valor de taxa de resistência ao metronidazol, 60%, ao contrário do continente americano, que se destaca positivamente das restantes regiões com valores na ordem dos 29% de taxa de resistência primária ao metronidazol (169). Em paralelo, a taxa de resistência da bactéria ao metronidazol apresenta valores mais baixos em idades inferiores aos 65 anos, cerca de 31,9%, em comparação com os infetados de idade superior a 65 anos, que é de 20,5% (167). Também os genes da estirpe infetante revelam afetar os valores da prevalência de resistência da bactéria ao metronidazol, sendo que na ausência do gene *cagA* nas estirpes de *H. pylori* o valor da taxa de resistências é maior do que na presença do gene *cagA* (167).

De notar que na Europa, planos terapêuticos com levofloxacina tem o devido destaque graças à elevada taxa de eficácia na erradicação da bactéria *H. pylori*, e, naturalmente, devido à baixa prevalência de resistências primárias da bactéria à levofloxacina, que são na ordem dos 12% de acordo com o reportado entre 2012 e 2016 (169).

Enquanto a nível mundial a bactéria *H. pylori* permanece suscetível à utilização de amoxicilina e de tetraciclina, com taxas de resistência abaixo dos 10%, esta

suscetibilidade variável na zona europeia para o plano combinado com claritromicina e metronidazol, revelando taxas de resistência primária entre os 11 e os 36% (169).

Embora não exista uma abundância de estudos legítimos, assume-se que Portugal espelha as elevadas taxas de resistência a antibióticos sentidas no centro e sul da Europa, como o caso da resistência primária à claritromicina, na ordem dos 32,2%, e ao metronidazol, na ordem dos 17,3% (170). Como esperado, os valores de resistência secundária ao metronidazol e à claritromicina revelaram-se bastante superiores em comparação com os valores de resistência primária para os mesmos fármacos, na ordem dos 82,4% e dos 48,4% respetivamente (170). Também os valores em Portugal correspondentes à taxa de resistência primária e secundária no plano terapêutico com claritromicina e metronidazol, na ordem dos 4,1% e 19,5% respetivamente, revelam a necessidade emergente de novos planos terapêuticos como estratégias de erradicação de *H. pylori* (170).

Tabela 6. Evolução da taxa de resistência da bactéria *Helicobacter pylori* aos diferentes antibióticos, entre 2006 e 2008 entre 2009 e 2011 e entre 2012 e 2016 na Europa e a taxa de resistência primária e secundária aos diferentes antibióticos e planos terapêuticos em Portugal. Claritromicina, Cla, metronidazol, Met, Levofloxacina, Lev, plano terapêutico combinado com claritromicina e metronidazol, Cla + Met. Adaptado de (Savoldi, A. Et al, 2018) e (Lopo, I. Et Al, 2018).

Antibiótico e planos terapêuticos	2006 - 2008	2009 - 2011	2012 -20 16	R. 1. ^a Portugal	R. 2. ^a Portugal
Cla	28%	23%	28%	32.3%	82.4%
Met	38%	33%	46%	17.3%	48.4%
Lev	15%	13%	12%	---	---
Ttc	---	---	---	0.2%	---
Amx	---	---	---	0.1%	---
Cla + Met	15%	12%	23%	5.1%	19.5%

6.5 Os mecanismos de resistência à amoxicilina

O primeiro mecanismo sugerido para a aquisição de resistência intrínseca da bactéria *H. pylori* à amoxicilina prende-se com a alteração morfológica no domínio PBP-1A da transpeptidase bacteriana, pelo que a amoxicilina pode deixar de conseguir

inibir a transpeptidase bactéria quando surge uma mutação no gene *pbpI* (171). Pensa-se que apesar desta mutação ser a mais frequente, é responsável apenas por taxas mais baixas de resistência à amoxicilina, sendo que, para atingir as taxas de resistência atuais da bactéria à amoxicilina é necessário a bactéria desenvolver mecanismos de resistência adicionais (171).

O segundo mecanismo de resistência sugerido deve-se à utilização de um complexo de proteínas responsáveis pelo efluxo ativo de compostos exógenos às células de *H. pylori*, codificado pelo trímero da família dos genes *hefA*, *hefD* e *hefG* (171,172). De forma mais específica, verifica-se que o valor MIC (do inglês *Minimum Inhibitory Concentration*) para a amoxicilina aumenta consoante o nível de expressão do gene *hefC*, sendo este gene responsável pela expressão de uma proteína de efluxo com alguma afinidade para amoxicilina (171,173). Desta forma, sugere-se o gene *hefC* como mediador específico para a diminuição de amoxicilina no interior das células de *H. pylori*, através do mecanismo de efluxo ativo e não enzimático (171,173).

Em paralelo, a alteração da permeabilidade da membrana bacteriana contribui para o aumento do valor MIC da amoxicilina, pelo que constitui um mecanismo de resistência direto à administração deste antibiótico (171). A bactéria *H. pylori* consegue reduzir a permeabilidade na membrana através da alteração dos genes *hopB* e *hopC*, responsáveis pela síntese das porínas HopB e HopC (membros das PME), que permitem a entrada de substâncias para o interior celular bacteriano (173,174). Desta forma, a administração de antibióticos mais apolares, como a amoxicilina, sofrem uma redução na capacidade de entrar na célula, deixando a bactéria menos suscetível para as mesmas concentrações de amoxicilina (171,174).

O último mecanismo de resistência abordado é um mecanismo geral das bactérias Gram-negativas, que se prende com a sua capacidade de sintetizar uma enzima, a β -lactamase, responsável pela degradação do local ativo da amoxicilina (o anel β -lactâmico) (171). Contudo, no caso da bactéria *H. pylori*, a actividade da β -lactamase parece não ter significado na atribuição de resistência ao tratamento com amoxicilina, pelo que o aumento do valor MIC depende apenas dos restantes mecanismos descritos acima (173,175).

Por fim, os diferentes mecanismos adotados por *H. pylori* para diminuir a concentração de antibiótico intracelular desempenham um papel dinâmico e sinérgico quando disponíveis em simultâneo, pelo que conferem taxas de resistência à amoxicilina mais elevadas em comparação com os mecanismos individuais (171).

6.6 Os mecanismos de resistência à claritromicina

O mecanismo de resistência dominante da bactéria *H. pylori* à claritromicina está, naturalmente, relacionado com alterações morfológicas do alvo terapêutico do antibiótico em questão (173). Desta forma, as inúmeras mutações nos genes responsáveis pela transcrição dos domínios PTC e do domínio NPET levam a uma menor afinidade da claritromicina pela subunidade 50S ribossomal, e conseqüentemente a um valor maior MIC mais elevado (173).

À semelhança do antibiótico amoxicilina, a concentração de claritromicina biodisponível no interior da célula de *H. pylori* também pode ser influenciada pela expressão e ativação das proteínas de efluxo (173,176). É importante salientar que a ativação de mecanismos de efluxo para o antibiótico claritromicina, isolado de outros mecanismos de resistência, não é suficiente para desenvolver uma resistência significativa à claritromicina, uma vez que a claritromicina apresenta maior afinidade pela subunidade 50S ribossomal do que pelas proteínas responsáveis pelo efluxo do antibiótico (177). No entanto, quando associados os mecanismos de efluxo às alterações morfológicas do domínio da subunidade 50S é facilmente observável o aumento do valor MIC à claritromicina (177).

A expressão do gene *spoT*, também está associado à tolerância da claritromicina por *H. pylori* (178). O gene *spoT* codifica a enzima bifuncional SpoT e permite o aumento da tolerância à claritromicina com a formação de biofilme (onde as bactérias mais superficiais no agregado conferem uma barreira protetora face à claritromicina) e através da regulação do transportador de efluxo glucose/galactose (*gluP*), um transportador com afinidade para claritromicina (179,180).

Desta forma, sugere-se mais uma vez que os diferentes mecanismos adotados por *H. pylori* para diminuir a concentração de antibiótico intracelular desempenham um papel dinâmico e sinérgico quando disponíveis em simultâneo, pelo que conferem taxas de resistência aos antibióticos mais elevadas comparando relativamente aos mecanismos isolados (177).

6.7 Os mecanismos de resistência ao metronidazol

A aquisição de resistência da bactéria *H. pylori* ao metronidazol é um fator decisivo para a eficácia dos planos terapêuticos de erradicação com este antibiótico (181).

Pensa-se que o principal mecanismo de resistência ao metronidazol esteja associado aos mecanismos de redução enzimática do metronidazol por *H. pylori*, uma vez

que o metronidazol é um pró-fármaco e para exercer atividade antibacteriana o metronidazol precisa de sofrer ativação através da redução pela ferrodoina e pela flavodoxina bacteriana (181).

Desta forma, verifica-se que a ativação do metronidazol, e posteriormente, a erradicação da bactéria fica comprometida quando na presença de mutações no gene *rdxA*, responsável pela síntese de NADPH nitroredutase não sensível ao oxigênio (NADPH-NRT-NSO), e mutações nos genes *frxA* e *frxB*, responsáveis pela síntese da enzima NADPH-flavina óxido-redutase (NADPH-FORT) e da enzima ferrodoina, respectivamente (181,182).

Na realidade, a maioria das resistências de *H. pylori* ao metronidazol estão diretamente relacionadas com mutações nulas no gene *rdxA*, responsáveis pela inativação da NADPH-NRT-NSO, pelo que deixa de haver ativação do metronidazol no citosol bacteriano, e conseqüentemente há um aumento do valor MIC para o antibiótico (183).

À semelhança das mutações no gene *rdxA*, as mutações nos genes *frxA* e *frxB* podem alterar estruturalmente as proteínas NADPH-FORT e ferrodoina, respectivamente. Conseqüentemente, deixa de haver ativação do metronidazol pelas enzimas NADPH-FORT e ferrodoina, pelo que, a bactéria torna-se menos sensível ao antibiótico.

É importante destacar que mutações apenas nos genes *frxA* e *frxB* não são suficientes para conferirem resistência da bactéria ao metronidazol, no entanto, estas mutações são capazes de desempenhar um papel dinâmico e sinérgico com as mutações no gene *rdxA*, conferindo menor sensibilidade ao metronidazol em comparação com os mecanismos de resistência isolados (182).

Por último, destaca-se o aumento da expressão do gene *hefA*, responsável pelo aumento de efluxo do metronidazol intracelular através de bombas de efluxo ativo, o que confere menor sensibilidade de *H. pylori* ao antibiótico (181,184).

6.8 Os mecanismos de resistência à levofloxacina

O único mecanismo proposto para a aquisição de resistência intrínseca de *H. pylori* ao antibiótico levofloxacina prende-se com a alteração morfológica do domínio QRDR (do inglês, *Quinolones Resistance-determining Region*) da Topoisomerase II, pelo que a levofloxacina deixa de conseguir inibir a Topoisomerase II bacteriana (174).

Desta forma, as mutações nos genes *gyrA* e *gyrB* são responsáveis pelo aumento do valor MIC e da taxa de resistência à levofloxacina, já que impedem a ligação da

levofloxacina à subunidade A e B da Topoisomerase II bacteriana (174,185). De notar que, as mutações no gene *gyrA* parecem ter um papel mais relevante na resistência de *H. pylori* à levofloxacina (83.8%) em comparação com a frequência das mutações no gene *gyr B* (4.4%) (174,185).

Por fim, a falta de evidências para outros mecanismos de resistência da bactéria à levofloxacina parecem justificar a elevada eficácia na erradicação de *H. pylori* com levofloxacina na Europa, bem como a baixa prevalência de resistências primárias da bactéria à levofloxacina, que são na ordem dos 12%.

7 A importância dos Probióticos

Utilizado pela primeira vez por Lilly e Stillwell, em 1965, o termo probiótico deriva do latim e do grego, significando “para a vida” (186,187). Ao contrário dos antibióticos, que tem propriedades químicas capaz de combater a bactéria, os probióticos definem-se como microrganismos vivos capazes de beneficiar a saúde do hospedeiro, quando administrados em quantidade suficiente, segundo a Organização Mundial de Saúde (188,189).

A racionalidade da terapia com probióticos fundamenta-se na reconstituição e correção da microbiota humana em desequilíbrio através da administração de um isolado ou uma mistura de microrganismos em estado viável, que idealmente deverão manter a viabilidade e atividade metabólica após expostos às condições do trato gastrointestinal, como a acidez, enzimas digestivas e temperatura (186,190).

Na **Tabela 7** são indicados os diferentes mecanismos de interação de origem imunológica e não imunológica dos probióticos que podem auxiliar num aumento geral de saúde por parte do consumidor dada a sua versatilidade e evidência em atuar perante múltiplos campos patológicos, como na prevenção de diarreias, de crises de doenças inflamatórias do trato gastrointestinal como a síndrome do intestino irritável, na expressão de propriedades anti-carcinogênicas e na prevenção do cancro colorretal, na reposição da microbiota em casos de infecções do trato urogenital e na capacidade adjuvante de complementar os planos terapêuticos de erradicação à bactéria *H. pylori* (190).

Atualmente, as formulações de probióticos utilizam majoritariamente bactérias do género *Lactobacillus* e do género *Bifidobacterium*, cuja predominância no intestino delgado e no cólon, respetivamente, associada ao metabolismo anaerobio, à digestão de sacarídeos e à secreção de ácido láctico, asseguram uma boa adaptação e viabilidade ao longo do trato gastrointestinal e urogenital (186,188). Embora numa menor proporção, os géneros de bactérias como *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Escherichia* também são utilizados na formulação de diversos probióticos (188).

Tabela 7. Mecanismos de interação de origem imunológica e não imunológica dos probióticos com benefício para o hospedeiro. Adaptado de (Guarner, F. et al, 2017).

Benefícios imunológicos	Benefícios não imunológicos
<ul style="list-style-type: none"> • Indução de tolerância aos antígenos de alguns alimentos; • Modulação do perfil das citocinas; • Estímulo local da concentração de macrófagos, levando ao aumento de antígenos para os linfócitos B. 	<ul style="list-style-type: none"> • Digestão de alimentos e competição com os agentes patogénicos pelos nutrientes; • Alteração do valor de pH, resultando num ambiente desfavorável para os agentes patogénicos; • Eliminação dos radicais livres; • Estímulo da produção de muco epitelial; • Competição com agentes patogénicos pela adesão;

7.1 Probióticos no tratamento da infeção por *Helicobacter pylori*

Como mencionado anteriormente, existem evidências benéficas na utilização de probióticos em complementaridade adjuvante com os planos terapêuticos de erradicação da bactéria *H. pylori* (186,188). Na realidade, ao longo do IV consenso de Maastrich surge a recomendação da utilização concomitante de probióticos com os regimes terapêuticos de erradicação, sendo que ao longo do V consenso de Maastrich, em 2016, há uma maior consciencialização da importância que a microbiota desempenha no trato gástrico, bem como as eventuais potencialidades terapêuticas da utilização de probióticos no combate a esta bactéria (147,191).

De notar que, em alguns casos, é possível aumentar a taxa de erradicação em 10% quando são associados os probióticos contendo espécies de *Lactobacillus* e da levedura *Saccharomyces*, dada a sua capacidade de inibirem o crescimento de *H. pylori*, com os planos de erradicação convencionais, no entanto, quando em monoterapia, os probióticos apresentam taxas de erradicação residuais, na ordem dos 14% (192,193). Em paralelo, a associação de probióticos aos planos de erradicação convencionais triplas e quadruplas contribui para a redução da taxa de efeitos adversos em cerca de 4% dos casos de náuseas e vômitos e cerca de 13% dos casos de diarreia, devido à reposição da microbiota do trato gastrointestinal necessária ao normal transito intestinal, o que consequentemente resulta

numa maior adesão à terapêutica por parte do utente e, por fim, contribui para uma maior taxa de erradicação (192).

Pensa-se que os probióticos promovem o combate à bactéria *H. pylori*, primeiramente, através de um mecanismo não imunológico, devido à secreção de produtos metabólicos, como o ácido acético, o ácido propionico e o ácido láctico, responsáveis pela ação antibacteriana, pela inibição da enzima urease e pela diminuição do valor de pH, proporcionando um ambiente mais inóspito à bactéria *H. pylori* (194). Pensa-se, também, que os probióticos conseguem inibir a adesão da *H. pylori* às células epiteliais tão necessária à sua sobrevivência nas condições adversas no estômago, através da estimulação de secreção de mucinas, responsáveis por uma menor adesão da bactéria ao tecido epitelial e pelo restauro da permeabilidade da mucosa gástrica (194).

Posteriormente, foi reportado que alguns probióticos promovem o combate à bactéria *H. pylori* através de um mecanismo imunológico, nomeadamente devido à modulação do perfil de citoquinas provocarem uma diminuição da atividade gástrica, bem como a inflamação (194).

Desta forma, são sugeridos vários microrganismos para suportar as formulações probióticas no combate à bactéria *H. pylori* devido à sua capacidade imunológica e não-imunológica de inibir o crescimento da bactéria invasora, como de atenuar a taxa de efeitos adversos dos planos terapêuticos de erradicação, como as bactérias *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. john-sonii*, *L. reuteri* e *L. salivarius*, e como as bactérias do género *Bifidobacterium*, e liofilizados da levedura *Sacharomyces boulardii* (191,195). Em contrapartida, ainda residem algumas dúvidas na comunidade científica quanto à dose, duração e efetividade durante algumas terapêuticas de erradicação à bactéria (191).

Numa meta-análise, centrado nas bactérias *Lactobacillus* e na sua capacidade de resistir ao pH ácido do estômago, de diminuir a inflamação provocada pela bactéria *H. pylori* e de inibir o crescimento da mesma, verificou-se que o plano triplo de erradicação composto por um IBP, claritromicina e amoxicilina atingiu maiores taxas de erradicação e menores taxas de reações adversas quando combinados com a administração de probióticos de *Lactobacillus* por períodos de tempo superiores a 2 semanas, comparativamente aos tratamentos com *Lactobacillus* inferiores a 2 semanas (191,196,197). Como é reconhecido, a sobrevivência da bactéria *H. pylori* no trato gástrico depende da adesão inicial às células epiteliais do estômago, pelo que existem evidências de inibição do crescimento de *H. pylori* devido à inibição da adesão da bactéria às células epiteliais do estômago por algumas espécies de *Lactobacillus*, como *L.*

acidophilus e *L. rhamnosus* (198). O benefício da administração probióticos compostos por estirpes de *Lactobacillus* na infecção pela bactéria *H. pylori* prende-se também com a inibição da produção da IL-8 pela bactéria invasora, o que resulta na inibição da inflamação da camada epitelial gástrica, e posteriormente, num menor desconforto do doente (198).

Numa segunda meta-análise, a administração concomitante de estirpes de *Saccharomyces boulardii* também contribuiu para um aumento da taxa de erradicação da bactéria e para uma diminuição do risco de efeitos adversos associados à terapêutica de erradicação (RR 0,46, com 95% IC), com especial ênfase numa menor frequência de diarreia e náuseas (191,199). Apesar do mecanismo de ação continuar ainda por esclarecer, pensa-se que os resultados benéficos alcançados devem-se a uma maior adesão à terapêutica de erradicação consequente de uma menor taxa de reações adversas devido à terapêutica de erradicação (199). Em paralelo, as maiores dimensões de *S. boulardii*, cerca de 10 µm, permitem uma maior área de adesão ao organismo patogénico, afetando a colonização de *H. pylori* na mucosa gástrica (200). Pensa-se, também, que a levedura *S. boulardii* apresenta atividade enzimática pela neuraminidase e, posteriormente para a metabolização do ácido siálico, ácido responsável pela adesão da bactéria *H. pylori* ao duodeno (200). Por último, pensa-se que a levedura *S. boulardii* fortalece a mucosa gástrica através da estimulação de secreção de IgA e imunoglobulinas, contribuindo para uma resposta imunológica à bactéria *H. pylori* (200).

À semelhança das bactérias do género *Lactobacillus* mencionados acima, os probióticos compostos por bactérias do género *Bifidobacterium* também apresentam resistência à acidez gástrica e também permitem a prevenção e inibição da atividade da bactéria *H. pylori*, bem como a atenuação dos efeitos adversos devido às terapêuticas de erradicação, características que beneficiam a associação e complementaridade deste género de bactérias aos planos de erradicação da bactéria *H. pylori* (191,201). Desta forma, pensa-se que o principal mecanismo de inibição do crescimento de *H. pylori* esteja ligado à competição direta entre as bactérias do género *Bifidobacterium* e a bactéria *H. pylori* pela adesão ao tecido gástrico e duodenal, passo importante na infecção por *H. pylori* (202,203).

Contudo, o benefício da utilização de probióticos em associação com as terapêuticas de erradicação da bactéria *H. pylori* ainda é pouco claro, sendo facilmente verificáveis disparidades entre os resultados das taxas de erradicação, das taxas de efeitos adversos e até da posologia do tratamento com probióticos (196). Na realidade, os

resultados podem ser alterados devido às espécies e estirpes de probióticos, às diferentes estirpes da bactéria *H. pylori* utilizadas nos diferentes estudos, bem como da dose, duração do tratamento e altura de administração do probiótico (196). Desta forma, verifica-se uma necessidade emergente de mais estudos quanto à segurança e eficácia da utilização de probióticos no combate à infeção por *H. pylori* (196).

8 A necessidade emergente de novos planos terapêuticos

A era dos antibióticos, marcada pela descoberta da penicilina, permitiu um impacto positivo na qualidade de vida e esperança média de vida devido a ganhos significativos de saúde em patologias com origem em infeções bacterianas, desde a erradicação à prevenção de infeções bacterianas prejudiciais ao hospedeiro humano (204,205).

Apesar dos benefícios da utilização de antibióticos ao longo dos últimos 80 anos, o aumento inevitável de estirpes de bactérias resistentes e multirresistentes às diferentes classes de antibióticos, associado a um ritmo estagnado de desenvolvimento de novos antibióticos, parecem começar a culminar no início de uma era pós-antibióticos, que marcará o século XXI pela regressão das taxas de erradicação de bactérias (205,206).

O aumento de estirpes de bactérias resistentes é, naturalmente, um assunto complexo e delicado que envolve todo um conjunto multifatorial dinâmico de causas naturais, ambientais, culturais e governamentais (5,204). Desta forma, o aumento do número de resistências a antibióticos é amplamente influenciado por comportamentos de risco, como a má adesão à terapêutica e automedicação, pelo uso inadequado na indústria alimentar, como a utilização dos mesmos antibióticos na agricultura e na criação de gado, e pela prescrição, muitas vezes inadequada, de antibióticos a larga escala nos diversos sistemas de saúde (204,207).

Na Europa, há mais de 33 000 mortes por dia devido às resistências face aos antibióticos, pelo que a necessidade de novos antibióticos e novos planos terapêuticos é amplamente reconhecida pela OMS como uma prioridade essencial devido ao risco iminente das resistências aos antibióticos para a saúde humana (7,207).

Mais uma vez, surge a importância da periodicidade regular dos consensos de Maastricht aplicado à revisão das medidas de controlo das infeções causadas pela bactéria *H. pylori* e à atualização dos diferentes cenários clínicos. Desta forma, convém destacar o V Consenso de Maastricht, realizado no final de 2016, que vem fortificar e uniformizar as informações a nível das indicações, dos métodos de diagnósticos, da prevenção como promotor da saúde pública, dos tratamentos e da microbiota gástrica durante a infeção por *H. pylori* (191).

8.1 O contexto hospitalar como causa de resistência

Segundo a OMS, as infeções nosocomiais, ou infeções adquiridas no ambiente hospitalar, podem ser adquiridas em contexto hospitalar, ou noutra instituição de saúde, ao longo do ato de internamento do utente, ou como consequência ocupacional nos profissionais de saúde (208). As infeções nosocomiais são responsáveis pelo aumento da taxa de morbilidade e mortalidade em contexto hospitalar, e está associado a internamentos mais prolongados e aos custos de tratamento mais elevados (208).

Só na Europa são detetados mais de 2,5 milhões casos de infeções nosocomiais por dia e mais de 33 mil mortes devido a infeções nosocomiais por microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos (209). Em Portugal, os indicadores para as infeções nosocomiais espelham o resto da Europa, com taxas de prevalência de infeção entre os 9% e os 10%, o que se traduz num aumento da estadia média entre os 3,1 e os 4,5 dias, e num acréscimo de mortalidade entre os 4,3% e os 7,4%, ao longo da última década (210).

O desenvolvimento de infeções nosocomiais pode ser influenciado pela resistência do agente infeccioso aos antibacterianos, pela metodologia das técnicas assépticas nos ambientes inócuos e pela suscetibilidade imune do doente (208,211). Desta forma, a utilização de antibióticos para terapêutica e profilaxia é uma das determinantes para o aparecimento de bactérias persistentes e multirresistentes aos antibióticos, que podem tornar-se endémicas no contexto hospitalar (208,211).

A deteção das classes de antibióticos utilizados nos planos de erradicação da bactéria *H. pylori*, como as sulfonamidas, as tetraciclinas, as quinolonas e os macrólidos, associado à capacidade da bactéria sobreviver durante 72 horas em reservatórios de água, coloca em questão os reservatórios de água residual de unidades hospitalares como um possível veículo para a transmissão de *H. pylori* e para a aquisição de resistências da bactéria aos planos terapêuticos de erradicação atuais (212). Na realidade, é possível detetar altas concentrações de antibióticos, de bactérias resistentes a antibióticos, de genes responsáveis pela resistência a antibióticos e de elementos genéticos móveis na água proveniente de desperdício, consumo e saneamento hospitalar (212).

Desta forma, a água residual de uma unidade hospitalar, quando não é devidamente tratada, é vista como um reservatório, que coloca o meio ambiente e a saúde humana em risco(212).

Neste âmbito, destaca-se a promoção e aplicação de hábitos e métodos de lavagem das mãos, imunização, técnicas de transfusão e injetáveis seguras e procedimentos de

gestão de resíduos hospitalares desenvolvidos pelos diversos programas e manuais de controlo de infeção e pela comissão de controlo de infeção, que têm um papel fundamental na monitorização e redução de infeções nosocomiais (208,210).

Por último, destaca-se a atividade farmacêutica, já que desempenha um papel essencial e dinâmico na prevenção de infeções adquiridas em contexto clínico, sendo responsável por diferentes tarefas, **Tabela 8** (208)

Tabela 8. O papel do farmacêutico na prevenção de infeções nosocomiais. Adaptado de (Ducel, G.; Et al, 2002).

Papel do Farmacêutico na prevenção de infeções nosocomiais

- Pela distribuição controlada de antimicrobianos aos diferentes departamentos e devido registo de todos os fármacos;
 - Armazenamento, de acordo com as características físico-químicas, propriedades tóxicas, potência e segurança das diferentes vacinas, medicamentos antimicrobianos, anti-sépticos e desinfetantes;
 - Organizar periodicamente os respetivos relatórios quanto ao consumo de antimicrobianos, informar a Comissão de Antibióticos e a Comissão de Controlo de Infeção quanto às tendências;
 - Informar e consciencializar a equipa hospitalar, assim como distribuir produtos desinfetantes, anti-sépticos e outros produtos anti-infecciosos;
 - Participação nas práticas de esterilização e desinfeção hospitalar, direta ou indiretamente, através de recomendações, monitorização e controlo de qualidade do material, equipamento e respetivas técnicas de esterilização.
-
-

8.2 A má adesão à terapêutica como causa de desenvolvimento de resistência

O grau de adesão ao plano terapêutico influencia diretamente a efetividade do plano terapêutico de erradicação, e, conseqüentemente, a taxa de erradicação da bactéria *H. pylori* (213,214). Posto isto, o grau de adesão desempenha um fator de risco importante a destacar durante o acompanhamento clínico de um utente, uma vez que menores taxas de erradicação da bactéria contribuem para uma maior indução de resistências secundárias da bactéria *H. pylori* através da exposição a combinações inadequadas de antibióticos, bem como a doses sub-terapêuticas (213).

Naturalmente, a não adesão do utente ao plano terapêutico pode ser categorizada, conforme a causa resida no plano terapêutico, resida no utente, no estatuto socioeconómico do utente e na equipa clínica e sistema de saúde (214). Desta forma, a não adesão devido ao plano terapêutico pode acontecer o quando este apresenta uma elevada taxa de efeitos adversos ou apresenta elevada complexidade. Relativamente a este último: a não adesão devido ao utente acontece quando há esquecimento involuntários na toma das doses ou quando existe desvalorização da importância do plano terapêutico; a não adesão devido ao estatuto socioeconómico acontece quando os fármacos comercializados apresentam um custo elevado, quando existe carência financeira do utente ou quando o sistema de saúde envolvente apresenta condições adversas à dispensa adequada dos fármacos; a não adesão devido à equipa clínica e sistema de saúde acontece quando não existe a avaliação correta do quadro clínico do utente ou quando não é fornecida informação suficiente ao utente, tanto pela unidade prescritora como pela unidade responsável pela dispensa dos medicamentos (214)

Por fim, o contacto entre o profissional de saúde e o utente a meio do plano terapêutico de erradicação permite abrir uma janela de oportunidade para uma maior adesão do utente ao plano terapêutico, e, conseqüentemente, para uma maior taxa de erradicação da bactéria (214). Desta forma, a posição privilegiada do farmacêutico no sistema nacional de saúde português deve de ser mais aproveitada com o intuito de assegurar uma boa adesão à terapêutica de erradicação, através de um maior acompanhamento, reforço e esclarecimento da importância do plano terapêutico e dos prováveis efeitos adversos, bem como do alívio dos sintomas menos toleráveis sem comprometer o plano terapêutico.

8.3 A automedicação como causa de desenvolvimento de resistência

A automedicação, ou seja, o ato de administrar medicamentos, com base no julgamento individual, sem contacto prévio com um profissional de saúde, nomeadamente médicos ou farmacêuticos, é reconhecido como uma prática de risco pela Organização Mundial de Saúde (215).

O risco da automedicação, em particular de antibióticos, prende-se com o uso irracional desta classe de medicamentos, que pode levantar interações entre diferentes classes de medicamentos e pode levar a resistências da bactéria ao antibiótico tomado, devido a doses inadequadas e por períodos terapêuticos inadequados (216). A automedicação de antibióticos está comumente associada à pobreza, à dificuldade em

contactar o médico prescriptor, à indisponibilidade do médico prescriptor, à dispensa não controlada e à interpretação incorreta do utente face ao médico prescriptor (216,217).

Em paralelo, quando aplicada à infeção por *H. pylori*, a automedicação com AINEs poderá agravar patologias concomitantes, como gastrites, úlceras gástricas e úlceras duodenais, bem como ocultar a infeção pela bactéria, quando utilizados inibidores da bomba de protões (107,111).

Embora a aquisição de antibióticos, no ato de automedicação, possa dar-se através de amigos ou familiares, ou através de antibióticos provenientes de antigos planos terapêuticos, a grande maioria dos antibióticos adquiridos nos casos de automedicação provêm da dispensa inadequada de medicamentos na farmácia comunitária. Posto isto, a nível europeu, os farmacêuticos portugueses destacam-se pela negativa, que atingindo valores entre 1% e 5%, apresentam maior tendência para a venda de antibióticos sem prescrição médica aos utentes económica e socialmente mais desfavorecidos (216,218). Atualmente, num ano marcado pela pandemia de COVID-19, o Sistema Nacional de Saúde português está perto da rotura, sem recursos nem mão de obra especializada suficientes para acompanhar as necessidades de toda a população, o que resulta numa resposta insuficiente a alguns grupos de utentes que não conseguem uma prescrição médica junto do médico prescriptor (219,220). Como tal, é expectável um aumento da procura de antibióticos sem receita médica, junto dos farmacêuticos comunitários.

Desta forma, o farmacêutico surge como um importante agente de saúde pública, que deve controlar o abuso de antibióticos, assim como esclarecer as dúvidas remanescentes da utilização de antibióticos, assim como promover a consciencialização desta classe de medicamentos antimicrobianos.

Traduzindo em números, a prevalência média da automedicação ronda os 42,64%, atingindo valores mais elevados a sul e a leste da Europa, como a Espanha, Itália, Malta e Croácia, o que coincide com as regiões geográficas Europeias com maior taxas de resistência a antibióticos (218).

Se analisarmos a taxa média de automedicação com antibióticos na Europa, os números não deixam de ser menos preocupantes, com uma subida para os 7% em 2016, comparando com os 5% em 2009 (221). Também as taxas de automedicação com antibióticos tendem a alcançar valores mais altos nas regiões a sul da Europa, com países como a Grécia e a Roménia a atingir os 20% e os 16% respetivamente (221). Por outro lado, os países como a Suécia e a Eslováquia apresentam as taxas de automedicação com antibióticos mais baixas da Europa, com 2% e 3% respetivamente (221).

Não menos importante, a automedicação com antibióticos consegue influenciar negativamente a saúde pública, já que as consequentes taxas elevadas de resistência a antibióticos são responsáveis por maiores taxas de morbidade e mortalidade, e consegue influenciar negativamente a economia, devido aos custos acrescidos das estadias mais prolongadas nos hospitais, dos cuidados continuados e paliativos e dos métodos de diagnóstico e tratamento complementares (216).

Numa última análise, o risco da automedicação merece uma maior consciencialização, pelo que surge a necessidade de promoção do consumo inteligente de antibióticos e a necessidade de políticas regulamentares mais apertadas, que visem padronizar e limitar o acesso aos antibióticos. Em resultado, as medidas referidas anteriormente poderão permitir vastos ganhos na saúde pública e economia, e mais importante, uma menor taxa de resistência a antibióticos (216,221). Na Europa, destaca-se o dia europeu do antibiótico, como um meio de promoção educacional do consumo inteligente do antibiótico.

8.4 A utilização de antibióticos na indústria e agricultura como causa de resistência

O aumento da população humana no planeta veio forçar a adaptação da agricultura e criação de gado convencional e passiva para uma agricultura e exploração de gado intensiva (222). Consequentemente, o recurso ao antibiótico em grande escala surge com o intuito de garantir um maior aproveitamento na indústria alimentar, através de uma maior resistência às colheitas na agricultura e de menos mortes na exploração de gado e aquacultura (223). Desta forma, a utilização dos antibióticos não é fundamentada unicamente na terapia de infeções, sendo maioritariamente utilizadas doses sub-terapêuticas como medida profilática ou metafilática, quando parte do gado, ou mesmo todo o gado, apresenta risco de desenvolver uma doença prejudicial (223). Em muitas entidades privadas dedicadas à criação de gado e aquacultura, são utilizados ciclos de antibióticos em determinadas fases de vida do animal, meramente como forma de otimizar os lucros obtidos, mesmo que não haja algum tipo de risco associado que justifique a utilização de antibióticos (223,224).

Por ano, mais de 57 milhões de quilos de antibióticos são utilizados na indústria alimentar nas várias etapas do nascimento, crescimento, extração e processamento dos produtos de origem animal e vegetal (224,225). Naturalmente, a utilização em grande escala de antibióticos numa dose, muitas vezes, sub-terapêutica resulta no

desenvolvimento natural de mecanismos de resistência aos antibióticos utilizados na indústria, que poder-se-ão espalhar através do solo e da água contaminada, bem como ao longo da cadeia de produção e distribuição até ao consumidor, diretamente, como no caso de alimentos mal lavados, ou indiretamente, quando ocorre transmissão através de mecanismos de transferência horizontal de genes (223,224). Destacam-se os resíduos de água contaminada provenientes da indústria alimentar, que podem contaminar o solo e canais de água subjacentes, disseminando os genes responsáveis pela resistência através dos reservatórios de água e alimentos na base da alimentação humana (224,226).

O recurso na indústria alimentar a algumas classes de antibióticos iguais às classes de antibióticos utilizadas no tratamento de patologias humanas fundamenta uma das potenciais origens de resistências a antibióticos (207). Na realidade, o desenvolvimento de resistências para as classes de antibióticos dos macrólidos, e quinolonas no tratamento da bactéria *H. pylori* pode estar diretamente relacionado com a utilização das mesmas classes na indústria alimentar (226). De notar, que apesar da bactéria *H. pylori* permanecer suscetível à utilização de amoxicilina e de tetraciclina, com taxas de resistência abaixo dos 10%, há tendência para o aumento da taxa de resistência a estes antibióticos, uma vez que também a amoxicilina e a tetraciclina é utilizada na indústria da agricultura e da pecuária (226).

Mais uma vez, destaca-se a importância de desenvolver uma economia viável, uma sociedade robusta e um conjunto de leis que permitem a otimização das medidas de fiscalização e controlo da utilização de antibióticos, bem como a fiscalização e controlo do tratamento de resíduos contaminados provenientes da indústria alimentar, permitindo um movimento de contracorrente à tendência natural para um consumo maior de antibióticos na indústria alimentar (225).

8.5 V consenso de Maastricht

A realização do V consenso de Maastricht, em 2015, contou com a participação de 43 especialistas, responsáveis pela atualização dos diferentes cenários clínicos da infeção por *H. pylori* e as suas patologias, bem como a sua erradicação e prevenção consoante os vários graus de evidência (191). Ao longo do consenso, as discussões foram divididas de acordo com 5 temáticas principais, destacando-se as indicações e associações, o diagnóstico, o tratamento, a prevenção e saúde pública e, por fim, a relação entre a microbiota do trato gástrico e a bactéria *H. pylori* (191).

Desta forma, no âmbito da terapêutica, os participantes chegaram a acordo relativamente à atualização de algumas recomendações, apresentadas na **Tabela 9**, categorizadas de acordo com o grau de evidência e o grau de recomendação (191).

Por fim, na visão do profissional de saúde, o desafio para o futuro que se aproxima não deve permanecer na prevenção total das infeções por *H. pylori*, mas sim na prevenção de infeções multirresistentes aos antibióticos, pelo que, é essencial a realização periódica de seminários e discussões como o Consenso de Maastricht, que contribuem para ganhos significativos na prevenção, no diagnóstico e nas terapêuticas de erradicação.

Tabela 9. Resumo das principais recomendações acordadas no decorrer do V Consenso de Maastricht, categorizadas de acordo com o grau de recomendação e grau de evidência. Adaptado de (Malfertheiner, P.; et al, 2016).

Recurso ao PQB como primeira linha em regiões com resistência dupla à claritromicina e ao metronidazol.	Grau de recomendação	Forte
	Grau de evidência	Baixa
A terapêutica com recurso ao IBP, amoxicilina, claritromicina e nitroimidazol deverá compor preferencialmente a base do PQsB, devido às baixas taxas de resistência e elevada efetividade demonstrada.	Grau de recomendação	Forte
	Grau de evidência	Moderada
A duração do tratamento com um PQsB deverá ser de 14 dias, exceto no caso do tratamento com PQsB durante 10 dias demonstre ser efetivo para a região geográfica.	Grau de recomendação	Baixo
	Grau de evidência	Muito Baixa
Em regiões com baixas taxas de resistência à claritromicina, o plano terapêutico triplo deverá ser a primeira linha de erradicação de <i>H. pylori</i> , sendo que o PQB permanece como plano alternativo.	Grau de recomendação	Forte
	Grau de Evidência	Elevada
A administração de um IBP duas vezes por dia aumenta a eficácia do plano terapêutico triplo.	Grau de recomendação	Fraco
	Grau de Evidência	Baixa
A duração do plano terapêutico triplo com claritromicina deverá ser de 14 dias, exceto no caso do tratamento durante períodos de tempo inferiores demonstre ser efetivo para a região geográfica.	Grau de recomendação	Forte
	Grau de Evidência	Moderada

8.6 Novos antibióticos e novos planos terapêuticos no combate à infecção por *Helicobacter pylori*

O desenvolvimento e descoberta de novos antibióticos não acompanha o ritmo alargado do desenvolvimento de resistência das bactérias aos antibióticos (227). Na

realidade, no decorrer dos últimos 25 anos, apenas duas novas classes de antibióticos foram aprovadas para uso clínico (227).

A maioria dos novos planos terapêuticos da infecção por *H. pylori* são adaptados a partir de antibióticos de classes já existentes, como o caso da rifabutina e da gatifloxacina adaptadas aos planos terapêuticos de erradicação da bactéria (228).

A rifabutina apresenta elevada atividade *in vitro* contra *H. pylori*, boa estabilidade molecular em meio ácido e baixa taxa de resistências da bactéria, características que permitem eleger a rifabutina como uma alternativa aos planos terapêuticos tradicionais utilizados na erradicação da bactéria (228).

Desta forma, a rifabutina pode ser adaptada a um plano terapêutico triplo, quando administrados 3000 mg de amoxicilina, 120 mg de omeprazol ou uma dose elevada de outro IBP e 150 mg de rifabutina por dia, sendo que para atingir valores de erradicação mais elevados (aproximadamente 83.8%, para um valor IC de 95%), o tratamento deverá durar 14 dias (229–231). O tratamento triplo com rifabutina também demonstra ser seguro e bem tolerado, manifestando maioritariamente efeitos adversos ligeiros a nível do trato gastrointestinal, como diarreia e náuseas (230,231).

A gatifloxacina, comercializada desde 1999, também pode ser adaptada a um plano terapêutico triplo com amoxicilina e um IBP, durante 7 dias de tratamento (232). Existem evidências de taxas de erradicação na ordem dos 90%, contudo alguns estudos demonstram que algumas estirpes de *H. pylori* apresentam elevadas taxas de resistência, na ordem dos 47% (232,233). Apesar de já aprovado para uso humano, a falta de evidências e unanimidade científica dos dados apresentados impedem a recomendação de planos terapêuticos triplos com gatifloxacina como estratégia de erradicação de *H. pylori*, sendo necessários mais estudos *in vitro* e *in vivo* com o intuito de obter mais dados quanto à segurança e eficácia deste plano terapêutico (232,233).

A segunda sugestão terapêutica surge através de esquemas terapêuticos mais complexos e alternativos aos planos terapêuticos tradicionais, que consiste em duas fases de tratamento (228). A primeira fase, a de indução, consiste na administração de 1000 mg de amoxicilina duas vezes por dia e um IBP, como por exemplo 40 mg de esomeprazol, duas vezes ao dia, durante cinco a sete dias (234,235). A segunda fase do tratamento, inicia-se imediatamente com o final da fase de indução, e consiste na administração de um plano terapêutico triplo composto por dois antibióticos, como a claritromicina e o tinidazole, ambos a 500 mg duas vezes ao dia, e pelo mesmo IBP, administrado com a mesma posologia da fase inicial, durante cinco a sete dias (234–236).

A abordagem do PS como primeira linha terapêutica advém das elevadas taxas de erradicação que o plano terapêutico consegue assegurar, chegando a atingir valores de erradicação na ordem de 92% em alguns estudos e 90% em Portugal (235,236). No entanto, alguns estudos demonstram que o PS apresenta taxas de erradicação menores, em comparação com os planos triplos de erradicação com duração de dez dias, na ordem de 78,39% e 83,32% para um valor IC de 95%, respetivamente (234). A disparidade das taxas de erradicação entre diferentes estudos pode estar associada a mecanismos de resistência da bactéria aos antibióticos contidos nos planos, sendo necessário mais estudos para confirmar e validar os resultados previamente reportados na literatura científica.

No seguimento, sugere-se que a taxa de erradicação é maior quando o PS é prolongado até aos 14 dias (entre 92,7% e 97%), em comparação com o PS administrado durante 10 dias (entre 87% e 90,3%), no entanto os valores observados não apresentam diferença estatisticamente significativa que justifique os custos acrescidos do plano terapêutico durante um período de tempo mais alargado (236).

Por outro lado, o PS destaca-se positivamente devido à sua elevada tolerância pelo organismo e pela baixa taxa de efeitos adversos, em comparação com o plano terapêutico triplo durante 10 dias e o com o PQB durante 10 dias (234,235)

A terceira sugestão terapêutica fundamenta-se na utilização de péptidos antimicrobianos (PAMs) combinados com os antibióticos dos planos tradicionais, dada a sua ação como mediadores da resposta imune (228,237). Teoricamente, sabe-se que os PAMs catiónicos apresentam afinidade específica para as membranas aniónicas das bactérias, o que resulta no aumento da permeabilidade membranar e, conseqüentemente, morte celular (228,237). Como abordado anteriormente, há uma urgência em delinear novas estratégias alternativas de erradicação no combate à infeção por *H. pylori*, que podem ser mediadas através dos PAMs com atividade contra a bactéria, como os péptidos pepxiganan TP4 (do inglês, *Tilápia Piscidin 4*) e PGLa-AM1 (228,237).

No entanto, a utilização de PAMs na erradicação de *H. pylori* ainda não está totalmente esclarecida, pelo que são necessários mais testes *in vivo*, com o intuito de desenvolver análogos dos PAMs que consigam superar as desvantagens destes péptidos na sua forma nativa, como a toxicidade para as células humanas, a degradação pelas proteases humanas e bacterianas, afinidade inespecífica pelas restantes bactérias comensais do trato gástrico-intestinal humano e o elevado custo do plano terapêutico (228).

Outra alternativa terapêutica seria a administração adjuvante de N-acetilcisteína, um agente mucolítico capaz de interromper e prevenir a formação de biofilme responsável

pelo aumento das taxas de resistência de *H. pylori* aos antibióticos clássicos, como a amoxicilina, metronidazol e claritromicina (228). No entanto, alguns estudos vêm demonstrar que a administração de 600 mg de N-acetilcisteína duas vezes por dia em conjunto com uma terapêutica tripla com claritromicina não resulta num ganho positivo na taxa de erradicação de *H. pylori*, pelo que são necessários estudos *in vivo* mais conclusivos (238).

Em paralelo, o desenvolvimento de novos antibióticos com propriedades antibacterianas contra *H. pylori* é um processo demorado, sendo que para um melhor resultado clínico e uma menor taxa de erradicação os novos medicamentos antibacterianos deverão apresentar elevada afinidade por *H. pylori*, sem comprometer nem a microbiota comensal do hospedeiro humano nem as células do hospedeiro (238). Como tal, as proteínas envolvidas no metabolismo primário da *H. pylori* podem desempenhar um papel fundamental enquanto alvos terapêuticos dos novos antibióticos específicos para a bactéria, como os compostos hadacidina e formicina A (FA) (228).

A primeira molécula sugerida, a hadacidina, provém da fermentação natural do fungo *Penicillium frequentans*, e tem como mecanismo de ação a inibição da sintetase de adenilosuccinato, enzima responsável pela formação de AMP, a partir do IMP e que é essencial para o normal metabolismo de *H. pylori* (228,239). Contudo, esta molécula apenas demonstra resultados significativos nos ensaios *in vitro*, pelo que são necessários mais estudos de desenvolvimento e otimização da hadacidina (228,239).

A segunda molécula sugerida, a FA, à semelhança da hadacidina, também intervém na normal biosíntese dos nucleótidos de purina (228,240). Estruturalmente, a FA é um análogo da adenosina, capaz de ligar-se e posteriormente inibir o normal funcionamento da purina-nucleosídeo fosforilase (PNP), propriedade que permite eleger a FA como composto-líder no design e desenvolvimento de compostos inibidores mais potentes e seletivos para a PNP de *H. pylori* (228,240). No entanto, o mecanismo de ação da FA ainda não está bem estabelecido, pelo que é necessário realizar mais estudos *in vitro* e *in vivo* com o propósito de caracterizar mais detalhadamente a farmacocinética e farmacodinâmica, bem como os perfis de segurança e de eficácia do fármaco (228,240).

Também os fatores de virulência envolvidos no processo de patogénese de *H. pylori* podem desempenhar um papel fundamental como alvo terapêutico de novos medicamentos no controlo e erradicação da bactéria (228). Na realidade, esta estratégia terapêutica apresenta algumas vantagens relativamente aos antibióticos contidos nos planos tradicionais, como conservação da microbiota comensal, a ausência de pressão na

indução de mecanismos de resistência (228). No caso de *H. pylori*, seria promissor inibir o fator de virulência CagA, responsável pelo desenvolvimento de cancro gástrico, e as PME, responsáveis pela adesão da bactéria às células epiteliais do hospedeiro, contudo, atualmente não existe nenhuma opção comercializada específica para estes alvos terapêuticos.

Por último, a adoção de novos antibióticos e novos planos terapêuticos de erradicação padronizados em larga escala deve ser controlada e consciente, já que colocam a hipótese inevitável de novos mecanismos de resistência pela bactéria.

9 Conclusão

A bactéria *H. pylori* apresenta uma elevada prevalência no ser humano, com tendência a nível mundial, pelo que, são observadas, inevitavelmente, elevadas taxas de resistência à amoxicilina, claritromicina e metronidazol. No seguimento, sabe-se que o aumento de estirpes multirresistentes tem como origem diversas causas, como o contexto hospitalar, a má adesão à terapêutica, a automedicação e a utilização de antibióticos na indústria alimentar e na agricultura extensiva e abusiva.

Destaca-se, mais uma vez, a importância do farmacêutico como agente de saúde pública, capaz de parametrizar e controlar políticas internas em contexto clínico hospitalar e comunitário, de controlar a dispensa inapropriada de antibióticos nas farmácias comunitárias, de esclarecer dúvidas remanescentes da utilização de antibióticos e de promover a consciencialização desta classe de medicamentos antimicrobianos junto da população.

Por sua vez, a erradicação da bactéria *H. pylori* deverá constar como o objetivo principal na abordagem terapêutica dos indivíduos infetados, como medida profilática, de forma a evitar a evolução do quadro clínico para estados patológicos mais avançados, como gastrites, úlceras pépticas, cancro gástrico e linfoma de MALT.

Desta forma, a adição de estratégias adjuvantes aos planos terapêuticos tradicionais, como probióticos, lactoferrina e acetilcisteína, a adoção de novos planos e esquemas terapêuticos, como o PQB, o PQsB, o PS, a descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com propriedades antibacterianas específicas para *H. pylori*, como a hadacidina e a formicina A, e a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos específicos para os fatores de virulência da bactéria surgem como esperança na diminuição das alarmantes taxas de resistência em crescimento.

Por fim, na visão do profissional de saúde, o desafio para o futuro que se aproxima não deve permanecer na prevenção total das infeções por *H. pylori*, mas sim na prevenção de infeções multirresistentes aos antibióticos, pelo que, é essencial a realização periódica de seminários e discussões como o Consenso de Maastricht, que contribuem para ganhos significativos na prevenção, no diagnóstico e nas terapêuticas de erradicação.

Bibliografia

1. WHO. Antimicrobial resistance global report on surveillance - 2014 [Internet]. [citado 24 de Março de 2020]. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=DE899585DCB4D28C8E64E1765CB80D59?sequence=1
2. Guevara B, Cogdill AG. *Helicobacter pylori*: A Review of current diagnostic and management strategies. Dig Dis Sci [Internet]. 2020; Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06193-7>
3. Programa de prevenção e controlo de infeções e de resistência aos antimicrobianos [Internet]. 2015 [citado 30 de Março de 2020]. Disponível em: <https://www.dgs.pt/programa-de-prevencao-e-controlo-de-infecoes-e-de-resistencia-aos-antimicrobianos/apresentacao.aspx>
4. Frieri M, Kumar K, Boutin A. Antibiotic resistance [Internet]. Journal of Infection and Public Health. 2017 [citado 24 de Março de 2020]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
5. Holmes AH, Moore LSP, Sundsfjord A, Steinbakk M, Regmi S, Karkey A, et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. Lancet. 2016;387(10014):176–87.
6. Singer RS. Antibiotic resistance - The interplay between antibiotic use in animals and human beings. Lancet Infect Dis. 2003;3(1):47–51.
7. Organization WH. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics. [Internet]. [citado 23 de Março de 2020]. Disponível em: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1
8. Saúde D-G da. Direção-Geral da Saúde Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de resistência aos Antimicrobianos [Internet]. [citado 24 de Março de 2020]. Disponível em: <https://www.dgs.pt/programa-de-prevencao-e-controlo-de-infecoes-e-de-resistencia-aos-antimicrobianos.aspx>
9. DGS. Infeções e Resistências aos Antimicrobianos - Relatório Anual do Programa Prioritário 2018 [Internet]. [citado 24 de Março de 2020]. Disponível em: <https://www.dgs.pt/portal-da-estatistica-da-saude/diretorio-de-informacao/diretorio-de-informacao/por-serie-1003038-pdf.aspx?v=%3D%3DDwAAAB%2BLCAAAAAAABArySzItzVUy81MsTU1MDFAH2FEfkPAAAA>
10. DGS. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos. 2015 [citado 24 de Março de 2020]; Disponível em: <https://www.dgs.pt/programa-de-prevencao-e-controlo-de-infecoes-e-de-resistencia-aos-antimicrobianos/estrategia-multimodal-pbci.aspx>
11. Nardone G, Compare D, Rocco A. A microbiota-centric view of diseases of the upper gastrointestinal tract. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2017;2(April).
12. Ianiro G, Molina-infante J, Gasbarrini A. Gastric microbiota. Helicobacter. 2015;20:68–71.
13. Mailhe M, Ricaboni D, Vitton V, Gonzalez J, Bachar D, Dubourg G, et al. Repertoire of the gut microbiota from stomach to colon using culturomics and next-generation sequencing. BMC Microbiol. 2018;1–11.
14. Minalyan A, Gabrielyan L, Scott D, Jacobs J, Pisegna JR. The gastric and intestinal microbiome: role of proton pump inhibitors. Curr Gastroenterol Rep. 2017;19(8):1–18.
15. Schulz C, Schütte K, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* and other gastric microbiota in gastroduodenal pathologies. Dig Dis. 2016;210–6.
16. Petra CV, Rus A, Dumitraşcu DANL. Gastric Microbiota: Tracing the culprit. Clujul Med. 2017;90(4):369–76.
17. Schu K, Malfertheiner P, Schulz C. What is the relevance of gastric microbiota beyond *H. pylori*? Curr Treat Options Gastroenterol. 2019;
18. Vuik FER, Dicksveld J, Lam SY, Fuhler GM, Laan LJW Van Der. Composition of the mucosa-associated microbiota along the entire gastrointestinal tract of human individuals. United Eur Gastroenterol J. 2019;
19. Graham DY, Graham DY, DeBakey ME, Medical VA. History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. World J Gastroenterol. 2014;20(18):5191–204.
20. Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP. Brock - Biology of Microorganisms. Vols. s3-XII, Notes and Queries. 2012. 469 p.
21. Azevedo NF, Almeida C, Cerqueira L, Dias S, Keevil CW, Vieira MJ. Coccoid form of *Helicobacter pylori* as a morphological manifestation of cell adaptation to the environment. Appl Environ Microbiol. 2007;73(10):3423–7.
22. Andersen LP, Rasmussen L. *Helicobacter pylori* - Coccoid forms and biofilm formation. FEMS Immunol Med Microbiol. 2009;56(2):112–5.
23. Krzyżek P, Gościński G. Morphology of *Helicobacter pylori* as a result of peptidoglycan and cytoskeleton rearrangements. Gastroenterol Rev. 2018;13(3).
24. Berry V, Jennings K, Woodnutt G. The bactericidal and morphological effects of amoxicillin on *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39(1):1859–61.
25. Sarem M, Corti R. Role of *Helicobacter Pylori* coccoid forms in infection and recrudescence. Gastrenterología y Hepatología. 2015;39(1):28–35.
26. Donelli G, Matarrese P, Fiorentini C, Dainelli B, Taraborelli T, Di Campli E, et al. The effect of oxygen on the growth and cell morphology of *Helicobacter pylori*. FEMS Microbiol Lett. 1998;168(1):9–15.
27. Jiang X, Doyle MP. Effect of environmental and substrate factors on survival and growth of *Helicobacter pylori*. J Food Prot. 1998;61(8):929–33.

28. Kadkhodaei S, Siavoshi F, Akbari Noghabi K. Mucoid and coccoid *Helicobacter pylori* with fast growth and antibiotic resistance. *Helicobacter*. 2020;25(2):1–8.
29. Waidner B, Specht M, Dempwolff F, Haeblerer K, Schaetzle S, Speth V, et al. A novel system of cytoskeletal elements in the human pathogen *Helicobacter pylori*. *PLoS Pathog*. 2009;5(11).
30. Specht M, Schätzle S, Graumann PL, Waidner B. *Helicobacter pylori* possesses four coiled-coil-rich proteins that form extended filamentous structures and control cell shape and motility. *J Bacteriol*. 2011;193(17):4523–30.
31. Gu H. Role of flagella in the pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Curr Microbiol*. 2017;74(7):863–9.
32. Asakura H, Churin Y, Bauer B, Boettcher JP, Bartfeld S, Hashii N, et al. *Helicobacter pylori* HP0518 affects flagellin glycosylation to alter bacterial motility. *Mol Microbiol*. 2010;78(September):1130–44.
33. Schätzle S, Specht M, Waidner B. Coiled coil rich proteins (Ccrp) influence molecular pathogenicity of *Helicobacter pylori*. *PLoS One*. 2015;1–21.
34. Singleton P, Sainsbury D. Dictionary of microbiology and molecular biology. 3.^a ed. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.; 2006.
35. Andersen AP, Elliott DA, Lawson M, Barland P, Hatcher VB, Puszkin EG. Growth and morphological transformations of *Helicobacter pylori* in broth media. *J Clin Microbiol*. 1997;35(11):2918–22.
36. Seeley RR, Stephens TD, Tate P. Anatomia & Fisiologia. 6.^a Edição. Mc, editor. 2003.
37. Marshall BJ, Barrett LJ, Prakash C, McCallum RW, Guerrant RL. Urea protects *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology*. 1990;99(3):697–702.
38. Perrais M, Rousseaux C, Ducourouble MP, Courcol R, Vincent P, Jonckheere N, et al. *Helicobacter pylori* urease and flagellin alter mucin gene expression in human gastric cancer cells. *Gastric Cancer*. 2014;17(2):235–46.
39. Marcus EA, Scott DR. Gastric colonization by H. Pylori. *Helicobacter pylori*. 2016;1–556.
40. Quaglia NC, Dambrosio A. *Helicobacter pylori*: A foodborne pathogen? *World J Gastroenterol*. 2018;24(31):3472–87.
41. Olson JW, Maier RJ. Molecular Hydrogen as an energy source for *Helicobacter pylori*. *Science* (80-). 2002;298(NOVEMBER):1788–90.
42. Kuhns LG, Benoit SL, Bayyareddy K, Johnson D, Orlando R, Evans AL, et al. Carbon fixation driven by molecular hydrogen results in chemolithoautotrophically enhanced growth of *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol*. 2016;198(9):1423–8.
43. Nedenskov P. Nutritional requirements for growth of *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microbiol*. 1994;60(9):3450–3.
44. Merrell DS, Thompson LJ, Kim CC, Mitchell H, Tompkins LS, Lee A, et al. Growth phase-dependent response of *Helicobacter pylori* to iron starvation. *Infect Immun*. 2003;71(11):6510–25.
45. Franceschi F, Tortora A, Di Rienzo T, D’Angelo G, Ianiro G, Scaldaferrri F, et al. Role of *Helicobacter pylori* infection on nutrition and metabolism. *World J Gastroenterol*. 2014;20(36):12809–17.
46. Falush D, Kraft C, Taylor NS, Correa P, Fox JG, Achtman M, et al. Recombination and mutation during long-term gastric colonization by *Helicobacter pylori*: Estimates of clock rates, recombination size, and minimal age. *PNAS*. 2001;98(26).
47. Kennemann L, Didelot X, Aebischer T, Kuhn S, Drescher B, Droege M. *Helicobacter pylori* genome evolution during human infection. *PNAS*. 2011;108(12):5033–8.
48. Morelli G, Didelot X, Kusecek B, Schwarz S, Bahlawane C, Falush D, et al. Microevolution of *Helicobacter pylori* during prolonged infection of single hosts and within families. *PLOS Genet*. 2010;6(7).
49. Tomb J, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. 1997;389(September):1211–2.
50. *Helicobacter pylori* Genome - NCBI [Internet]. [citado 10 de Julho de 2020]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/169>
51. Y Hooi JK, Ying Lai W, Khoon Ng W, Y Suen MM, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* [Internet]. 2017 [citado 11 de Julho de 2020]; Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.022>
52. Young KA, Allaker RP, Hardie JM. Morphological analysis of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and dental plaque by scanning electron microscopy. *Oral Microbiol Immunol*. 2001;16(3):178–81.
53. Kilmartin CM. Dental implications of *Helicobacter pylori*. *J Can Dent Assoc (Tor)*. 2002;68(8):489–93.
54. Fan XG, Chua A, Li TG, Zeng QS. Survival of *Helicobacter pylori* in milk and tap water. *J Gastroenterol Hepatol*. 1998;13(11):1096–8.
55. Bahrami AR, Rahimi E, Ghasemian Safaei H. Detection of *Helicobacter pylori* in city water, dental units’ water, and bottled mineral water in Isfahan, Iran. *Sci World J*. 2013;2013.
56. Bastos J, Peleteiro B, Pinto H, Marinho A, Guimarães JT, Ramos E, et al. Prevalence, incidence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in a cohort of portuguese adolescents (EpiTeen). *Dig Liver Dis* [Internet]. 2013;45(4):290–5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2012.11.009>
57. Pelerito A, Nogueira P, Santos A, Lopes I, Magalha P. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in a healthy pediatric population in the Lisbon area. *Helicobacter*. 2011;363–72.
58. H. Pylori Prevention | Mel and Enid Zuckerman College of Public Health [Internet]. [citado 4 de Agosto de 2020]. Disponível em: <https://publichealth.arizona.edu/outreach/health-literacy-awareness/hpylori/prevention>
59. Yucl O. Prevention of *Helicobacter pylori* infection in childhood. *World J Gastroenterol*. 2014;20(30):10348–54.

60. Saila O, De Salud D. La crisis de los Antibióticos. Perspectiva desde el ámbito comunitario. Vol. 8. 2019.
61. Wells BG, Dipiro JT, Schwinghammer TL, Dipiro C V. Pharmacotherapy Handbook. Seventh Edition. Vol. 34. 2009. 1490–1490 p.
62. Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, Wu MC, Shih HY, Wang SSW, et al. Diagnosis of helicobacter pylori infection: Current options and developments. *World J Gastroenterol*. 2015;21(40):11221–35.
63. H. Pylori Testing and Treatment | Mel and Enid Zuckerman College of Public Health [Internet]. [citado 5 de Agosto de 2020]. Disponível em: <https://publichealth.arizona.edu/outreach/health-literacy-awareness/hpylori/treatment>
64. Watanabe K, Nagata N, Shimbo T, Nakashima R, Furuhashi E, Sakurai T, et al. Accuracy of endoscopic diagnosis of *Helicobacter pylori* infection according to level of endoscopic experience and the effect of training. *BMC Gastroenterol* [Internet]. 2013;13(1):1. Disponível em: *BMC Gastroenterology*
65. Graham DY, Miftahussurur M. *Helicobacter pylori* urease for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: A mini review. *J Adv Res* [Internet]. 2018;13:51–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.01.006>
66. Uotani T, Graham DY. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. *Ann Transl Med*. 2015;3(1):1–7.
67. R.n N, W.g M, M.j.g F, L.t W. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: Review of microbiologic methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003;(May):616–22.
68. Cosgun Y, Yildirim A, Yucel M, Karakoc AE, Koca G, Gonultas A, et al. Evaluation of invasive and noninvasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Asian Pac J Cancer Prev* [Internet]. 2016;17(12):5265–72. Disponível em: [/pmc/articles/PMC5454669/?report=abstract%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454669/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454669/?report=abstract%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454669/)
69. Shimoyama T. Stool antigen tests for the management of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol*. 2013;19(45):8188–91.
70. Pietroiusti A, Forlini A, Magrini A, Galante A, Bergamaschi A. Isolated *H. pylori* duodenal colonization and idiopathic duodenal ulcers. *Am J Gastroenterol*. 2008;
71. Fagoonee S, Pellicano R. *Helicobacter pylori*: molecular basis for colonization and survival in gastric environment and resistance to antibiotics. A short review. *Infect Dis (Auckl)* [Internet]. 2019;0(0):1–10. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23744235.2019.1588472>
72. Zhang X, Zhang P, Aboul-soud MAM. From inflammation to gastric cancer: Role of *Helicobacter pylori*. *Oncol Lett*. 2017;543–8.
73. Wroblewski LE, Peek RM, Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: Factors that modulate disease risk. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(4):713–39.
74. Jones KR, Whitmire JM, Merrell DS. A tale of two toxins : *Helicobacter pylori* CagA and VacA modulate host pathways that impact disease. *Front Microbiol*. 2010;1(November):1–17.
75. Terradot L, Waksman G. Architecture of the *Helicobacter pylori* Cag-type IV secretion system. *FEBS J*. 2011;278:1213–22.
76. Marais A, Mendz GL, Hazell SL, Me F. Metabolism and genetics of *Helicobacter pylori*: the genome era. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1999;63(3):642–74.
77. Silva MR, Oliveira C, Santos PR, Carvalho L. Genotipagem da *Helicobacter pylori* no carcinoma gástrico e gastrite crónica. *J Port gastroenterologia*. 2011;329–36.
78. Foegeding NJ, Caston RR, McClain MS, Ohi MD, Cover TL. An overview of *Helicobacter pylori* VacA toxin biology. *Toxins (Basel)*. 2016;8(6):1–21.
79. Kersulyte D, Rossi M, Berg DE. Sequence divergence and conservation in genomes of *Helicobacter ceterum* strains from a dolphin and a whale. *PLoS One*. 2013;8(12).
80. Gangwer KA, Shaffer CL, Suerbaum S, Lacy DB, Cover TL, Bordenstein SR. Molecular evolution of the *Helicobacter pylori* vacuolating toxin gene vacA. *J Bacteriol*. 2010;192(23):6126–35.
81. Ha N, Oh S, Sung JY, Cha KA, Lee MH, Oh B. Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease. *Nat Struct Biol*. 2001;505–9.
82. Olivera-Severo D, Uberti AF, Marques MS, Pinto MT, Gomez-Lazaro M, Figueiredo C, et al. A new role for *Helicobacter pylori* urease: contributions to angiogenesis. *Front Microbiol*. 2017;8(SEP):1–11.
83. Fong YH, Wong HC, Chuck CP, Chen YW, Sun H, Wong KB. Assembly of preactivation complex for urease maturation in *Helicobacter pylori*: Crystal structure of UreF-UreH protein complex. *J Biol Chem*. 2011;286(50):43241–9.
84. Maier RJ, Benoit SL, Seshadri S. Nickel-binding and accessory proteins facilitating Ni-enzyme maturation in *Helicobacter pylori*. *BioMetals*. 2007;20(3–4):655–64.
85. Debowski AW, Walton SM, Chua E, Chin- A, Tay Y, Liao T, et al. *Helicobacter pylori* gene silencing in vivo demonstrates urease is essential for chronic infection. *PLoS Pathog*. 2017;1–21.
86. Eaton KA, Brooks CL, Morgan DR, Krakowka S. Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infect Immun*. 1991;59(7):2470–5.
87. Scopel-Guerra A, Olivera-Severo D, Staniscuaski F, Uberti AF, Callai-Silva N, Jaeger N, et al. The impact of *Helicobacter pylori* Urease upon platelets and consequent contributions to inflammation. *Front Microbiol*. 2017;8(DEC):1–13.
88. Uberti AF, Olivera-severo D, Wassermann GE, Scopel-guerra A, Moraes JA, Barcellos-de-souza P, et al. Toxic Pro-inflammatory properties and neutrophil activation by *Helicobacter pylori* urease. *Toxicon* [Internet]. 2013;69:240–9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.02.009>
89. Matsuo Y, Kido Y, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* outer membrane protein-related pathogenesis. *Toxins (Basel)*. 2017;9(3):1–9.

90. Xu C, Soyfoo DM, Wu Y, Xu S. Virulence of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins: an updated review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(10):1821–30.
91. Sugano K, Tack J, Kuipers EJ, Graham DY, El-Omar EM, Miura S, et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut*. 2015;64(9):1353–67.
92. Hauser S, Oxentenko A, Sanchez W. Mayo clinic gastroenterology and Hepatology board review. 5.^a ed. Vol. 5. New York: Oxford University Press; 2014.
93. Shiota S, Thrift AP, Green L, Shah R, Verstovsek G, Rugge M, et al. Clinical manifestations of *Helicobacter pylori*-negative gastritis. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2017;15(7):1037-1046.e3. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2017.01.006>
94. Adamu MA, Weck MN, Rothenbacher D, Brenner H. Incidence and risk factors for the development of chronic atrophic gastritis: Five year follow-up of a population-based cohort study. *Int J Cancer*. 2010;128(7):1652–8.
95. Kuipers EJ, Peña AS, Festen HPM, Meuwissen SGM, Uytterlinde AM, Roosendaal R, et al. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. *Lancet*. 1995;345(8964):1525–8.
96. Sipponen P, Maaroos HI. Chronic gastritis. *Scand J Gastroenterol*. 2015;50(6):657–67.
97. Rugge M, Sugano K, Sacchi D, Sbaraglia M, Malfertheiner P. Gastritis: An update in 2020. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2020;18(3):488–503.
98. Halme L, Kärkkäinen P, Rautelin H, Kosunen TU, Sipponen P. High frequency of *Helicobacter* negative gastritis in patients with Crohn’s disease. *Gut*. 1996;38(3):379–83.
99. Minalyan A, Benhammou JN, Artashesyan A, Lewis MS, Piseigna JR. Autoimmune atrophic gastritis: current perspectives. *Clin Exp Gastroenterol* [Internet]. 2017;19–27. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/CEG.S109123>
100. Lahner E, Carabotti M, Annibale B. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in atrophic gastritis. *World J Gastroenterol*. 2018;24(22):2373–80.
101. Rokkas T, Pitioulas D, Sechopoulos P, Robotis I, Margantinis G. The long-term impact of *Helicobacter pylori* eradication on gastric histology: A systematic review and meta-analysis. *Helicobacter*. 2007;12(SUPPL. 2):32–8.
102. Nyssen OP, McNicholl AG, Gisbert JP. Meta - analysis of three - in - one single capsule bismuth - containing quadruple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori*. 2019;(August 2018):1–17.
103. Lanas A, Chan FKL. Peptic ulcer disease. *Lancet* [Internet]. 2017;390(10094):613–24. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32404-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32404-7)
104. Reddy KM, Marsicano E. Peptic ulcer disease and *Helicobacter pylori* infection. *Mo Med*. 2018;
105. Davide DJ. Úlcera gastro-duodenal [Internet]. 2009 [citado 11 de Novembro de 2020]. Disponível em: <https://www.alert-online.com/pt/medical-guide/ulcera-gastro-duodenal>
106. Kavitt RT, Lipowska AM, Anyane-yeboa A, Gralnek IM. Diagnosis and treatment of peptic ulcer disease. *Am J Med* [Internet]. 2019;132(4):447–56. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2018.12.009>
107. Drini M. Peptic ulcer disease and non-steroidal anti - inflammatory drugs. *Aust Prescr*. 2017;40(3):91–3.
108. Zapata-colindres JC, Zepeda-gómez S, Montaña-loza A, Vázquez-ballesteros E, Villalobos JDJ, Valdovinos-andraca F. The association of *Helicobacter pylori* infection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in peptic ulcer disease. *Can J Gastroenterol*. 2006;20(4).
109. Salaga M, Mosinska P. Pharmacological treatment of peptic ulcer disease. *Introd to Gastrointest Dis*. 2017;2:1–177.
110. Seo JH, Hong SJ, Kim J, Kim B, Jee SR, Chung WC, et al. Long-term recurrence rates of peptic ulcers without *Helicobacter pylori*. *Gut Liver*. 2016;10(5):719–25.
111. Scally B, Emberson JR, Spata E, Reith C, Davies K, Halls H, et al. Effects of gastroprotectant drugs for the prevention and treatment of peptic ulcer disease and its complications: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2018;3(4):231–41. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2468-1253\(18\)30037-2](http://dx.doi.org/10.1016/S2468-1253(18)30037-2)
112. Miranda N, Portugal C, Nogueira P, Farinha C, Oliveira A, Soares A, et al. Programa nacional para as doenças oncológicas - Doenças oncológicas em números 2015. *Dgs* [Internet]. 2016;5–65. Disponível em: <https://www.dgs.pt/estatisticas-de-saude/estatisticas-de-saude/publicacoes/portugal-doencas-oncologicas-em-numeros-2015-pdf.aspx>
113. Saúde D-G da. Elementos estatísticos: Informação geral: Saúde 2004. *Dgs*. 2006;165.
114. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, nutrition, physical activity and stomach cancer. *Stomach Cancer Rep - WHO* [Internet]. 2016;1–61. Disponível em: <https://www.wcrf.org/sites/default/files/Stomach-cancer-report.pdf>
115. Morais S, Ferro A, Bastos A, Castro C, Lunet N, Peleteiro B. Trends in gastric cancer mortality and in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Portugal. *Eur J Cancer Prev*. 2015;25(4):275–81.
116. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric cancer. *Lancet* [Internet]. 2016;388(10060):2654–64. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30354-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30354-3)
117. Compare D, Rocco A, Nardone G. Risk factors in gastric cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010;14(4):302–8.
118. Lee YY, Derakhshan MH. Environmental and lifestyle risk factors of gastric cancer. *Arch Iran Med*. 2013;16(6):358–65.
119. Webb PM, Law M, Varghese C, Forman D. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: A combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut*. 2001;49(3):347–53.
120. Asenjo LM, Gisbert JP. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in gastric MALT lymphoma: A

- systematic review. *Rev Esp Enfermedades Dig.* 2007;99(7):398–404.
121. Juárez-Salcedo LM, Sokol L, Chavez JC, Dalia S. Primary gastric lymphoma, epidemiology, clinical diagnosis, and treatment. *Cancer Control.* 2018;25(1):1–12.
 122. Violeta Filip P, Cuciureanu D, Sorina Diaconu L, Maria Vladareanu A, Silvia Pop C. MALT lymphoma: epidemiology, clinical diagnosis and treatment. *J Med Life.* 2018;11(3):187–93.
 123. Song Y, Jiang K, Su S, Wang B, Chen G. Clinical manifestations and epigenetic mechanisms of gastric mucosa associated lymphoid tissue lymphoma and long-term follow-up following *Helicobacter pylori* eradication. *Exp Ther Med.* 2017;15(1):553–61.
 124. Spencer J, Wotherspoon AC. Gastric MALT lymphoma and *Helicobacter pylori*. *Cancer Surv [Internet].* 2019;30(2):213–31. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcle.2018.09.009>
 125. El-Omar EM, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Curr Opin Gastroenterol.* 1998;17(SUPPL. 1):79–85.
 126. Floch P, Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* strains and gastric MALT lymphoma. *Toxins (Basel).* 2017;9(4).
 127. Kuo SH, Chen LT, Lin CW, Wu MS, Hsu PN, Tsai HJ, et al. Detection of the *Helicobacter pylori* CagA protein in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma cells: Clinical and biological significance. *Blood Cancer J.* 2013;3(7):1–8.
 128. Moleiro J, Ferreira S, Lage P, Dias Pereira A. Gastric malt lymphoma: Analysis of a series of consecutive patients over 20 years. *United Eur Gastroenterol J.* 2016;4(3):395–402.
 129. Thieblemont C, Zucca E. Clinical aspects and therapy of gastrointestinal MALT lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol [Internet].* 2017;30(1–2):109–17. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.beha.2017.01.002>
 130. Salvo F, De Sarro A, Caputi AP, Polimeni G. Amoxicillin and amoxicillin plus clavulanate: A safety review. *Expert Opin Drug Saf.* 2009;8(1):111–8.
 131. Todd PA, Benfield P. Amoxicillin/clavulanic acid: An update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs.* 1990;39(2):264–307.
 132. de Marco BA, Natori JSH, Fanelli S, Tótolí EG, Salgado HRN. Characteristics, properties and analytical methods of amoxicillin: A review with green approach. *Crit Rev Anal Chem.* 2017;47(3):267–77.
 133. Sychantha D, Brott AS, Jones CS, Clarke AJ. Mechanistic pathways for peptidoglycan O-acetylation and De-O-acetylation. *Front Microbiol.* 2018;9(OCT):1–17.
 134. Zuckerman JM, Qamar F, Bono BR. Review of macrolides (azithromycin, clarithromycin), ketolids (telithromycin) and glycolcyclines (tigecycline). *Med Clin North Am [Internet].* 2011;95(4):761–91. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2011.03.012>
 135. Vázquez-Laslop N, Mankin AS. How macrolide antibiotics work. *Trends Biochem Sci [Internet].* 2018;43(9):668–84. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.06.011>
 136. Dinos GP. The macrolide antibiotic renaissance. *Br J Pharmacol.* 2017;174(18):2967–83.
 137. Dingsdag SA, Hunter N. Metronidazole: an update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother.* 2017;73(2):265–79.
 138. Löfmark S, Edlund C, Nord CE. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis.* 2009;50(SUPP.1).
 139. Hernández Ceruelos A, Romero-Quezada LC, Ruvalcaba Ledezma JC, López Contreras L. Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: An update. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(1):397–401.
 140. Drlica K. Mechanism of fluoroquinolone action. *Curr Opin Microbiol.* 1999;2(5):504–8.
 141. Noel GJ. A Review of Levofloxacin for the Treatment of Bacterial Infections. *Clin Med Ther.* 2009;1:CMT.S28.
 142. Aboubakr M, Uney K, Elmas M. Bioavailability and pharmacokinetic profile of levofloxacin following intravenous, intramuscular and oral administration in turkeys. *Br Poult Sci.* 2013;55(1):115–9.
 143. Sarisaltik D, Teksin ZŞ. Bioavailability file: Levofloxacin. *Fab J Pharm Sci.* 2009;32(4):197–208.
 144. Ball P. Efficacy and Safety of Levofloxacin in the Context of Other Contemporary Fluoroquinolones: A Review. *Curr Ther Res - Clin Exp.* 2003;64(9):646–61.
 145. Hu Y, Zhu Y, Lu NH. Novel and effective therapeutic regimens for *Helicobacter pylori* in an era of increasing antibiotic resistance. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7(MAY):1–20.
 146. Dong BN, Graham DY. *Helicobacter pylori* infection and antibiotic resistance: a WHO high priority? *Physiol Behav.* 2017;176(3):139–48.
 147. Malfertheiner P, Megraud F, O’Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection - The Maastricht IV/ Florence consensus report. *Gut.* 2012;61(5):646–64.
 148. Rodgers C, van Zanten SV. A meta-analysis of the success rate of *Helicobacter pylori* therapy in Canada. *Can J Gastroenterol.* 2007;21(5):295–300.
 149. Norma da Direção Geral de Saúde nº 036/2011. Supressão ácida: utilização dos inibidores da bomba de protões e das suas alternativas terapêuticas. *Direção-Geral da Saúde.* 2011;1–20.
 150. Kim SE, Park MI, Park SJ, Moon W, Choi YJ, Cheon JH, et al. Trends in *Helicobacter pylori* eradication rates by first-line triple therapy and related factors in eradication therapy. *Korean J Intern Med.* 2015;30(6):801–7.
 151. Molina-Infante J, Lucendo AJ, Angueira T, Rodriguez-Tellez M, Perez-Aisa A, Balboa A, et al. Optimised empiric triple and concomitant therapy for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice: The OPTRICON study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41(6):581–9.
 152. Scaccianoce G, Hassan C, Panarese A, Pignionica D, Morini S, Zullo A. *Helicobacter pylori* eradication with

- either seven-day or 10-day triple therapies, and with a 10-day sequential regimen. *Can J Gastroenterol*. 2006;20(2):113–7.
153. Yang J, Zhang Y, Fan L, Zhu YJ, Wang TY, Wang XW, et al. Eradication efficacy of modified dual therapy compared with bismuth-containing quadruple therapy as a first-line treatment of *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol*. 2019;114(3):437–45.
154. Miehke S, Frederking D, Günther T, Glocker E, Eisele B, Andresen V, et al. Efficacy of three-in-one capsule bismuth quadruple therapy for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice in a multinational patient population. *Helicobacter*. 2017;22(6):1–5.
155. Gisbert JP, McNicholl AG. Eradication of *Helicobacter pylori* infection with non-bismuth quadruple concomitant therapy. *Front Anti-Infective Drug Discov [Internet]*. 2020; Disponível em: https://books.google.pt/books?hl=en&lr=&id=-BYHEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=non-bismuth+quadruple+therapy+tolerance&ots=3t83VPGAv&sig=x32rvLkWUwsB_IPN6rQcoJ4D9hk&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
156. Yanai A, Sakamoto K, Akanuma M, Ogura K, Maeda S. Non-bismuth quadruple therapy for first-line *Helicobacter pylori* eradication: A randomized study in Japan. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2012;3(1):1.
157. Gisbert JP, Calvet X. Update on non-bismuth quadruple (concomitant) therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Clin Exp Gastroenterol*. 2012;5(1):23–34.
158. Gisbert JP, Calvet X. Review article: Non-bismuth quadruple (concomitant) therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(6):604–17.
159. Lin TF, Hsu PI. Second-line rescue treatment of *Helicobacter pylori* infection: Where are we now? *World J Gastroenterol*. 2018;24(40):4548–53.
160. Chen P, Wu M, Chen C, Bair M, Chou C, Lin J, et al. Systematic review with meta-analysis : the efficacy of levofloxacin triple therapy as the first or second-line treatments of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;427–37.
161. Hsu P, Tsai F, Kao S, Hsu W, Cheng J, Peng N. Ten-day quadruple therapy comprising proton pump inhibitor, bismuth, tetracycline, and Levofloxacin is more effective than standard levofloxacin triple therapy in the second-line treatment of *Helicobacter pylori* infection: A randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol [Internet]*. 2017;112(9):1374–81. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2017.195>
162. Di Mario F, Aragona G, Dal Bò N, Cavestro GM, Cavallaro L, Iori V, et al. Use of bovine lactoferrin for *Helicobacter pylori* eradication. *Dig Liver Dis*. 2003;35(10):706–10.
163. Ciccaglione AF, Di Giulio M, Di Lodovico S, Di Campi E, Cellini L, Marzio L. Bovine lactoferrin enhances the efficacy of levofloxacin-based triple therapy as first-line treatment of *Helicobacter pylori* infection: An in vitro and in vivo study. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(4):1069–77.
164. Giansanti F, Panella G, Leboffe L, Antonini G. Lactoferrin from milk: Nutraceutical and pharmacological properties. *Pharmaceuticals*. 2016;9(4):1–15.
165. Megahed F, El-Assal M, Dabour A, Samy R, Rizk M, Al Adhm S. Lactoferrin as an added therapy in the treatment of *Helicobacter pylori*. *Benha Med J*. 2017;34(2):119.
166. Guideline on the evaluation of medicinal products indicated for treatment of bacterial infections. *Eur Med Agency*. 2011;69(20):996–8.
167. Boyanova L, Ilieva J, Gergova G, Davidkov L, Spassova Z, Kamburov V, et al. Numerous risk factors for *Helicobacter pylori* antibiotic resistance revealed by extended anamnesis: A Bulgarian study. *J Med Microbiol*. 2012;61(1):85–93.
168. Thung I, Aramin H, Vavinskaya V, Gupta S, Park JY, Crowe SE, et al. Review article: The global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;43(4):514–33.
169. Savoldi A, Carrara E, Graham DY, Conti M, Tacconelli E. Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: A systematic review and meta-analysis in World Health Organization regions. *Gastroenterology [Internet]*. 2018;155(5):1372–1382.e17. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.07.007>
170. Lopo I, Libânio D, Pita I, Dinis-Ribeiro M, Pimentel-Nunes P. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Portugal: Systematic review and meta-analysis. *Helicobacter*. 2018;23(4):1–12.
171. Qureshi NN, Gallaher B, Schiller NL. Evolution of amoxicillin resistance of *Helicobacter pylori* in Vitro: Characterization of resistance mechanisms. *Microb Drug Resist*. 2014;20(6):509–16.
172. Liu ZQ, Zheng PY, Yang PC. Efflux pump gene hefA of *Helicobacter pylori* plays an important role in multidrug resistance. *World J Gastroenterol*. 2008;14(33):5217–22.
173. Hu Y, Zhang M, Lu B, Dai J. *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance, a continuing and intractable problem. *Helicobacter*. 2016;21(5):349–63.
174. Francesco V De, Zullo A, Hassan C, Giorgio F, ROSania R, Ierardi E. Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance: An updated appraisal. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2011;2(3):35.
175. Vianna JS, Ramis IB, Ramos DF, Von Groll A, da Silva PEA. Drug resistance in *Helicobacter pylori*. *Arq Gastroenterol*. 2016;53(4):215–23.
176. Gong EJ, Ahn JY, Kim JM, Lee SM, Na HK, Lee JH, et al. Genotypic and phenotypic resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori* strains. *J Clin Med*. 2020;9(6):1930.
177. Hirata K, Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Muraoka H, Saito Y, et al. Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(SUPPL. 1):75–9.
178. Marques AT, Vítor JMB, Santos A, Oleastro M, Vale FF. Trends in *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin: From phenotypic to genomic approaches. *Microb Genomics*. 2020;6(3).
179. Ge X, Cai Y, Chen Z, Gao S, Geng X, Li Y, et al. Bifunctional enzyme SpoT is involved in biofilm

- formation of *Helicobacter pylori* with multidrug resistance by upregulating efflux pump Hp1174 (gluP). *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;1174:1–15.
180. Geng X, Li W, Chen Z, Gao S, Hong W, Ge X, et al. The Bifunctional Enzyme SpoT Is Involved in the Clarithromycin Tolerance of *Helicobacter pylori* by Upregulating the Transporters HP0939, HP1017, HP0497, HP0471. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(5):1–15.
181. Lee SM, Kim N, Kwon YH, Nam RH, Kim JM, Park JY, et al. rdxA , frxA and efflux pump in metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* : their relation to clinical outcomes. 2018;
182. Binh TT, Suzuki R, Huyen T, Kwon H. Search for novel candidate mutations for metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* using next-generation sequencing. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(4):2343–8.
183. Mirzaei N, Poursina F, Moghim S, Rahimi E. The mutation of the rdxA gene in metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Adv Biomed Res.* 2014;(March).
184. Li J, Li X. Antimicrobial resistance and drug Efflux pumps in *Helicobacter pylori*. 2016. 489–513 p.
185. Miyachi H, Miki I, Aoyama N, Shirasaka D, Matsumoto Y, Toyoda M, et al. Primary levofloxacin resistance and gyrA/B mutations among *Helicobacter pylori* in Japan. *Helicobacter.* 2006;11(4):243–9.
186. Denipote FG, Trindade EBSDM, Burini RC. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. *Arq Gastroenterol.* 2010;47(1):93–8.
187. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science (80-)*. 1965;147.
188. Mack DR. Probiotics, mixed messages. *Can Fam Physician.* 2005;51.
189. Guarner F, Co-chair MES, Israel RE, Canada RF, Garisch J, Africa S, et al. Probiotics and prebiotics. *World Gastroenterol Organ Glob Guidel.* 2017;(February).
190. Blandino G, Fazio D, Di Marco R. Probiotics: Overview of microbiological and immunological characteristics. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008;6(4):497–508.
191. Malferteiner P, Megraud F, Morain CAO, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht V / Florence Consensus Report. 2016;6–30.
192. Zhang M, Zhang C, Zhao J, Zhang H, Zhai Q. Microbial pathogenesis meta-analysis of the efficacy of probiotic-supplemented therapy on the eradication of *H. pylori* and incidence of therapy-associated side effects. *Microb Pathog [Internet].* 2020;147(March):104403. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104403>
193. Losurdo G, Cubisino R, Barone M, Principi M, Leandro G, Ierardi E, et al. Probiotic monotherapy and *Helicobacter pylori* eradication: A systematic review with pooled-data analysis. *World J Gastroenterol.* 2018;24(1):139–49.
194. Goderska K, Agudo Pena S, Alarcon T. *Helicobacter pylori* treatment: antibiotics or probiotics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102(1):1–7.
195. Hong S, Lee H, Kim JY, Jeong J, Shim J. In vitro and in vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus paracasei* HP7. *Lab Anim Res.* 2018;6055(4):216–22.
196. Lv Z, Wang B, Zhou X, Wang F, Xie Y, Zheng H, et al. Efficacy and safety of probiotics as adjuvant agents for *Helicobacter pylori* infection: A meta-analysis. *Exp Ther Med.* 2015;9(3):707–16.
197. Lü M, Yu S, Deng J, Yan Q, Yang C, Xia G, et al. Efficacy of probiotic supplementation therapy for *Helicobacter pylori* eradication: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One.* 2016;11(10):1–26.
198. Chen Y-H, Tsai W-H, Wu H-Y, Chen C-Y, Yeh W-L, Chen Y-H, et al. Probiotic *Lactobacillus* spp. act against *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *J Clin Med.* 2019;8(1):90.
199. Szajewska H, Horvath A, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* supplementation and eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41(12):1237–45.
200. Zhou BG, Chen LX, Li B, Wan LY, Ai YW. *Saccharomyces boulardii* as an adjuvant therapy for *Helicobacter pylori* eradication: A systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis. *Helicobacter.* 2019;24(5):1–16.
201. Chitapanarux T, Thongsawat S, Pisespongsa P, Leerapun A, Kijdamrongthum P. Effect of *Bifidobacterium longum* on PPI-based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* : A randomized , double-blind placebo- controlled study. *J Funct Foods [Internet].* 2015;13:289–94. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.003>
202. Ayala G, Escobedo-hinojosa WI, Cruz-herrera CF De, Romero I. Exploring alternative treatments for *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol.* 2014;20(6):1450–69.
203. Chenoll E, Casinos B, Bataller E, Astals P, Echevarri J, Iglesias JR, et al. Novel probiotic *Bifidobacterium bifidum* CECT 7366 strain active against the pathogenic bacterium *Helicobacter pylori* □. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(4):1335–43.
204. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis. Part 1: causes and threats. *Pharm Therapeutics.* 2015;82(9):749–51.
205. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Front Microbiol.* 2010;1(DEC):1–7.
206. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era? *Arch Med Res.* 2005;36(6):697–705.
207. da Cunha BR, Fonseca LP, Calado CRC. Antibiotic discovery: Where have we come from, where do we go? *Antibiotics.* 2019;8(2).
208. World Health Organization. Prevenção de infecções adquiridas no hospital - Um guia prático. Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge [Internet]. 2002;93. Disponível em: <https://www.dgs.pt/programa-nacional-de>

- controlo-da-infeccao/documentos/manuais-de-boas-praticas/prevencao-de-infeccoes-adquiridas-no-hospital-um-guia-pratico-pdf.aspx
209. Friedrich AW. Control of hospital acquired infections and antimicrobial resistance in Europe: the way to go. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2019;169:25–30.
 210. Martins da Silva M. Controlo de infeção em Portugal: Evolução e atualidade. *Salut Sci*. 2013;5(Icc):2–8.
 211. McFee RB. Nosocomial or hospital-acquired infections: An overview. *Disease-a-Month*. 2009;55(7):422–38.
 212. Wang Q, Wang P, Yang Q. Occurrence and diversity of antibiotic resistance in untreated hospital wastewater. *Sci Total Environ* [Internet]. 2017;621:990–9. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.128>
 213. Kotilea K, Mekhael J, Salame A, Mahler T, Miendje-Deyi VY, Cadranel S, et al. Eradication rate of *Helicobacter Pylori* infection is directly influenced by adherence to therapy in children. *Helicobacter*. 2017;22(4):1–7.
 214. Shakya Shrestha S, Bhandari M, Thapa SR, Shrestha R, Poudyal R, Purbey B, et al. Medication adherence pattern and factors affecting adherence in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Kathmandu Univ Med J*. 2016;14(53):58–64.
 215. Guidelines for the regulatory assessment of medicinal products for use in Self medication - WHO. *World Heal Organ* [Internet]. 2000;53(9):1689–99. Disponível em: <http://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf%0Ahttps://hdl.handle.net/20.500.12380/245180%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12>
 216. Sunny T, Jacob R, K K, Varghese S. Self-medication: Is a serious challenge to control antibiotic resistance? *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 2019;9(0):1.
 217. Rather IA, Kim BC, Bajpai VK, Park YH. Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2017;24(4):808–12. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.01.004>
 218. Grigoryan L, Monnet D, Haaijer-Ruskamp F, Bonten M, Lundborg S, Verheij T. Self-Medication with antibiotics in Europe: A case for action. *Curr Drug Saf*. 2010;5(4):329–32.
 219. Notícias T-R. Profissionais dos centros saúde preocupados com sobrecarga nos serviços [Internet]. [citado 31 de Janeiro de 2021]. Disponível em: <https://www.tsf.pt/portugal/sociedade/profissionais-dos-centros-saude-preocupados-com-sobrecarga-nos-servicos-12890531.html>
 220. Notícias S. SIC Notícias | Sobrecarga nos centros de saúde deixa profissionais sem mãos a medir [Internet]. [citado 31 de Janeiro de 2021]. Disponível em: <https://sicnoticias.pt/especiais/coronavirus/2020-11-11-Sobrecarga-nos-centros-de-saude-deixa-profissionais-sem-maos-a-medir>
 221. Lescure D, Paget J, Schellevis F, van Dijk L. Determinants of self-medication with antibiotics in European and Anglo-Saxon countries: A systematic review of the literature. *Front Public Heal*. 2018;6(DEC):1–11.
 222. Consequential I, Implications PH. Antibiotic seu in agriculture and its consequential resistance in environmental sources : Potential public health implications. 2018.
 223. Founou LL, Founou RC, Essack SY. Antibiotic resistance in the food chain : A developing. 2016;7(November):1–19.
 224. Koch BJ, Hungate BA, Price LB. Food-animal production and the spread of antibiotic resistance : the role of ecology. *Ecol Soc Am*. 2017;
 225. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(18):5649–54.
 226. Koike S, Mackie R, Aminov R. Agricultural use of antibiotics and antibiotic resistance. 2017;1–33.
 227. Sabtu N, Enoch DA, Brown NM. Antibiotic resistance: What, why, where, when and how? *Br Med Bull*. 2015;116(1):105–13.
 228. Roszczenko-Jasińska P, Wojtyś MI, Jagusztyn-Krynicka EK. *Helicobacter pylori* treatment in the post-antibiotics era—searching for new drug targets. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2020;104(23):9891–905.
 229. Pohl D, Keller PM, Bordier V, Wagner K. Review of current diagnostic methods and advances in *Helicobacter pylori* diagnostics in the era of next generation sequencing. Vol. 25, *World Journal of Gastroenterology*. 2019. 4629–4660 p.
 230. Gingold-Belfer R, Niv Y, Levi Z, Boltin D. Rifabutin triple therapy for first-line and rescue treatment of *Helicobacter pylori* infection: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2020;0–3.
 231. Graham DY, Canaan Y, Maher J, Wiener G, Hulten KG, Kalfus IN. Rifabutin-based triple therapy (RHB-105) for *Helicobacter pylori* eradication: A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 2020;172(12):795–802.
 232. Wolle K, Malfertheiner P. Treatment of *Helicobacter pylori*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2007;21(2):315–24.
 233. Nishizawa T, Suzuki H, Kurabayashi K, Masaoka T, Muraoka H, Mori M, et al. Gatifloxacin resistance and mutations in *gyrA* after unsuccessful *Helicobacter pylori* eradication in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(4):1538–40.
 234. Wang Y, Zhao R, Wang B, Zhao Q, Li Z, Zhu-ge L, et al. Sequential versus concomitant therapy for treatment of *Helicobacter pylori* infection: an updated systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2018;74(1).
 235. Fiorini G, Zullo A, Saracino IM, Gatta L, Pavoni M, Vaira D. Pylora and sequential therapy for first-line *Helicobacter pylori* eradication: A culture-based study in real clinical practice. *Eur J Gastroenterol Hepatol*.

- 2018;30(6):621–5.
236. Zullo A, Fiorini G, Scaccianoce G, Portincasa P, Francesco V De, Vassallo R, et al. Sequential therapy for first-line *Helicobacter pylori* eradication : 10- or 14-day regimen ? *J Gastrointestinel Liver Dis.* 2019;28(1):11–4.
237. Neshani A, Zare H, Akbari Eidgahi MR, Hooshyar Chichaklu A, Movaqar A, Ghazvini K. Review of antimicrobial peptides with anti-*Helicobacter pylori* activity. *Helicobacter.* 2019;24(1).
238. Chen CC, Luo JC, Fang YJ, Lee JY, Kuo CC, Yang TH, et al. Comparison of the effect of clarithromycin triple therapy with or without N-acetylcysteine in the eradication of *Helicobacter pylori*: a randomized controlled trial. *Therap Adv Gastroenterol.* 2020;13(January):1–12.
239. Bubić A, Mrnjavac N, Stuparević I, Łyczek M, Wielgus-Kutrowska B, Bzowska A, et al. In the quest for new targets for pathogen eradication: the adenylosuccinate synthetase from the bacterium *Helicobacter pylori*. *J Enzyme Inhib Med Chem [Internet].* 2018;33(1):1405–14. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1506773>
240. Narczyk M, Bertoša B, Papa L, Vuković V, Leščić Ašler I, Wielgus-Kutrowska B, et al. *Helicobacter pylori* purine nucleoside phosphorylase shows new distribution patterns of open and closed active site conformations and unusual biochemical features. *FEBS J.* 2018;285(7):1305–25.