



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Benefício da utilização de Probióticos, Prebióticos e Simbióticos na erradicação da *Helicobacter pylori*

Maria João Guimarães Campos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrados)

Orientador: Doutor Rui Miguel Monteiro Ramos

Covilhã, maio de 2014

Agradecimentos

À Universidade da Beira Interior e à Faculdade Ciências da Saúde, pela oportunidade.

Ao Professor Doutor Miguel Castelo Branco, pela inteira dedicação à faculdade e aos alunos.

Ao Doutor Rui Miguel Monteiro Ramos, meu orientador, pelo seu apoio, colaboração e disponibilidade.

A todos os Professores, Médicos e Tutores pelo conhecimento, aprendizagem e formação proporcionadas ao longo do meu percurso académico.

A todos os amigos pela força e apoio.

Aos meus pais e à minha irmã, pela dedicação, exigência e apoio incondicional.

Resumo

Introdução: A *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa que coloniza a mucosa do estômago. É considerada o principal patógeno humano, com uma prevalência estimada de 50% na população mundial, sendo responsável por doenças gástricas clinicamente graves, como a úlcera péptica, linfoma MALT e carcinoma gástrico, que diminuem a qualidade de vida dos indivíduos. Genericamente, o tratamento da erradicação consiste na administração de uma terapêutica tripla composta por um IBP e dois antibióticos, Claritromicina e Amoxicilina ou Metronidazole, por um período de 7-14 dias, de acordo com as guidelines do “Maastrich Consensus in Europe and the American Gastroenterological Association in the United States”. (1, 2)

É sabido que os tratamentos para a erradicação da *H. pylori* se têm revelado um verdadeiro desafio. Os regimes atualmente utilizados têm perdido eficácia, sendo a principal causa atribuída à resistência da bactéria aos antibióticos; contudo, a importância patológica que representa torna necessária a sua erradicação. (3)

A presente dissertação centra-se em novos esquemas ou alterações aos regimes atuais para aumentar a eficácia do tratamento. Pretende-se uma revisão sistemática para avaliar os benefícios da erradicação da *H. pylori* com a utilização de probióticos, prebióticos e simbióticos.

Métodos: Foram pesquisadas publicações indexadas na base eletrónica científica, Pubmed, referentes aos últimos dez anos; selecionando-se quarenta e sete publicações para análise.

Resultados: Dos estudos analisados, vinte em probióticos, dois em simbióticos e apenas um em prebióticos, demonstram uma redução estatisticamente significativa nas taxas de erradicação do *H. pylori*.

Conclusão: Os efeitos gastrointestinais adversos associados à terapêutica antibiótica podem representar sérias desvantagens na terapia anti-*H. pylori*. Nesse sentido, a suplementação com probióticos, prebióticos e simbióticos, para além de parecer ser eficaz na redução de alguns efeitos adversos e melhorar a adesão do paciente ao tratamento convencional, apresenta uma maior taxa de erradicação, pela diminuição das contagens da bactéria após a utilização destes adjuvantes. Torna-se necessário procurar outras combinações de probióticos e prebióticos, com dosagens diferentes e em períodos de tempo de tratamento específicos, para os introduzir como terapia padrão de primeira linha, atingindo de uma forma mais consistente uma erradicação custo-efetiva.

Palavras-Chave

Probióticos, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, Prebióticos, Simbióticos, *Helicobacter pylori*, Erradicação.

Abstract

Introduction: The *Helicobacter pylori* is a gram-negative bacteria which colonizes gastric mucosa. It is considered the main human pathogen, with an estimated incidence of 50% on world's population, being the main responsible for serious gastric diseases, as gastric ulcer, MALT lymphoma and gastric carcinoma, which reduce individuals' quality of life. Generally, the eradication treatment consists on the administration of a triple combination therapy composed of one Proton Pump Inhibitor (PPI) and two antibiotics, Clarithromycin and Amoxicillin or Metronidazole, for a period of 7-14 days, according to the guidelines presented on "Maastrich Consensus in Europe and the American Gastroenterological Association in the United States". (1, 2)

It is known that eradication treatments of *H.pylori* are proving to be a challenge. The techniques currently used have lost efficacy, mainly due to the bacteria's resistance to the antibiotic; however, its pathological importance makes eradication crucial in some cases. (3) This study focuses on new schemes or alterations to current techniques in order to increase the treatment's efficacy. This paper aims to do a systematically review in order to evaluate the benefits of *H.pylori* eradication through the use of probiotics, prebiotics and symbiotics.

Methods: publications on the scientific database *Pubmed* concerning the last ten years were analyzed. Forty-seven publications have been selected to this study.

Results: The analyzed studies, twenty on probiotics, two on symbiotics and only one on prebiotics, show a significant reduction on eradication rates of *H.pylori*.

Conclusions: Gastrointestinal effects associated to the antibiotic treatment may represent serious disadvantages on anti-*H.pylori* therapy. Therefore, supplementation with probiotics, prebiotics and symbiotics, besides seeming effective on the reduction of side effects, and consequently improve patient's adherence to the conventional treatment, presents a higher eradication rate, through the reduction in bacterial counts after using these adjuncts. Therefore, it becomes necessary searching other combinations of probiotics and prebiotics, with different dosages and with specific periods of time in order to achieve a more cost-effective eradication and introduce it as a first line standard therapy.

Key-words

Probiotics, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, Prebiotics, Symbiotics, *Helicobacter pylori*, Eradication.

Índice

Lista de Figuras.....	xii
Lista de Tabelas	xiv
Lista de Abreviaturas	xv
Capítulo 1. Introdução	1
Secção 1.1. Flora Bacteriana normal do trato gastrointestinal.....	2
1.1.1. Microbiota e Probióticos.....	3
1.1.2. Disbiose	4
Secção 1.2. Probióticos, prebióticos e simbióticos	5
1.2.1. Probióticos	5
1.2.1.1. Probióticos - Classificação e Propriedades.....	5
1.2.1.1.1. Género <i>Bifidobacterium</i>	6
1.2.1.1.2. Género <i>Lactobacillus</i>	6
1.2.1.2. Probióticos - Mecanismo de ação	7
1.2.1.3. Probióticos - Benefícios da sua utilização	8
1.2.2. Prebióticos	8
1.2.2.1. Prebióticos - Classificação e Propriedades.....	9
1.2.2.1.1. Inulina e Frutooligosacarídeos	10
1.2.2.1.2. Prebiótico – Principal fonte natural o leite materno	10
1.2.2.2. Prebióticos – Benefícios para a saúde	11
1.2.3. Simbióticos	11
Secção 1.3. <i>Helicobacter pylori</i>	12
1.3.1. Enquadramento teórico	12
1.3.2. Erradicação <i>Helicobacter pylori</i>	13
1.3.2.1. Enquadramento clínico	13
1.3.2.1.1. Gastrite.....	14
1.3.2.1.2. Úlcera Gástrica	14
1.3.2.1.3. Carcinoma gástrico e Linfoma MALT	15
1.3.3. Diagnóstico Laboratorial de <i>Helicobacter pylori</i>	15
1.3.3.1. Métodos invasivos	16
1.3.3.1.1. Teste rápido da urease (RUT).....	16
1.3.3.1.2. Exame de Cultura	16
1.3.3.1.3. Exame Histológico	17
1.3.3.1.4. PCR (Reacção de Cadeia da Polimerase).....	17
1.3.3.2. Métodos não invasivos	17
1.3.3.2.1. Testes sorológicos	17
1.3.3.2.2. Teste respiratório ¹³ C-ureia (UBT).....	18
1.3.3.2.3. Pesquisa de antígenos de <i>Helicobacter pylori</i> nas fezes (SAT)	18
1.3.4. Indicação para erradicação da <i>Helicobacter Pylori</i>	18
1.3.4.1. Doença ulcerosa péptica - úlcera duodenal e gástrica	19
1.3.4.2. Dispepsia Funcional	19
1.3.4.3. Doença de Refluxo gastroesofágico (DRGE)	19
1.3.4.4. AINES e AAS.....	20

1.3.4.5.Carcinoma gástrico.....	20
1.3.4.6.Linfoma MALT	20
1.3.4.7.Anemia por deficiência de ferro inexplicada	20
1.3.4.8.IBP	21
1.4.Tratamento “Standard”	21
Secção 1.4. Objetivos	23
Capítulo 2. Metodologia	24
Secção 2.1. Seleção do Material.....	24
Secção 2.2. Critérios de inclusão e exclusão	25
Secção 2.3. Programa utilizado para processamento de dados.....	25
Capítulo 3. Resultados	27
Capítulo 4. Discussão.....	34
Capítulo 5. Conclusão	38
Secção 5.1. Perspetivas futuras.....	38
Bibliografia	39

Lista de Figuras

Figura 1. Mecanismo de ação.....	7
Figura 2. Infiltrado de eosinófilos com inclusões “ <i>Russel bodies</i> ”, em biópsia gástrica.....	14
Figura 3. Alterações neoplásicas que ocorrem na mucosa gástrica, promovendo o desenvolvimento de carcinoma gástrico.....	15

Lista de Tabelas

Tabela 1. Microbiota intestinal.....	3
Tabela 2. Mecanismos de interação probiótico/hospedeiro. A simbiose entre a flora e o hospedeiro pode ser otimizada com intervenções farmacológicas ou nutricionais no ecossistema microbiano intestinal, utilizando probióticos ou prebióticos.....	4
Tabela 3. Microorganismos usados como probióticos.....	6
Tabela 4. Carboidratos utilizados na dieta.....	9
Tabela 5. Principais oligossacarídeos com ação prebiótica.....	9
Tabela 6. Comparação da sensibilidade, especificidade e custos entre métodos invasivos e métodos não invasivos.....	16
Tabela 7. Áreas com baixa taxa de resistência à Claritromicina.....	22
Tabela 8. Áreas com alta taxa de resistência à Claritromicina.....	22
Tabela 9. Desenho do estudo.....	24
Tabela 10. Resultados.....	27

Lista de Abreviaturas

AAS	Ácido Acetilsalicílico
ADN	Acido Desoxirribonucleico
AINES	Anti-Inflamatórios Não Esteroides
CFU	Unidade Formadora de Colónias
CG	Carcinoma Gástrico
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DRGE	Doença de Refluxo Gastroesofágico
ECD	Exame Complementar de Diagnóstico
EDA	Endoscopia Digestiva Alta
FAO	“Food and Agriculture Organization of the United Nations”
FOS	Fruto-Oligossacarídeos
GALT	Gut-Associated Lymphoid System
GC	Gastrite Crónica
<i>H.pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IARC	International Agency for research on Cancer
IBP	Inibidor da Bomba de Protões
LM	Linfoma MALT
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	“Polimerase Chain Reaction”
RTU	“Rapid Urease Test”
SAT	“Stool Antigen Test”
SII	Síndrome Intestino Irritável
UBT	Teste respiratório ¹³ C-ureia

UD Úlcera Duodenal

UG Úlcera Gástrica

Capítulo 1. Introdução

O considerável aumento da resistência aos antibióticos, o surgimento de muitas estirpes multi-resistentes e a preocupação crescente com o aumento da expectativa de vida com o propósito de melhorar a qualidade de vida com anos de saúde potencialmente ganhos, enfatizam a necessidade de abordagens terapêuticas alternativas para o tratamento de muitas doenças. O aumento da morbi-mortalidade associado a doenças agudas ou crônicas é multifatorial e condiciona a qualidade de vida dos indivíduos.

A ideia de que os alimentos poderiam prevenir doenças e serem usados como tratamento, surgiu há milênios, com Hipócrates, quando afirmava “que o teu remédio seja o teu alimento e o teu alimento seja o teu remédio”. (4) A alimentação é o fator primordial tanto na prevenção quanto na promoção da saúde. Evita e controla muitas doenças, como diabetes mellitus (DM), hipertensão, neoplasias e insuficiência cardíaca. Sendo assim, inúmeros estudos são realizados a fim de comprovar a atuação de alguns alimentos na redução do risco destas doenças e das doenças causadas por uma microbiota em desequilíbrio.(5)

É neste ponto que esta dissertação ganha particular relevância, pretendendo demonstrar os benefícios de terapêuticas alternativas na erradicação da *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) com a utilização de probióticos, prebióticos e simbióticos. (1)

Embora descritos há mais de um século, só nas últimas duas décadas é que estes suplementos têm algum destaque como agentes alternativos, preventivos e terapêuticos, que podem exercer efeitos tanto diretos como indiretos sobre a patogênese e a progressão da doença.

O termo probiótico é definido pela United Nations and World Health Organization Expert Panel como “um microrganismo vivo que, quando administrado em quantidades adequadas, confere benefícios na saúde do hospedeiro”.(1) Mais recentemente, foram utilizados prebióticos, ingredientes alimentares não digeridos que ao atingirem o colón são metabolizados seletivamente por um número limitado de bactérias benéficas, os quais alteram a flora do cólon gerando uma flora bacteriana saudável. (6) A combinação de probióticos e prebióticos tem o nome de simbióticos, potenciando, em conjunto, os efeitos imunossuppressores. (1)

Milhares de bactérias habitam o sistema digestivo humano formando mais de um quilo do nosso peso corporal. A flora intestinal consiste em mais de 400 espécies diferentes ou tipos de bactérias benéficas/prejudiciais. Uma forma de manter o equilíbrio entre estas bactérias é o consumo de probióticos e a sua introdução na dieta. Estes incluem um grande grupo heterogêneo de bactérias que habitam no trato gastrointestinal (GI). (1)

Há mais de uma década foram emergindo no mercado alimentar os produtos lácteos fermentados com bactérias ácido lácticas, como: *Bifidobacterium* e espécies de *Lactobacillus*; açúcares fortificados com Fruto-oligossacarídeos (FOS) ou inulina; ou suplementos que contêm bactérias probióticas. Os efeitos benéficos como, assegurar o equilíbrio correto ou o bom funcionamento da flora intestinal e a regulação do sistema imunológico intestinal ou reforço da barreira intestinal, são atribuídos a estes produtos. Neste contexto, os probióticos, prebióticos e simbióticos têm sido alvo de estudos e publicações científicas demonstrando terapêuticas efetivas, tanto ao nível sistémico como ao nível do trato GI. (3)

Múltiplos estudos descreveram os seus benefícios para a saúde nas infeções GI, na atividade antimicrobiana, na melhoria do metabolismo da lactose, na redução e concentração de colesterol total, na estimulação do sistema imune, nas propriedades anti-mutagénicas e anti-carcinogénicas, nas propriedades anti-diarreicas, na melhoria da doença inflamatória intestinal e na supressão da infeção pela *H. pylori* pela adição de espécies seletivas destes agentes alimentares alternativos. (7)

Sabe-se que os tratamentos para a erradicação da *H. pylori* se têm revelado um verdadeiro desafio. A resistência da bactéria aos antibióticos contribui para a perda da eficácia dos regimes atualmente aceites. Pela importância que representa no tratamento da gastrite, da doença ulcerosa péptica, do linfoma de MALT, a sua erradicação é recomendada. (3) Esta dissertação centra-se em novos esquemas ou alterações aos regimes atuais para aumentar a eficácia do tratamento.

Secção 1.1. Flora Bacteriana normal do trato gastrointestinal

Bactérias aeróbicas e anaeróbicas, leveduras e fungos vivem no trato GI que tem mais de 400 m² de área de superfície. Todos estes organismos no trato GI saudável vivem em equilíbrio - simbiose. Estão identificadas mais de 2000 espécies de microrganismos bacterianos comensais no nosso organismo, a grande maioria no intestino. De facto, o intestino dos mamíferos é considerado um dos ecossistemas mais densamente povoados, com uma carga bacteriana de 10¹² organismos/g de material fecal no cólon. (8)

As várias espécies de microrganismos no intestino dos seres humanos constituem a microbiota intestinal que pode conter cerca de 100 vezes o número de genes contidos no genoma humano. A distribuição longitudinal de microrganismos intestinais aumenta na densidade progredindo do intestino delgado para o cólon. (8)

A flora normal que coloniza o trato GI exerce várias funções: sintetiza e excreta vitaminas em excesso, que podem ser posteriormente absorvidas como nutrientes (bactérias entéricas secretam vitamina K e B12, e bactérias lácteas produzem algumas vitaminas B); impedem a

colonização de patógenos que competem por pontos de ligação ou nutrientes essenciais; estimulam o desenvolvimento de certos tecidos no trato GI; estimulam o desenvolvimento de anticorpos naturais; produzem uma variedade de substâncias que variam de ácidos gordos não específicos e peróxidos, a bacteriocinas altamente específicas, que inibem ou destroem outras bactérias. A aquisição inicial da microbiota intestinal desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de processos e de proteção contra agentes patogênicos imunes. (9)

Tabela 1. Microbiota intestinal. Adaptada (1)

Estômago e duodeno	<ul style="list-style-type: none"> • Quantidades muito baixas de microorganismos: < 10³ de células bacterianas por grama de conteúdo • Fundamentalmente lactobacilos e estreptococos • O ácido, a bilis, e as secreções pancreáticas suprimem a maioria dos micróbios ingeridos • A atividade motora fásica propulsiva dificulta a colonização estável do lúmen 	
Jejuno e íleo	<ul style="list-style-type: none"> • O número de bactérias aumenta progressivamente de umas 10⁴ células no jejuno a 10⁷ células por grama de conteúdo íleo distal 	
Intestino grosso	<ul style="list-style-type: none"> • Densamente povoado por anaeróbios: 10¹² células por grama de conteúdo luminal 	

1.1.1. Microbiota e Probióticos

Os probióticos afetam as bactérias intestinais aumentando o número de bactérias anaeróbias benéficas e diminuindo a população de microrganismos potencialmente patogênicos. Os probióticos alteram o ecossistema intestinal estimulando os mecanismos imunes da mucosa e os não-imunes através de um antagonismo e concorrência com os potenciais patógenos. Pensa-se que esses fenômenos conduzem a efeitos benéficos, inclusive a uma redução da incidência e gravidade da diarreia, a patologia que mais se beneficia com o uso de probióticos.

Tabela 2. Mecanismos de interação probiótico/hospedeiro. A simbiose entre a flora e o hospedeiro pode ser otimizada com intervenções farmacológicas ou nutricionais no ecossistema microbiano intestinal, utilizando probióticos ou prebióticos. Adaptada de: (1)

Probióticos	
Benefícios imunológicos	<ul style="list-style-type: none">• Ativar os macrófagos locais para aumentar a apresentação dos antígenos para os linfócitos B e aumentar a produção de imunoglobulina A secretória (IgA) tanto local quanto sistemicamente• Modular os perfis das citocinas• Induzir a hipo-resposta aos antígenos alimentares
Benefícios não imunológicos	<ul style="list-style-type: none">• Digerir os alimentos e concorrer com os patógenos pelos nutrientes• Alterar o pH local para criar um ambiente local desfavorável aos patógenos• Produzir bacteriocinas para inibir os patógenos• Fagocitar os radicais superóxidos• Estimular a produção epitelial de mucina• Aumentar a função da barreira intestinal• Concorrer por aderência com os patógenos• Modificar as toxinas de origem patogênica
Prebióticos	
<ul style="list-style-type: none">• Efeitos metabólicos: produção de ácidos graxos de cadeia curta, metabolismo graxo. Absorção de íons (Ca, Fe, Mg)• Aumentar a imunidade do hospedeiro (produção de IgA, modulação de citocinas, etc.)	

1.1.2. Disbiose

As bactérias do trato GI são essenciais para a fisiologia normal, contudo podem ser potencialmente patogênicas. A disbiose ocorre quando o equilíbrio da microflora bacteriana é alterado levando a um desequilíbrio no feedback metabólico ou imunológico do hospedeiro. Round et al. descrevem uma microbiota saudável como a composição equilibrada de muitas classes de bactérias, simbioses (organismos com funções de promoção da saúde), comensais (residentes permanentes da microbiota que não fornecem nenhum benefício ou prejuízo para o hospedeiro) e patobiontes (residentes permanentes da microbiota com o potencial de induzir patologia). (8)

Este equilíbrio é responsável por uma série de funções dentro do organismo, tais como produção de vitaminas, atividades hormonais, imunidade e desintoxicação. Nos casos de desequilíbrio bacteriano, a liberação de produtos metabólicos tóxicos é induzida, seguida pela flatulência, distensão abdominal, dor intestinal, inflamação, cólicas, obstipação e/ou diarreia. É importante que o diagnóstico de disbiose seja feito corretamente, uma vez que o tratamento apenas sintomático não a trata, com o risco de desenvolvimento de outras patologias.

Na verdade, a disbiose intestinal deve ser considerada como uma possível causa ou fator contribuinte para os pacientes que têm asma, bronquite, alergias, distúrbios autoimunes, cancro da mama e de cólon, fadiga inexplicável ou sintomas neuropsiquiátricos. Muitas doenças crônicas e degenerativas como síndrome do intestino irritável (SII), doença

inflamatória intestinal (DII), artrite reumatóide e a espondilite anquilosante, são conhecidas hoje pela possível ligação com desequilíbrios na microbiota intestinal. (8)

Secção 1.2. Probióticos, prebióticos e simbióticos

1.2.1. Probióticos

A palavra probiótico deriva do Grego e do Latim e significa “para a vida”.⁽⁸⁾ Embora o termo e a definição de probiótico tenham origem nos anos 90, o interesse por microrganismos potencialmente benéficos à saúde é de tempos remotos. (4) Em 1907, o Russo, Elie Metchnikoff, vencedor do prémio Nobel, num dos seus estudos propõe a ideia de que a ingestão de microrganismos pode apresentar efeitos benéficos para o ser humano, especialmente no tratamento de doenças do trato digestivo. No entanto, só em 1965, o termo probiótico foi primeiramente utilizado por Lilly e Stillwell para descrever substâncias que, quando secretadas por um organismo podem estimular o crescimento de outras. A Organização Mundial de Saúde (OMS) e a “Food and Agriculture Organization of the United Nations” (FAO) definem que os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Esta é a definição atual, internacionalmente aceite. Os probióticos consistem em bactérias ou leveduras reconhecidas como alimentos funcionais, que recolonizam e restauram a microbiota intestinal. (10)

1.2.1.1. Probióticos - Classificação e Propriedades

A maioria dos probióticos são microrganismos semelhantes à microbiota do trato GI saudável, especialmente a dos lactentes, que apresentam apenas microrganismos que conferem uma proteção natural para algumas doenças. Os microrganismos mais comumente utilizados envolvem um grupo heterogéneo de bactérias ácido-lácticas (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*), estando os dois primeiros no topo da lista. Na tabela 3 encontram-se descritos os probióticos mais utilizados. (8)

A seleção de bactérias probióticas tem como base os seguintes critérios: o género, a origem, a estabilidade com o ácido do estômago e sais biliares, a capacidade de aderir à mucosa intestinal, a capacidade de colonizar o trato GI humano, a capacidade de produzir compostos antimicrobianos e a atividade metabólica no intestino. (11)

Os probióticos estão presentes como suplementos da dieta sobre a forma de cápsulas, comprimidos e pós, apresentando propriedades específicas para sobreviverem ao fabrico e armazenamento industrial a longo prazo. Para benefícios na saúde, a quantidade adequada recomendada de probióticos é de 5×10^9 CFU (Unidade Formadora de Colónias)/dia, durante 5 dias. (8)

Tabela 3 Microorganismos usados como probióticos. Adaptado de: (11)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Other lactic acid bacteria	Other
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> strain Nissle
<i>L. casei</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. farciminis</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>	
<i>L. fermentum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. thermophilum</i>		
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

1.2.1.1.1. Género *Bifidobacterium*

As Bifidobactérias são microrganismos gram-positivos não formadores de esporos. Este género inclui 30 espécies, de origens diferentes (humana, animal, águas residuais e leite fermentado). Caracterizam-se por microrganismos produtores de ácido acético e láctico, sendo a frutose-6-fosfato fosfoacetolase, a enzima essencial desta via metabólica de fermentação. Além da glicose, todas as bifidobactérias humanas são capazes de utilizar a galactose, a lactose e a frutose como fontes de carbono. (4)

1.2.1.1.2. Género *Lactobacillus*

Cerca de 56 espécies do género de *Lactobacillus* foram descritas até hoje, sendo os *L. acidophilus*, *L. casei* e *L. rhamnosus*, as mais utilizadas para fins de suplementação dietética. Essas bactérias estão distribuídas por vários nichos ecológicos, sendo encontradas por todo o trato GI e genitourinário, constituindo uma grande parte da microbiota.

A sua distribuição é afetada por diversos fatores ambientais como: pH, disponibilidade de oxigénio, nível de substrato específico, presença de secreções e interações bacterianas; com propriedades potencialmente probióticas que favorecem o organismo. Assim, o *L. acidophilus* e o *L. casei* têm sido amplamente utilizados pelos laticínios para produção de leites fermentados e outros derivados lácteos. (4)

1.2.1.2. Probióticos - Mecanismo de ação

Os efeitos dos probióticos são classificados por meio de três mecanismos de ação principais.

O primeiro, modula as defesas imunológicas do hospedeiro, incluindo o sistema imune inato e o adquirido. (12) Várias espécies de probióticos induzem citocinas protetoras (IL-10 e TGF-beta) e supressoras pro-inflamatórias (TNF) na mucosa de pacientes com síndrome pós-colectomia total, preservação do esfíncter anal, anastomose ileo-anal, colite ulcerosa e doença de Chron. (13) Este modo de ação é importante não só na prevenção e na terapia de doenças infecciosas, como também no tratamento de doenças inflamatórias crônicas do trato digestivo. Torna-se importante na erradicação de células neoplásicas do hospedeiro.

O segundo exerce efeitos diretos nos microrganismos comensais e patogênicos, como a produção de substâncias antimicrobianas, competição por nutrientes e sítios de adesão e efeitos anti-invasivos das células epiteliais (função de barreira). É um mecanismo importante na prevenção e tratamento de doenças infecciosas e restaura o equilíbrio da microbiota intestinal. (12)

Finalmente, o terceiro resulta da inativação de toxinas e produção de metabolitos anti-microbianos. (12)

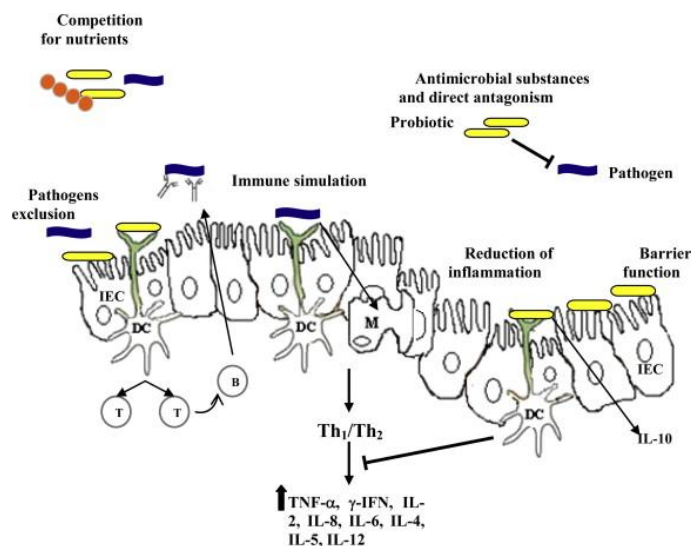


Figura 1. Mecanismo de ação. Adaptado de: (11)

1.2.1.3. Probióticos - Benefícios da sua utilização

Os mecanismos e a eficácia dos probióticos dependem, por vezes, de interações específicas com a microbiota do hospedeiro e com as células imunocompetentes da mucosa intestinal. O sistema linfóide associado ao intestino (GALT) é um dos órgãos imunológicos mais competentes do organismo. A sua maturação e o ótimo desenvolvimento dependem da composição da microbiota intestinal.(11)

Vários estudos relatam os benefícios atribuídos aos probióticos, como a preservação da integridade intestinal e atenuação dos efeitos de doenças intestinais. São exemplos, a diarreia infantil induzida por rotavírus, a diarreia associada ao uso de antibióticos, a DII, a redução da gravidade da hepatopatia alcoólica e a inibição da colonização gástrica com *H. pylori*, sendo a última associada a gastrite, a úlcera péptica e ao carcinoma gástrico (7, 11, 14) Há ainda evidências que os probióticos estimulam a resposta imunológica, na modulação de reações alérgicas (15), na melhoria da saúde urogenital de mulheres (16) e nos níveis sanguíneos dos lípidos. Promovem a digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose e reduzem o risco de cancro. (9, 11, 15) Também adquirem um papel importante na modulação e percepção da dor. Algumas estirpes de *Lactobacillus* parecem induzir a expressão de recetores de micro-opioides e canabinóides em células epiteliais intestinais e de mediar funções analgésicas no intestino de uma forma similar aos efeitos da morfina. (13)

1.2.2. Prebióticos

Gibson & Roberfroid, em 1953, introduziram o termo prebióticos como sendo um conjunto de ingredientes alimentares não digeridos no intestino delgado, que ao atingirem o cólon são metabolizados seletivamente por um número limitado de bactérias denominadas benéficas. Estas alteram a microbiota bacteriana saudável, auxiliando o seu crescimento e metabolismo, através da competição pelo alimento, favorecendo a proliferação destas bactérias, principalmente os lactobacilos e as bifidobactérias. (6, 8)

1.2.2.1. Prebióticos - Classificação e Propriedades

Os prebióticos são constituídos essencialmente por carboidratos de tamanhos diferentes, desde compostos monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos até grandes polissacarídeos. (tabela 4)

Tabela 4. Carboidratos utilizados na dieta. Adaptado de: (17)

Monosaccharides
- Glucose, Fructose, Galactose, Mannose
Disaccharides
- Sucrose, Lactose, Maltose
Oligosaccharides (3-10 glucose units)
- α -Galactosides: raffinose, stachyose, verbascose
- Nondigestible oligosaccharides
(soluble)
Fructo-oligosaccharides, Oligofructose
Isomalto-oligosaccharides (Gluco-oligosaccharides)
Galacto-oligosaccharides
Lactulose
Polysaccharides (> 10 glucose units)
- Starch: amylose, amylopectin, Modified starches
- Non-starch polysaccharides (NSP)
(soluble or insoluble)
cellulose, hemicellulose, gums, pectins
β -glucans, fructans, mucilages

Os prebióticos são classificados como solúveis, insolúveis ou mistos, podendo ser fermentáveis ou não. As fibras de maior importância utilizadas como prebióticos são a inulina e os FOS. (tabela 5) Ambos são denominados frutanos, fibras insolúveis e fermentáveis, não degradadas pela enzima alfa-amilase e por outras enzimas hidrolíticas, como a sacarase, a maltase e a isomaltase. (18)

Tabela 5. Principais oligossacarídeos com ação prebiótica. Adaptado de: (17)

Oligosaccharides	Structure	Linkages	Process	Origin
Xylo-oligosaccharides	(Glu) _n	β -1,4	Hydrolysis	Cereals
Lactulose	Gal-Fru	β -1,4	Isomerisation	lactose
Isomalto-oligosaccharides	(Glu) _n	α -1,6	Hydrolysis	Algae
Gluco-oligosaccharides	(Glu) _n	α -1,2 and α -1,6	Synthesis	Sucrose
Galacto-oligosaccharides	(Gal) _n -Glu	β -1,4 and β -1,6	Synthesis	Lactose
Fructo-oligosaccharides	(Fru) _n -Glu	(β -2,1)- α -1,2	Synthesis	Sucrose
Oligofructose	(Fru) _n -(Fru) _n -Glu	(β -2,1)	Hydrolysis	Inulin

A cebola, a chicória, alho, alcachofra, cereais, aspargos, raízes de almeirão, beterraba, banana, trigo e tomate são alguns exemplos de alimentos prebióticos. A inclusão de prebióticos na dieta transporta benefícios para a saúde, principalmente os relacionados com o

seu efeito bifidogênico. (4) Gibson realizou estudos com culturas mistas que ao utilizar um meio ambiente parecido com o intestinal, observou que o crescimento de bifidobactérias é estimulado pelo uso de FOS. (18) A inulina também é frequentemente metabolizada por bactérias anaeróbias (bifidobactérias).

A intensidade dos efeitos está relacionada com o grau de fermentação dos carboidratos pela microbiota intestinal e pode depender da dose ingerida dentro de determinada faixa. Quantidades excessivas de prebióticos podem provocar diarreia, flatulência, cólicas, desconforto e distensão abdominal, estados estes reversíveis com a interrupção do alimento. No entanto, a dose de intolerância é bastante alta, permitindo uma faixa de dose terapêutica bastante ampla. A recomendação dietética para um efeito benéfico dos prebióticos é de 18-20 g/dia. (4)

Testes padrões de toxicidade, conduzidos com frutanos do tipo inulina em doses bastante superiores às recomendadas, não detetaram evidências de toxicidade, carcinogenicidade ou genotoxicidade. (4)

Para que um alimento seja considerado prebiótico deve cumprir alguns requisitos, ser de origem vegetal, fazer parte de um conjunto heterogêneo de moléculas, não ser digerido por enzimas digestivas, nem absorvido na porção superior do trato GI, ser seletivamente fermentado por uma colônia de bactérias potencialmente benéficas ao cólon e ser osmoticamente ativo. (11)

1.2.2.1.1 Inulina e Fruto-Oligossacarídeos

A inulina foi descoberta por Rose em 1804 (6), as suas propriedades de resistência à digestão só foram descobertas no início do século XX. É um polímero extraído principalmente da raiz da chicória. Os FOS, além de serem obtidos através da hidrólise da inulina, também ocorrem naturalmente nalguns produtos vegetais e industrialmente são produzidos a partir da sacarose por ação da enzima frutossiltransferase, obtida do fungo *Aspergillus Niger*.

1.2.2.1.2 Prebiótico - Principal fonte natural o leite materno

O leite materno é a principal fonte de nutrição dos recém-nascidos até que se tornem aptos a digerir os alimentos sólidos. É fundamental para a saúde das crianças nos seis primeiros meses de vida por ser um alimento completo, fornecendo, nutrientes em quantidade adequada (carboidratos, proteínas e gorduras), hidratação (água) e fatores de desenvolvimento e proteção. A quantidade e a qualidade dos nutrientes são adaptadas à maturação funcional do trato GI, bem como ao estado metabólico do bebê. Deste modo, são necessárias quantidades suficientes destes nutrientes.

A amamentação está associada a diversos benefícios, entre eles, o desenvolvimento equilibrado da resposta imune pós-natal. Há uma quantidade substancial de oligossacarídeos no leite humano com grandes variações na concentração e composição entre indivíduos e durante o curso da lactação.(19) Durante a amamentação, a composição da microbiota intestinal desenvolve-se dentro de um curto período de tempo e torna-se dominada por bifidobactérias. As bifidobactérias e os lactobacilos representam mais de 90% da microbiota intestinal já nos primeiros dias de vida. Esse efeito bifidogénico decorre da presença de substâncias simbióticas no leite da mãe. Isso é reforçado pelo facto de crianças alimentadas com fórmulas ausentes de pro e prebióticos desenvolverem uma microbiota de um tipo mais adulto. (20)

O leite animal pode ser escolhido como uma fonte aceitável e disponível para as moléculas com funções biológicas semelhantes às dos oligossacarídeos no leite humano. Embora, comparativamente ao leite humano (que contém 7-12g/L), a concentração de oligossacarídeos no leite de outros mamíferos é menor num fator de 10 para 100. (19)

1.2.2.2. Prebióticos - Benefícios para a saúde

A maioria dos efeitos dos prebióticos estão associados à otimização da função e metabolismo colónico. O aumento da expressão e da modificação na composição dos ácidos gordos de cadeia curta, o aumento na quantidade fecal, a redução do pH do cólon, a redução dos produtos nitrogenados e enzimas, o aumento da expressão de proteínas de ligação ou de alguns biomarcadores do metabolismo mineral e lipídico e a modulação do sistema imune constituem alguns efeitos benéficos na utilização destas substâncias. (11)

1.2.3. Simbióticos

Os simbióticos contêm, simultaneamente, microrganismos probióticos e alimentos prebióticos, resultando em produtos com características funcionais de ambos os grupos, que em sinergia vão melhorar a saúde do consumidor.

A colonização dos probióticos exógenos combinados com os prebióticos pode aumentar a ação dos primeiros no trato GI. Em virtude dos efeitos benéficos produzidos por esta associação, tem havido um considerável interesse, tanto por parte de indústrias como por investigadores, em desenvolver produtos alimentares que contenham estes microrganismos e alimentos funcionais.

As possíveis indicações dos simbióticos em situações clínicas, nas quais existem indícios da sua eficácia são: diarreia viral aguda, diarreia dos viajantes, infeções e complicações gástricas, tratamento da *H. pylori*, encefalopatia hepática, diarreia em pacientes portadores da síndrome de imunodeficiência adquirida, SII, diarreia em pacientes em nutrição enteral por

sonda nasogástrica, radioterapia envolvendo a pelve, DII, carcinogênese, alergias, síndrome de resposta inflamatória sistêmica, obstipação, melhoria da saúde urogenital das mulheres, redução do colesterol e triglicérides plasmáticos e efeitos benéficos no metabolismo mineral, particularmente densidade e estabilidade óssea. (15, 21, 22)

Shinotsuka et al. num estudo realizado em pacientes submetidos a ventilação mecânica, encontraram dados que apoiam uma tendência na redução bacteriana no estômago e na proporção de não fermentadores na secreção traqueal dos pacientes que usaram simbióticos. Noutro estudo, com pacientes portadores de cancro do cólon e polipectomizados, Rafter et al. mostraram que os simbióticos alteram a microbiota fecal, aumentando as bifidobactérias e os *Lactobacillus* e reduzindo o *Clostridium perfringens* com a utilização dos simbióticos. Esta intervenção também conseguiu diminuir expressivamente a proliferação das células cancerígenas, a capacidade de necrose e aumentou a produção de interferão gama nos pacientes com neoplasia. Além de promover uma barreira epitelial e prevenir a secreção de IL-2 nos pacientes polipectomizados. (4)

Secção 1.3. *Helicobacter pylori*

1.3.1. Enquadramento teórico

No início de 1980, Barry Marshall e Robin Warren relataram o isolamento bem sucedido de uma espécie bacteriana em espiral a partir do estômago humano, cuja presença estava intimamente associada à inflamação da mucosa. Esta descoberta revolucionou a compreensão de doenças do trato GI superior e provocou uma revolução no tratamento da úlcera péptica e da gastrite. (3)

A bactéria anteriormente denominada de *Campylobacter pyloridis* e mais tarde *H. pylori* é uma bactéria gram-negativa gástrica pertencente ao Reino ProKaryotae, Filo Bacteria (Eubacteria), Classe Proteobacteria, Subdivisão delta e epsilon, Subclasse Epsilonproteobacteria, Ordem Campylobacterales e Família Helicobacteriaceae, Género *Helicobacter* e Espécie *pylori*. (23) Atualmente, o género *H. pylori* é composto por muitas espécies gástricas, que têm sido detetadas em diferentes animais, tais como gatos, cães, porcos e primatas, embora o potencial zoonótico desta espécie é, ainda, pouco claro.

Todas estas bactérias são microaerofílicas, flageladas, em espiral e urease positivas, permitindo a colonização do ambiente agressivo do estômago. (24) O resultado clínico da infeção é determinado pela complexa interação entre fatores do hospedeiro e da bactéria. Assim, torna-se evidente que existem múltiplos fatores de virulência, associados aos mecanismos de patogenicidade, que contribuem com três principais efeitos: a inflamação da mucosa gástrica, a penetração na barreira da mucosa gástrica e a alteração fisiológica gástrica.

A *H. pylori* é o principal patógeno humano, afetando mais de 50% da população mundial. A infecção por *H. pylori* apresenta uma distribuição mundial e a sua prevalência difere entre países e entre grupos de populações. A taxa de infecção tem vindo a diminuir nos países desenvolvidos, sendo de 40% na Europa Ocidental, embora tenha uma prevalência maior que 90% nalguns países subdesenvolvidos. (2)

De acordo com Parkin et al., na Península Ibérica, a prevalência de indivíduos assintomáticos afetados por *H. pylori* varia entre os 55-64%. (3) Em Portugal, uma pesquisa feita por Santos et al. (2010), numa população dispéptica no Algarve, estimou uma prevalência da infecção por *H. pylori* de 44,9%. Outro estudo realizado nos Açores em 2011, verificou uma incidência global de 30,1% e a prevalência global de 53,1%, sendo a incidência mais frequente nas crianças. (25) Os fatores intrínsecos como a idade, género, etnia, assim como fatores ambientais e contextuais, são de risco para a aquisição da infecção por *H. pylori*. (26) A transmissão da bactéria ainda não é muito clara, contudo sabe-se que o ser humano é o seu principal reservatório natural, sendo que as vias mais comuns de transmissão são a oral-oral (regurgitação do suco gástrico, podendo contaminar a boca), fecal-oral (eliminação de *H. pylori* nas fezes, suspeitando-se da sua disseminação na água como potencial fonte de contaminação) e de humano para humano (devido às altas taxas de prevalência em indivíduos que vivem em aglomerados familiares). Outros estudos têm vindo a sugerir alguns animais domésticos como possível via de transmissão da *H.pylori*. (27)

1.3.2. Erradicação *Helicobacter pylori*

1.3.2.1. Enquadramento clínico

Atualmente, a *H. pylori* é considerada o principal agente etiológico da gastrite, bem como fator essencial na patogenia da úlcera péptica. Em 1994, a OMS juntamente com a agência internacional de pesquisa do cancro (IARC - International Agency for research on Cancer), consideraram que a *H. pylori* desempenha um papel causal na cadeia de eventos que conduzem ao desenvolvimento de adenocarcinoma gástrico, classificando-o como um agente carcinogénico humano pertencente ao grupo 1. (3)

A infecção por *H. pylori* é considerada a principal causa de gastrite crónica (GC), úlcera gástrica (UG), carcinoma gástrico (CG) e linfoma de MALT (LM). Esta bactéria instala-se especificamente nas microvilosidades gástricas, localizadas acima das células epiteliais do estômago, preferindo a região do antro. (2)

1.3.2.1.1. Gastrite

A gastrite pode ser encontrada na forma aguda e na forma crônica, podendo ser assintomática ou ocorrer episódios de dor e até mesmo de indigestão, estando correlacionada com o risco de ocorrência de transformações cancerígenas malignas. Estudos sugerem que a fase aguda da infecção é de curta duração e está associada a um quadro histopatológico de infiltrados de neutrófilos polimorfonucleares e um exsudado aderente à superfície epitelial gástrica. O infiltrado inflamatório agudo dá lugar à gastrite crônica (GC), de leve a elevada intensidade e a manutenção da inflamação durante anos pode levar à progressão da GC superficial do antro até às porções mais proximais do estômago (corpo e fundo). (28)

Pesquisas sugerem que a infecção bacteriana da mucosa gástrica é a causadora da maioria das gastrites e outras pesquisas apontam que 95% dos casos de GC têm como agente etiológico *H. pylori*. Um exemplo recentemente estudado pelos investigadores Yoon et al, na Coreia do Sul, é a Gastrite “Russel body”. (29) Este tipo especial de gastrite é considerada uma doença crônica rara que se inicia com o surgir de um infiltrado de células plasmáticas, mais propriamente de eosinófilos que contêm inclusões citoplasmáticas - os “Russel bodies”. Existem vários casos descritos que associam esta patologia à infecção por *H. pylori*, pelo que se verifica, quase sempre, que as lesões na mucosa gástrica desaparecem após erradicação da mesma. (Figura 2)

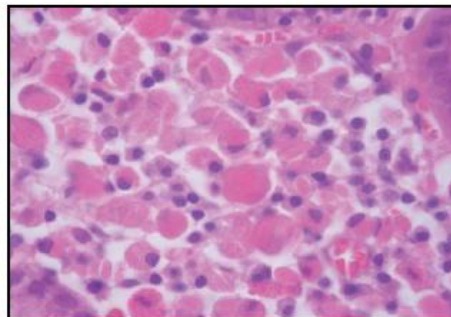


Figura 2. Infiltrado de eosinófilos com inclusões “Russel bodies”, em biópsia gástrica. Adaptado de: (29)

1.3.2.1.2. Úlcera Gástrica

A úlcera gástrica (UG) geralmente predomina na pequena curvatura do antro, próximo da incisura angular, numa região adjacente à mucosa secretora de ácido. Macroscopicamente, pode-se observar uma lesão na mucosa gástrica ou mesmo na membrana da mucosa intestinal (duodeno). Esta patologia afeta 5 a 10% da população e resulta da produção excessiva de gastrina, a qual estimula a produção de suco gástrico, estando também relacionada com a deficiência dos fatores defensivos da mucosa, não sendo capazes de proteger o epitélio contra os efeitos corrosivos do ácido e da pepsina. Após a constatação de que a erradicação de *H. pylori* leva à cicatrização da UG, estabeleceu-se (em 1987) que todos os pacientes com

doença ulcerativa relacionada com esta bactéria deveriam receber tratamento específico contra este agente causal. (30)

1.3.2.1.3. Carcinoma gástrico e Linfoma MALT

O carcinoma gástrico (CG) é considerado a segunda causa principal de mortes por cancro no mundo, com incidência de 800.000 casos por ano. (31)

Estudos conduzidos em parentes de primeiro grau de pacientes com CG têm destacado uma associação positiva entre a história familiar e o risco para o desenvolvimento de cancro, apresentando um risco de dezasseis vezes superior. Diferenças na expressão de produtos bacterianos específicos, com diferentes respostas do hospedeiro ou com diferentes interações entre a bactéria e o hospedeiro, podem constituir fatores responsáveis. (31)

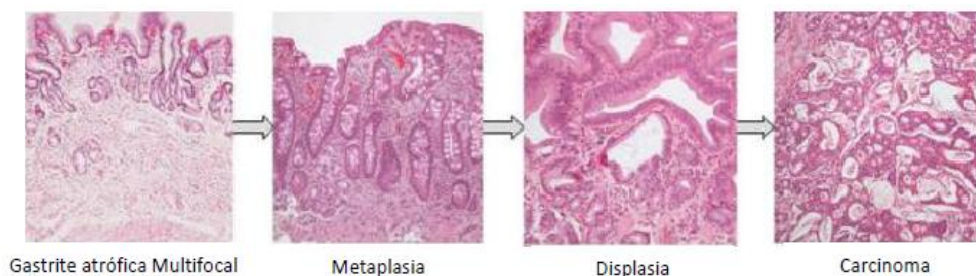


Figura 3. Alterações neoplásicas que ocorrem na mucosa gástrica, promovendo o desenvolvimento de carcinoma gástrico. Adaptado de: (32)

O linfoma de MALT (LM) também pode estar relacionado com a infecção por *H. pylori*. Em condições patológicas, o estômago não possui tecido linfóide, ocorrendo um infiltrado MALT adquirido, dando origem ao linfoma do tecido linfóide associado à mucosa gástrica. Assim, verifica-se que uma terapia de erradicação, aplicada especificamente para eliminação de *H. pylori*, pode promover a remissão do LM entre 60 a 80% dos casos. (25)

1.3.3. Diagnóstico Laboratorial de *Helicobacter pylori*

Para a deteção laboratorial de *H. pylori* existem diferentes métodos e técnicas de diagnóstico, mas nenhum se mostrou suficientemente eficaz para ser aceite como “gold standard”. (33, 34) (35)

No entanto, vários investigadores têm vindo a desenvolver novas técnicas de diagnóstico da infecção de modo a encontrar o método mais eficaz para a sua deteção. (34)

Tabela 6. Comparação da sensibilidade, especificidade e custos entre métodos invasivos e métodos não invasivos. Adaptado de: (35)

Método	Técnica	Sensibilidade	Especificidade
Invasivo	Histológica	88-95%	90-95%
	Cultural	80-90%	95-100%
	Teste urease	90-95%	90-95%
Não Invasivo	Teste sorológico	80-95%	80-95%
	Pesquisa antigénio fecal	90-95%	90-95%
	Teste respiratório ¹³ C-urea	90-95%	90-95%

1.3.3.1. Métodos invasivos

Através dos métodos invasivos a *H. pylori* pode ser detetada por endoscopia gástrica para posterior estudo histológico, estudo cultural ou para o teste rápido da urease. Contudo, este método pode originar erros de amostragem dado que 14% dos pacientes infetados com *H. pylori* não apresenta infeção antral, mas podem ser portadores desta bactéria, particularmente se tiverem atrofia gástrica, metaplasia intestinal ou refluxo. (34) Para além disso, estes métodos não conseguem detetar níveis baixos de *H. pylori* após tratamento, subvalorizando assim a certeza da eficácia do tratamento de erradicação ou de uma posterior reinfeção. (36)

1.3.3.1.1. Teste rápido da urease (RUT)

Este teste baseia-se na presença da enzima urease, produzida pela *H. pylori*, que na presença de ureia a transforma em amónia. Colocam-se fragmentos de biópsia da mucosa gástrica na tira teste, que contém ureia e um pH indicador. A urease cliva a ureia libertando amónia, que é alcalina e altera a cor do indicador. (36)

1.3.3.1.2. Exame de Cultura

O isolamento da *H. pylori* nem sempre é bem-sucedido, uma vez que é uma bactéria exigente e necessita de meios de cultura complexos. Sendo uma bactéria microaerofílica, exige baixas concentrações de oxigénio e dióxido de carbono, com uma temperatura ótima de 37°C e pH neutro, para o seu crescimento, apesar do seu crescimento no ácido do estômago. Não existe um meio de cultura ótimo para o crescimento da bactéria, mas necessita de meios enriquecidos com sangue ou plasma.

Esta técnica, para além do diagnóstico, permite determinar a sensibilidade da *H. pylori* aos antibióticos, no caso de resistência terapêutica. Atualmente, tem uso limitado pelo seu elevado custo e longo tempo de crescimento na solução. (36)

1.3.3.1.3.Exame Histológico

As amostras obtidas através de biópsia histológica são fixadas em formol e coradas pela Hematoxilina e Eosina ou pelos corantes de Gimenez, Giemsa ou Warthin-Starry. Apesar de ser de custo elevado apresenta vantagens, uma vez que permite acrescentar informações histopatológicas, possibilitando avaliar a presença de alterações pré-malignas. (36) (37)

1.3.3.1.4.PCR (Reação de Amplificação de Polimerase)

É realizado a partir de amostras de biópsias gástrica, que permite obter a sequência do ADN da bactéria, as mutações e identificar outras estirpes de *H. pylori*. É um método de alto custo e que apresenta elevada sensibilidade e especificidade. Atualmente, a sua utilização é mais indicada para investigação científica. (37)

1.3.3.2. Métodos não invasivos

Recentemente, a entidade “European Helicobacter Pylori Study Group” advertiu para o facto do diagnóstico de *H. pylori* ocorrer, geralmente, em vários níveis práticos laboratoriais. Assim, o diagnóstico não invasivo conquistou um importante lugar na prática clínica. Este tipo de testes ajudam a clarificar a deteção da bactéria principalmente em casos onde existam dúvidas quanto à sua presença. Contudo, por si só podem não diagnosticar de imediato uma infeção ou monitorizar a erradicação. (36)

1.3.3.2.1.Testes sorológicos

Os testes sorológicos têm apresentado uma elevada comercialização devido à sua facilidade de manuseamento, ao baixo custo e à elevada reprodutibilidade, sensibilidade e especificidade, utilizando como produto de estudo o soro humano. (38) Estes testes identificam anticorpos específicos para a *H. pylori*; contudo, requerem validação e padronização local antes de serem postos em prática. (34)

Uma das vantagens dos testes sorológicos é o facto de poderem ser aplicados em pacientes que estejam a tomar medicamentos como inibidores da bomba de protões (IBPs) ou antibióticos; contudo, não são tão bem sucedidos na avaliação da terapia de erradicação da *H. pylori*. (34)

Atualmente, investigadores e laboratórios clínicos podem ter à sua disposição alguns métodos desta natureza como a fixação do complemento, aglutinação, hemaglutinação e Imunoblot; no entanto, o método imunoenzimático (ELISA) tem sido o mais utilizado por apresentar resultados satisfatórios quanto à sensibilidade e especificidade da técnica. Assim, o método ELISA deteta a presença de 3 classes de imunoglobulinas: IgM, IgA e IgG. Este estudo não deve

ser baseado individualmente na detecção só de uma destas imunoglobulinas, mas sim no seu todo. É necessário ter em conta que a IgM aparece logo no início da aquisição da infeção, quando o indivíduo ainda não apresenta sintomas. Os títulos de IgG indicam a permanência da infeção crónica por *H. pylori* e contribuem para a taxa de prevalência desta bactéria, já os títulos de IgM e IgA contribuem para a taxa de incidência. (38)

Quando se compara a sensibilidade e especificidade entre os testes sorológicos e os métodos invasivos para detecção de *H. pylori*, verifica-se que os últimos apresentam uma menor taxa de resultados falsos positivos. Por outro lado, o estudo por métodos invasivos pode apresentar resultados falsos negativos devido à distribuição não homogénea da bactéria no estômago. (36)

1.3.3.2.2. Teste respiratório ¹³C-ureia (UBT)

O teste respiratório ¹³C-ureia consiste num método não invasivo que deteta a presença de *H. pylori* baseando-se na atividade da urease. O teste inicia-se com a ingestão de uma solução de ureia ligada ao ¹³carbono, que será rapidamente hidrolisada pela enzima urease libertada pela bactéria. Por sua vez, o ¹³carbono poderá ser detetado no CO₂ que se encontra na circulação sanguínea e que será expirado pelos pulmões. (35) Frenck et al. (2006) demonstraram, num estudo em crianças Egípcias, que este teste é altamente específico e sensível, verificando-se uma precisão de diagnóstico superior ao método sorológico. Para além disso, este método é mais consistente na sensibilidade e especificidade dos resultados quando comparado com o teste de urease efetuado a partir de amostras de biópsias gástricas. Contudo, é dispendioso e requer a ingestão de ureia marcada isotopicamente, assim como um aparelho específico para detecção do ¹³carbono. (39)

1.3.3.2.3. Pesquisa de antígenos de *Helicobacter pylori* nas fezes (SAT)

Este teste baseia-se na utilização de anticorpos monoclonais (atualmente os mais utilizados) ou policlonais para detecção de antígenos da *H. pylori* nas fezes. Pode ser realizado de duas formas: através de testes laboratoriais com ELISA ou utilizando Rapid TPAg, uma técnica imunocromatográfica que permite o diagnóstico da infeção no momento. É um teste pouco dispendioso e apresenta especificidade e sensibilidade superiores a 90%. (3)

1.3.4. Indicação para erradicação da *Helicobacter Pylori*

Apesar da maioria dos pacientes infetados com *H. pylori* permanecerem assintomáticos, existem condições clínicas com indicações precisas para erradicar a bactéria. As indicações para erradicação baseiam-se em guidelines definidas pelo IV Consenso de Maastrichh (2) e *American College of Gastroenterology Guideline on the Management of Helicobacter pylori Infection*. (40)

1.3.4.1. Doença ulcerosa péptica - úlcera duodenal e gástrica

A doença ulcerosa péptica inclui a úlcera duodenal (UD) e UG. A *H. pylori* está presente em 30 a 60% dos pacientes com UG e em 50 a 70% com UD. (41)

Numa meta-análise de 24 estudos randomizados, concluiu-se que as taxas de remissão a 12 meses eram de 97% para a UG e de 98% para a UD em pacientes com *H. pylori* erradicados com sucesso, em comparação com pacientes não erradicados com taxas de 61% e de 65% para a UG e UD, respetivamente. (3) Existe uma clara relação entre a patogenia da úlcera péptica e a presença da infeção por *H. pylori* e, dessa forma, é consensual a sua erradicação nestes pacientes. (41)

1.3.4.2. Dispepsia Funcional

De acordo com o Consenso de Roma III, o diagnóstico de dispepsia funcional é clínico. Para o seu diagnóstico deve estar presente pelo menos um dos seguintes sintomas: plenitude pós-prandial, saciedade precoce, dor epigástrica ou pirose. Estes critérios devem estar presentes no mínimo por três meses, com o início dos sintomas pelo menos seis meses antes do diagnóstico.

O benefício da erradicação da *H. pylori* em pacientes dispépticos é controverso e não se sabe se a prevalência da infeção por *H. pylori* é superior em pacientes dispépticos em relação à população geral. Segundo American College of Gastroenterology Guideline, a erradicação da *H. pylori* em pacientes com dispepsia funcional deve ser individualizada tendo em conta os fatores de risco do individuo para doença ulcerosa péptica e neoplasia gástrica. (40)

De acordo com o IV Consenso de Maastricht, a erradicação da bactéria resulta em alívio a longo prazo dos sintomas dispépticos, 1 em cada 12 pacientes com *H. pylori* associado a dispepsia funcional. (2)

1.3.4.3. Doença de Refluxo gastroesofágico (DRGE)

Não existe evidência científica que demonstre que a infeção por *H. pylori* intervenha claramente na patogénese e história natural de DRGE. De acordo com o IV Consenso de Maastricht, a erradicação não exacerba a DRGE pré-existente ou afeta a eficácia do tratamento. A *H. pylori* não é responsável pela severidade dos sintomas, pela sua recorrência ou eficácia do tratamento da DRGE. (2)

1.3.4.4.AINES e AAS

A relação entre a *H. pylori* e o uso de AINES (anti-inflamatórios não esteroides) ou AAS (Ácido acetilsalicílico) é complexa e a sua etiologia na patogénese da doença ulcerosa péptica permanece controversa. O uso destes medicamentos e a presença de *H. pylori* são fatores de risco independentes para o desenvolvimento de doença ulcerosa péptica. No entanto, aceita-se que possam ter um efeito sinérgico no desenvolvimento da úlcera péptica e/ou nas suas complicações.

O IV Consenso de Maastricht evidencia que a infeção por *H. pylori* está associada a um aumento do risco de úlceras gastroduodenais complicadas ou não complicadas em pacientes que utilizam AINES ou AAS em baixa dose, sendo que a erradicação diminui esse risco. Recomendam a erradicação da bactéria, antes do tratamento com AINES, em pacientes com história de úlcera péptica, que deve ser seguida de terapêutica com um IBP.

1.3.4.5.Carcinoma gástrico

A *H. pylori* é considerada um carcinogéneo do grupo 1, assim sendo, pode-se afirmar que existe uma associação causal entre a bactéria e a neoplasia gástrica. Desta forma, a erradicação deve ser aconselhada aos pacientes com parentes de primeiro grau com história de cancro gástrico; com história de neoplasia gástrica tratados por EDA (Endoscopia Digestiva Alta) ou ressecção gástrica subtotal; com pangastrite severa, gastrite do corpo ou atrofia gástrica severa; com inibição da secreção ácida gástrica de evolução superior a um ano; com fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasia gástrica e de forma preventiva em populações com elevada prevalência da bactéria. (2)

1.3.4.6.Linfoma MALT

É consensual que a erradicação da *H. pylori* é o tratamento de 1ª linha no Linfoma MALT de baixo grau (estádio I/II). Entre 60 a 80% dos pacientes com Linfoma MALT de baixo grau atingem a remissão completa após a erradicação da *H. pylori*. (2)

1.3.4.7.Anemia por deficiência de ferro inexplicada

Existe uma relação causal entre a infeção por *H. pylori* e a anemia por deficiência de ferro inexplicada. Evidências científicas mostraram que a erradicação da bactéria aumentam os níveis de hemoglobina no sangue. (2)

1.3.4.8.IBP

O uso prolongado de IBP's pode causar uma gastrite atrófica. A erradicação da *H. pylori* pode impedir a progressão da gastrite. Nesses casos está recomendada a erradicação da bactéria. (2)

1.4.Tratamento “Standard”

O objetivo do tratamento da *H. pylori* é a erradicação da bactéria; no entanto, a recorrência da infecção é comum. A resistência aos antibióticos, o difícil acesso ao habitat da bactéria, a baixa adesão do paciente à terapêutica e os estilos de vida, como os hábitos tabágicos são exemplos de fatores que influenciam a sua erradicação.

A monoterapia não é eficaz na terapêutica anti-*H. pylori* e pode levar ao aparecimento de resistência aos antibióticos. Diferentes regimes terapêuticos são atualmente aceites para o tratamento da infecção. Os esquemas de tratamento mais utilizados são a terapia tripla ou quádrupla de acordo com o número de fármacos que se utilize. Estes regimes terapêuticos podem ser aplicados sequencialmente ou concomitantemente.

A resistência da bactéria aos antibióticos tem vindo a aumentar ao longo dos anos pelo uso crescente dos antibióticos em todo o mundo. Apesar da Claritromicina ser o antibiótico mais utilizado, novos esquemas e fármacos têm surgido e têm-se revelado promissores, uma vez que as resistências a este antibiótico são cada vez maiores em determinadas populações. O desenvolvimento de vacinas eficazes contra a *H. pylori*, a inativação fotodinâmica da bactéria, a utilização de outras bactérias ou os seus derivados (probióticos, prebióticos e simbióticos) são exemplos de alternativas terapêuticas que prometem erradicar a *H. pylori* de forma mais eficaz. (24) Na tabela 7 e 8 estão indicadas as principais linhas de tratamento.

Tabela 7. Áreas com baixa taxa de resistência à Claritromicina. Adaptada de: (3)

Tratamento	Duração	Regime	Comentários
1ª linha			
Terapia Tripla Standard	7 - 14 dias	IBP dose standard b.i.d. + Claritromicina 500 mg b.i.d. + Amoxicilina 1000 mg b.i.d. ou Metronidazol 500 mg b.i.d.	Preferível utilizar a terapia tripla como primeira linha, pois se esta falhar, pode-se utilizar a terapia quádrupla como segunda linha.
Terapia Quádrupla com Bismuto	10 - 14 dias	IBP dose standard b.i.d. + Bismuto 120 mg q.i.d. + Metronidazole 500 mg b.i.d. + Tetraciclina 500 mg q.i.d.	
2ª linha			
Terapia Quádrupla com Bismuto	10-14 dias	IBP dose standard b.i.d. + Bismuto 120 mg q.i.d. + Metronidazole 500 mg b.i.d. + Tetraciclina 500 mg q.i.d.	
Terapia Tripla com Levofloxacina	10 dias	IBP dose standard b.i.d. + Levofloxacina 500 mg q.d. + Amoxicilina 1000 mg b.i.d.	
3ª linha			
			A escolha do antibiótico deve ser realizada com base no teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA).

Tabela 8. Áreas com alta taxa de resistência à Claritromicina. Adaptada de:(3)

Tratamento	Duração	Regime	Comentários
1ª linha			
Terapia Quádrupla com Bismuto	10 -14 dias	IBP dose standard b.i.d. + Bismuto dose standard q.i.d. + Metronidazole 500 mg b.i.d. + Tetraciclina 500 mg q.i.d.	
Terapia Concomitante	7 - 10 dias	IBP dose standard b.i.d. + Claritromicina 500 mg b.i.d. + Metronidazole 500 mg b.i.d. + Amoxicilina 1000 mg b.i.d.	Apenas se o bismuto não estiver disponível.
Terapia Sequencial	10 dias	1ª fase - 5 dias: IBP dose standard b.i.d. + Amoxicilina 1000 mg b.i.d. 2ª fase - 5 dias: IBP dose standard b.i.d. + Claritromicina 500 mg b.i.d. + Metronidazole 500mg b.i.d.	Apenas se o bismuto não estiver disponível.
2ª linha			
Terapia Tripla com Levofloxacina	10 dias	IBP dose standard b.i.d. + Levofloxacina 500 mg q.d. + Amoxicilina 1000 mg b.i.d.	
3ª linha			
			A escolha do antibiótico deve ser realizada com base no teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA).

Secção 1.4. Objetivos

Esta dissertação pretende uma revisão da literatura científica, dos últimos 10 anos, com o objetivo de identificar os benefícios da utilização dos probióticos, prebióticos e simbióticos na erradicação da *H. pylori*.

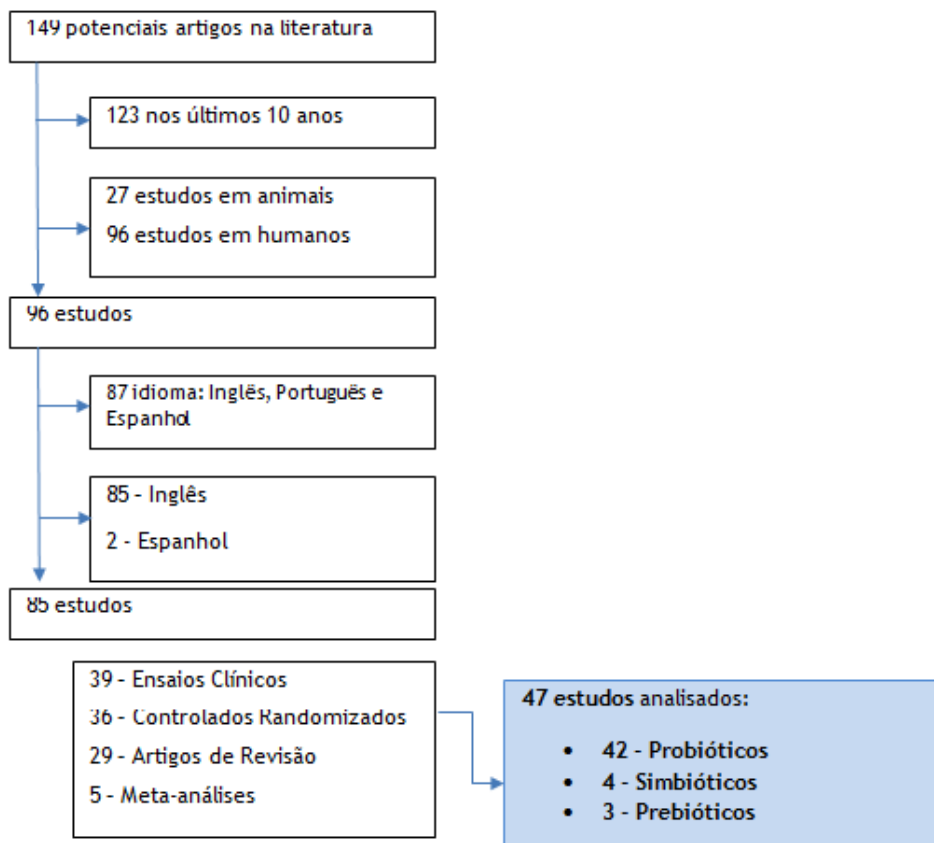
A resistência aos antibióticos e os efeitos adversos que estes produzem constituem as principais falhas no tratamento destes doentes. Desta forma, pretendemos, sobretudo, com esta revisão, avaliar o aumento da eficácia e adesão terapêutica com o recurso a alternativas adjuvantes.

Capítulo 2. Metodologia

Secção 2.1. Seleção do Material

Para uma revisão sistemática do tema, baseamo-nos numa pesquisa de publicações e artigos na base eletrónica científica, Pubmed com a utilização dos seguintes descritores no título: probiotics, *lactobacillus*, *bifidobacterium*, *lactococcus*, *saccharomyces*, *streptococcus*, *enterococcus*, prebiotics, synbiotics, *helicobacter pylori*, eradication, durante o período de 2004 a dezembro de 2013. Foi realizada uma pesquisa abrangente das listas de referência de todos os artigos de revisão e estudos originais recuperados por este método.

Tabela 9. Desenho do estudo



Secção 2.2. Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão utilizados:

- i. Ensaio clínico científico ou estudos controlados randomizados;
- ii. A população dos estudos tem como alvo indivíduos em todas as faixas etárias, *H. pylori* positivos, sintomáticos ou assintomáticos;
- iii. Confirmação da erradicação da *H. pylori* por RTU, BTU, ELISA ou histopatologia;
- iv. Estudos que incluem 3 formas de tratamento:
 - a. Pacientes do grupo controlo recebem terapêutica tripla/sequencial com IBP, mais 2 antibióticos com ou sem placebo; ou/e
 - b. Pacientes do grupo controlo recebem terapêutica quadrupla com IBP, mais 2 antibióticos com ou sem placebo; e
 - c. Pacientes do grupo experimental que recebem probióticos, prebióticos, ou simbióticos concomitantemente com o mesmo regime de erradicação que os controlo.
- v. Artigos publicados em Espanhol, Inglês e Português.

Os critérios de exclusão utilizados:

- i. Artigos escritos noutras idiomas, exceto Espanhol, Inglês e Português;
- ii. Indisponibilidade do texto em formato integral;
- iii. Estudos que relacionaram, apenas, os efeitos adversos da terapêutica de erradicação do *H. pylori* com os pro, pre e simbióticos;
- iv. Estudos em doentes negativos para a *H. pylori*;
- v. Estudos que relacionavam outras terapias de erradicação sem relacionar a utilização dos adjuvantes que nos propusemos a estudar.

Secção 2.3. Programa utilizado para processamento dos dados

Criou-se uma base de dados no software “Microsoft Excel”, onde inserimos as informações de todos os estudos incluídos neste trabalho. Os estudos foram ordenados em função do probiótico, prebiótico ou simbiótico, utilizando diferentes variáveis: o nome e ano do estudo; a população e o número da amostra; regime de erradicação e a duração do tratamento; o pro, pre e simbiótico utilizados, bem como a dose e a duração do tratamento; o Exame Complementar de Diagnóstico (ECD) utilizado para confirmar a erradicação, bem como o tempo que decorreu até ao exame ser realizado; e as conclusões relativas à eficácia/eficiência e à significância estatística do estudo, quanto à erradicação e aos efeitos adversos do tratamento.

Capítulo 3. Resultados

Tabela 10. Resultados

Estudo	Faixa etária	Tipo Pacientes	Grupos Controlou/Experimental	Regime de Eradicação	Duração Tx Eradicação (dias)	Probiótico	Prebiótico	Dose e Duração do Tx Pro/Pre e Simbiótico	E.C.D.	Follow up (semanas)	Erradicação da <i>H. pylori</i>	Efeitos adversos	Conclusões
Cindroruk et al. 2007 (8, 42, 43)	adultos	<i>H. pylori</i> - sintomáticos	62/62	Tx. tripla ^a	14	<i>S. Boulardii</i>	-	1000 mg ou - 20 x 10 ⁹ CFU (em 2 doses, 2 semanas)	Histolo gia + UBT	6	NS	<	Diminuição de alguns efeitos adversos, como diarreia e desconforto epigástrico, consequentemente melhor tolerabilidade ao tratamento. No entanto, não se obteve efeitos significativos nas taxas de erradicação.
Cremonini et al. 2002 (43)	adultos	<i>H. pylori</i> - sintomáticos	20/21	Tx. tripla ^b	7	<i>S. Boulardii</i>	-	500 mg ou - 10 x 10 ⁹ CFU (em 2 doses, 2 semanas)	UBT	5 a 7	>	<	
Duman et al. 2005 (43-45)	adultos	<i>H. pylori</i> - sintomáticos	172/196	Tx. tripla ^a	14	<i>S. Boulardii</i>	-	1000 mg ou - 20 x 10 ⁹ CFU (em 2 doses, 2 semanas)	Histolo gia + UBT	2 a 4	NS	<	
Song et al. 2010 (43, 46)	adultos	<i>H. pylori</i> - sintomáticos	296/309	Tx. tripla ^a	7	<i>S. Boulardii</i>	-	750 mg ou - 22,5 x 10 ⁹ CFU (em 3 doses, 4 semanas)	Histolo gia + UBT	5 a 8	NS	<	Podem ser efetivo no aumento das taxas de erradicação da <i>H. pylori</i> por reduzir os efeitos adversos da terapêutica antibiótica, mas não se obteve significância estatística nas taxas de erradicação com estas doses.
Hurduec et al. 2009 (43, 47)	crianças	<i>H. pylori</i> - sintomáticos	42/48	Tx. tripla ^c	14	<i>S. Boulardii</i>	-	500 mg ou - 10 x 10 ⁹ CFU (em 2 doses, 4 semanas)	Histolo gia + RTU	4 a 6	NS	<	Aumenta as taxas de erradicação da <i>H. pylori</i> , mas não têm significância estatística. Quanto aos efeitos adversos há uma diminuição significativa.
Miki et al. 2007 (48)	adultos	<i>H. pylori</i> - assintomáticos	35/34	-	-	<i>B. bifidum</i>	-	200 mL (1 dose, 12 semanas)	UBT/Hi stopato logia/R TU	-	NS	<	
Park et al. 2007 (49)	adultos	<i>H. pylori</i> - assintomáticos	-	Tx tripla ^a	7	<i>B. subtilis</i> <i>S. faecium</i>	-	8 semanas	-	4	>	<	A adição dos probióticos à terapia tripla aumentou a taxa de erradicação da <i>H. pylori</i> e diminuiu os efeitos adversos com significância estatística.
Nista et al. 2004 (45, 50)	adultos	<i>H. pylori</i> - assintomáticos	52/54	Tx. tripla ^a	14	<i>Bacillus clausii</i>	-	2 x 10 ⁹ CFU (2 semanas)	UBT	6	NS	<	
Yasar et al. 2010 (51)	adultos	<i>H. pylori</i> - sintomáticos	38/38	Tx tripla ^a	14	<i>Bifidobacterium</i>	-	125 mL (2 semanas)	UBT	4	NS	<	A adição dos probióticos à terapia tripla diminuiu os efeitos adversos como estomatites e obstipação. No entanto, não aumentou de forma significativa a taxa de erradicação da

Park et al. 2001 (48)	adultos	<i>H. pylori</i> assintomáticos	19/21	-	-	<i>L. acidophilus</i>	-	100 mL (3 doses em 4 semanas)	UBT/Hi stopato logia/R	>			
Yoon et al. 2011(58)	adultos	<i>H. pylori</i> sintomáticos	186/151	14	Tx tripla ^s	<i>L. casei</i> <i>acidophilus</i> (>10 ⁸ CFU /mL) <i>B. logum</i> (>10 ⁸ CFU /mL) <i>S. termophilus</i> (>10 ⁸ CFU /mL)	-	150 mL (1 dose em 4 semanas)	UBT + RTU + Histologia	4	NS	NS	Não houve reduções significativas nos efeitos adversos nem aumentos significativos das taxas de erradicação com a utilização de probióticos.
Kim et al. 2008 (8, 59)	adultos	<i>H. pylori</i> sintomáticos	179/168	7	Tx tripla não específica	<i>L. acidophilus</i> <i>B. logum</i> <i>S. termophilus</i>	-	3 semanas	UBT	4	>	NS	A adição dos probióticos à terapia tripla não diminuiu os efeitos adversos. No entanto, aumentou a taxa de erradicação da <i>H. pylori</i> .
Sheu et al. 2006 (48, 60)	adultos	<i>H. pylori</i> sintomáticos	69/69		Tx. quadrupla ^d	<i>L. casei</i> <i>acidophilus</i> <i>B. lactis</i> <i>bulgaris</i> <i>S. termophilus</i>	-	200 mL (2 doses em 4 semanas)	UBT/Hi stopato logia/R TU		>	<	Um tratamento prévio de 4 semanas com probióticos diminuiu os níveis de <i>H. pylori</i> , consequentemente melhora a eficácia da terapia quadrupla na erradicação da bactéria. Aumento significativo na taxa de erradicação de 76,6 para 90,8%.
Ziemniak et al. 2006 (57, 61)	crianças	<i>H. pylori</i> sintomáticos	192/53	10	Tx. tripla ^a	<i>L. casei</i> <i>acidophilus</i> <i>L. rihammnosus</i>	-	2 capsulas (2 vezes por dia, em 3 semanas)	UBT	6	>		Existe um aumento significativo na erradicação da <i>H. pylori</i> quando se associam os probióticos.
Rodriguez et al. 2013 (62)	adultos	<i>H. pylori</i> sintomáticos	52/55	7	Tx. tripla ^e	<i>L. acidophilus</i> (1,25 x 10 ⁸ CFU) <i>L. rihammnosus</i> (1,25 x 10 ⁸ CFU) <i>B. bifidum</i>	-	60 capsulas em 4 semanas	UBT/Hi stopato logia/R TU	8	NS	NS	Não apresentou uma diferença estatisticamente significativa nem na erradicação da <i>H. pylori</i> nem nos efeitos adversos da terapia com antibióticos.

Du Y Q et al. 2012(63)	adultos	<i>H.pylori</i> sintomáticos	78/76/74	Tx. tripla ^a	7	<i>S. faecium</i> (1,25 x 10 ⁹ CFU) <i>L. acidophilus</i> (1,25 x 10 ⁹ CFU)	-	(3 x 10 ⁹ CFU) 2 semanas	UBT	4	>	NS	
Tursi et al. 2004(64)	adultos	<i>H.pylori</i> sintomáticos	32/34	Tx quadrupla ^d	10	<i>S. faecium</i> <i>B. subtilis</i> <i>L. casei</i>	-	750 mg, 16 x 10 ⁹ CFU (1 vez por dia, 4 semanas)	UBT	4	>	<	A adição do probiótico a uma terapia quadrupla reduz os efeitos adversos associados ao uso dos antibióticos e melhora, ainda de que de forma leve, a erradicação da <i>H.pylori</i> .
Giovanno et al. 2007 (57, 65)	-	<i>H.pylori</i>	30/30	Tx. tripla ^a	7	<i>L. casei</i>	-	DG-16 bilhões de células vivas	UBT	8	NS	-	
Sykora et al. 2005 (45, 48, 57, 66)	Crianças	<i>H.pylori</i> sintomáticos	47/39	Tx. tripla ^a	14	<i>L. casei</i>	-	(4 semanas) 100ml de leite fermentado contém 1010 CFU (2 semanas)	UBT + SAT	4	>	<	Confere uma melhora significativa nas taxas de erradicação da <i>H.pylori</i> .
Sahagún-Flores et al. 2007(57, 67)	NM	<i>H.pylori</i> sintomáticos	33/31	Tx. tripla ^a	7	<i>L. casei</i> (Shirota)	-		UBT	8	>	-	
Felley et al. 2001 (48)	Adultos	<i>H.pylori</i>	26/27	Clarithromicina		<i>L. johnsonii</i>	-	Leite fermentado 180 mL (2 vezes por dia, 3semanas)	UBT/Hi stopato logia/R TU		NS	NS	
Deguchi et al 2012 (68)	Adultos	<i>H.pylori</i> sintomáticos	114/115	Tx tripla ^a	7	<i>L. gasseri</i>	-	112g (2 vezes por dia, 4 semanas)	UBT + HpsA+E DA	8	>	<	As taxas de erradicação da <i>H.pylori</i> com a utilização do <i>L. gasseri</i> aumentaram de 69,3 para 82,6%, o que revela um aumento estatisticamente significativo. Conclusão: propõe que possa ser utilizado como adjuvante de 1 ^a linha.
Boonyaritchaikij et al 2009 (69)	Crianças	<i>H.pylori</i> assintomáticos	122/	-		<i>L. gasseri</i>	-	5 x 10 ⁹ CFU/g (1 vez por dia, 52 semanas)	HpsA	52			
Gottelard et al. 2008(70)	Crianças	<i>H.pylori</i> assintomáticos	295 - 4 grupos (controle, Probio,	-		<i>L. johnsonii</i>	<i>Cranberry juice</i>	200mL Cranberry juice + 80 mL La1 (1 vez	UBT	4	>	<	Houve um aumento significativo em relação à erradicação da <i>H.pylori</i> , quer os grupos que utilizaram os probióticos, quer os prebióticos em relação ao grupo de controle.

Author	Year	Age Group	Pathogen	Study Design	Duration	Intervention	Control	Outcome	Notes
Francavilla et al.	2008 (8, 75)	adultos	<i>H. pylori</i>	Triplicação + P (depois Tx.) 3) Tx sequencial + p (durante Tx) 4) Tx sequencial + P (depois Tx)	40/40	2x 10 ¹⁰ CFU (4 semanas)	UBT + HpSA + EDA	NS	Houve diminuição nas contagens de <i>H. pylori</i> e na inflamação da mucosa gástrica. No entanto, não se registou uma diferença significativa nas taxas de erradicação de <i>H. pylori</i> em relação ao tratamento sequencial.
Sheu et al.	2002 (45, 48, 76)	adultos	<i>H. pylori</i> sintomáticos	Tx. tripla ^a	80/80	200 mL iogurte 5 x 10 ¹⁰ CFU (2 vezes por dia, 5 semanas)	UBT	>	
Szajewska et al.	2009 (77)	crianças	<i>H. pylori</i>	Tx tripla ^a	32/34	Lactobacillus GG 1	UBT + RTU + Histologia	NS	Não houve diferença significativa na taxa de erradicação de <i>H. pylori</i> nem dos efeitos adversos associados.
Armuzzi et al.	2001 (45, 57, 78)	adultos	<i>H. pylori</i> assintomáticos	Tx. tripla ^b	30/30	Lactobacillus GG 2	UBT	NS	
Mylyluoma et al.	2005 (45, 79)	adultos	<i>H. pylori</i> assintomáticos	Tx. tripla ^a	24/23	200 mL iogurte 1 x 10 ¹⁰ CFU/mL (2 vezes por dia durante o tratamento de erradicação e 1 vez por dia 3 semanas precedentes)	UBT	NS	A utilização dos probióticos não diminuiu significativamente os efeitos adversos nem aumentou as taxas de erradicação de <i>H. pylori</i> de forma significativa.
Cremonini et al.	2002 (45, 57, 80)	adultos	<i>H. pylori</i> sintomáticos	Tx. tripla ^b	21/64	6 x 10 ⁹ CFU, 5 x 10 ⁹ CFU (1 vez por dia, 2 semanas)	UBT	>	
Bortoli et al.		adultos	<i>H. pylori</i>	Tx tripla ^a	96/101	Lactobacillus plantarum, Lactoferrin	UBT + RTU +	>	A adição dos simbióticos à terapia tripla favorece significativamente a erradicação da

2007(81)	H. Pylori, bem como a diminuição dos efeitos adversos dos antibióticos.		EDA										
Bekar et al. 2011(82)	adultos	<i>H. pylori</i> sintomáticos	36/46	Tx tripla ^a	14	<i>m</i> <i>L. casei</i> <i>B. infantis</i> <i>B. longum</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. acidophilus</i> <i>S. termophilus</i> <i>L. sporogens</i> Simbióticos (Kefir)	ina + Inulina	250 mL de Kefir (2 vezes por dia, 2 semanas)	UBT	6	>	<	Demonstrou uma diminuição significativa tanto nos efeitos adversos, como no aumento das taxas de erradicação da <i>H. pylori</i> .
Kim et al. 2008 (48, 59)	adultos	<i>H. pylori</i>	32/33	Tx. tripla ^a	7	yogurte (NM)	-	NM (1 vez por dia, 3 semanas)	UBT/Hi stopatologia/R TU	4	>	NS	A adição dos probióticos à terapia tripla não reduz os efeitos adversos associados aos antibióticos, mas por outro lado, aumenta significativamente a erradicação do <i>H. pylori</i>
Manfredi et al. 2012 (83)	adultos	<i>H. pylori</i>	76/78/73	Tx sequencial ^f	10	<i>Bi idobacterias + Lactobacillus</i>	Lactoferrina	5 x 10 ⁸ Probiótico + 200 mg de Lactoferrina (1 vez por semana, 10 dias)	SAT	8-10	>	<	Os Probióticos associados com a Terapia Sequencial de erradicação da <i>H. pylori</i> são uma ótima escolha comparados com o placebo, tornando-se necessário considerá-los como adjuvantes na terapia de primeira linha. *A utilização em simbiose com a Lactoferrina não demonstra efeitos tão significativos na adesão, uma vez que apresenta um custo elevado no tratamento sem grandes diferenças em relação aos Probióticos isoladamente.

a) IBP+Amoxicilina+Clarithromicina; b) IBP+Clarithromicina+Tinidazole; c) IBP (3 semanas)+ Claritromicina+Amoxicilina (7-10 dias); CFU- Colony-forming unit;

d) IBP+Amoxicilina+Metronidazole+Bismuto; e) IBP, Tetraciclina, Furazolidone; f) IBP+Amoxicilina 5 dias, IBP+Clarithromicina+Tinidazole 5 dias; g) IBP+Mexifloxacina+Amoxicilina; NM- Não mencionado; mg- miligramas, mL- mililitros; SAT- Stool Antigen Test; UBT- Urease Breath Test; RUT- Urease Test.

Capítulo 4. Discussão

A *H. pylori* é uma bactéria gram-negativa que coloniza a mucosa do estômago e é responsável por doenças gástricas clinicamente graves, como a úlcera péptica, linfoma MALT e carcinoma gástrico, que diminuem a qualidade de vida dos indivíduos. Genericamente, o tratamento da erradicação da *H. pylori* consiste na administração de uma terapêutica tripla composta por um IBP e dois antibióticos, Claritromicina e Amoxicilina ou Metronidazole, por um período de 7-14 dias, de acordo com as guidelines do “Maastrich Consensus in Europe and the American Gastroenterological Association in the United States”. (1, 2) A erradicação da *H. pylori* está dependente de múltiplos fatores, como a adesão do paciente ao tratamento, os efeitos adversos, a resistência, a concentração e a distribuição dos fármacos, as diferenças geográficas e as condições socioeconômicas.

A otimização da terapêutica continua a ser um desafio de todos. As taxas de cura decepcionantes e as doenças GI associadas a esta bactéria levam a investigações cada vez mais promissoras em terapias alternativas, tanto de forma isolada, como combinadas com terapêuticas convencionais. As Guidelines sugerem que uma taxa de sucesso aceitável para uma terapia específica contra a infecção por *H. pylori* deve estar acima dos 80% com base na intenção de tratar. (43, 57)

Dos quarenta e sete estudos analisados, quarenta e dois utilizaram probióticos, três prebióticos e quatro utilizaram probióticos e prebióticos em simbiose. Os probióticos utilizados foram os seguintes: *Lactobacillus GG*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaris*, *L. johnsonii*, *L. bifidum*, *L. reuterii*, *L. plantarum*, *L. longum*, *L. salivarius*, *L. sporogenes*, *L. gasseri*, *Bacillus clausii*, *Bifidobacterium longum*, *B. animals*, *B. lactis*, *B. thermophilus*, *B. subtilis*, *B. infantis*, *B. brevis*, *Saccharomyces boulardii*, *Clostridium butyrium*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*. Somente a inulina, um complexo de cranberry que a contém a 10% e a lactoferrina foram utilizadas como prebióticos.

Os Probióticos parecem ter um efeito antimicrobiano direto na competição com o *H. pylori*, na inibição da adesão e na produção de metabolitos e moléculas antimicrobianas. A implementação de probióticos e prebióticos com a terapia “standard” para erradicação da *H. pylori* também proporciona um melhor cumprimento dos doentes com a terapia, reduzindo a incidência de efeitos secundários associados aos antibióticos. Para corroborar estas afirmações, este trabalho apresenta resultados estatisticamente significativos no aumento da erradicação da *H. pylori* em 20 estudos que utilizaram probióticos, em 2 com simbióticos e somente um em prebióticos.

O mecanismo de ação do probiótico *S. boulardii* é desconhecido, mas pensa-se que os efeitos salutares da sua utilização se devam à redução dos efeitos secundários e consequentemente a

uma maior adesão ao tratamento. A interferência com as toxinas patogênicas, a preservação da fisiologia celular, a interferência com patógenos acessórios, a interação com a microbiota normal, a manutenção dos níveis de ácidos gordos de cadeia curta ou a estimulação da resposta imune constituem efeitos positivos dos probióticos.

Em 2010, Szajewska et al. demonstraram em cinco ensaios clínicos o benefício da adição do probiótico *S. boulardii* à terapêutica tripla na erradicação da *H. pylori*, verificando uma redução (53%) dos efeitos adversos provenientes da terapêutica convencional, nomeadamente, a diarreia associada aos antibióticos. Destes 5 estudos analisados por Szajewska et al. apenas três (42, 46, 80) demonstraram um aumento estatisticamente significativo (de 71 para 80%) na taxa de erradicação da *H. pylori* com a adição de *S. boulardii* à terapêutica tripla.

Numa meta-análise, com 14 ensaios clínicos randomizados, Tong et al. demonstraram uma redução similar de 57% na diarreia associada aos antibióticos, com a utilização adjuvante de espécies e doses diferentes de probióticos. Descreveram que apenas quatro estudos, três em adultos (14, 60, 80) e um (66) em crianças, provaram um aumento estatisticamente significativo com a utilização de diferentes probióticos (*Bacillus clausii*, *L. GG*, *L. acidophilus*, *SS. Boulardii*, *Bifidobactérias*, *L. casei*, *Clostridium butyricum*, *B. longum*, *S. faecium*, *B. animals*) na taxa de erradicação da *H. pylori*.

Como exemplo, Sheu et al. (60) utilizaram *Lactobacillus* e *Bifidobactérias* durante 5 semanas em vez de 2 semanas como a maioria dos outros, o que poderá ter influenciado os aumentos significativos na taxa de erradicação. Por outro lado, Goldman et al. (52) ao utilizar *B. animals* e *L. casei* durante 12 semanas em combinação com a mesma terapêutica tripla utilizada por Sheu et al., não demonstrou um aumento significativo na taxa de erradicação.

Alguns estudos sugeriram, então, que a dose e a espécie do probiótico poderão ser determinantes na eficácia terapêutica. (43)

Numa meta-análise, Zou et al. (57) verificaram, em quatro ensaios clínicos, que a taxa de erradicação aumentou de 77 para 82% no grupo de pacientes que utilizaram *Lactobacillus* como adjuvantes. Este probiótico demonstrou maior eficácia quando prescrito de forma combinada com a terapêutica antibiótica. Entre as subespécies de *Lactobacillus*, ainda se obteve uma maior dominância de efeitos positivos com o *L. acidophilus* do que com *L. casei* e *L. reuteri*. Da mesma forma, em seis estudos que minimizam os efeitos gastrointestinais da terapêutica da erradicação do *H. pylori*, quatro demonstram uma redução significativa com a utilização de *Lactobacillus*.

Canducci et al. demonstraram que a adição de *L. acidophilus* aumenta as taxas de erradicação da *H. pylori* de 79 para 87%. (14) Os *L. acidophilus*, em particular, aderem às

células polarizadas intestinais e impedem a adesão de enterotoxinas e enteroinvasinas, como a *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni* e *Escherichia coli*, às células da parede do intestino. (14)

Várias espécies de *Lactobacillus* têm efeitos inibitórios sobre a *H. pylori* nas células gástricas. Zou et al. verificaram que a Amoxicilina e os *Lactobacillus* produzem um efeito sinérgico contra a *H. Pylori*. Nos ensaios clínicos onde utilizaram a Claritromicina e a Amoxicilina tinham uma maior taxa de erradicação do que quando usaram a Claritromicina e o Tinidazole. (57)

Kim et al. em 2008, no estudo com a utilização de *L. acidophilus*, *B. longum*, *S. termophilus* e *L.casei*, observaram um aumento significativo (78,7 para 87,5%) na taxa de erradicação do *H. pylori* com 3 semanas de terapêutica probiótica em conjunto com a terapêutica tripla com Claritromicina, Amoxicilina e IBP durante 7 dias. (59)

Poderá haver um benefício superior na erradicação da terapia sequencial concomitante documentado nos estudos com *S. boulardii*, *L.reuteri* e *Bifidobactérias* e *Lactobacillus*, *respetivamente*. (43) (74, 75, 83)

Sachdeva et al. numa meta-análise em 2009, mostraram que as preparações probióticas à base de produtos de leite fermentado melhoram as taxas de erradicação de *H. pylori* por aproximadamente 10%. Não houve um impacto tão significativo na redução dos efeitos adversos gastrointestinais. (48)

Gotteland al. num estudo em 2008, demonstraram um aumento significativo em relação à erradicação da bactéria, quer com a utilização dos probióticos quer com prebióticos de forma isolada. Em relação à combinação dos dois, simbióticos, as taxas de erradicação da bactéria aumentaram, mas não de forma significativa. (70) Outro estudo, em simbióticos, protagonizado por Tolone et al., 2012, revelaram um aumento das taxas de erradicação em relação ao grupo controlo, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Por outro lado, registou-se uma diminuição significativa dos efeitos adversos, principalmente dor epigástrica, náuseas, vômitos e diarreia. (72)

Nos estudos que avaliaram os efeitos da utilização de simbióticos ou probióticos em combinação com as terapêuticas “standard” demonstram que não existe associação custo-efetiva com simbióticos, uma vez que a utilização dos probióticos em combinação com a terapia de erradicação convencional produz efeitos similares ao dos simbióticos. (72, 83) Embora, em dois estudos, com simbióticos, não se registre um potencial benefício, uma limitação clara deste trabalho prende-se com a falta de estudos que comparem a utilização de simbióticos e prebióticos. Desta forma, não podemos concluir com segurança a eficácia,

bem como o custo-efetividade, destes três compostos em associação com terapias “standard”.

Existem alguns estudos que referem que uma terapia quadrupla com *Lactobacillus* aumenta de forma significativa as taxas de erradicação desta bactéria. (60, 64) Um estudo randomizado controlado demonstra que os probióticos, durante ou uma semana antes da terapêutica tripla de 7 dias, resultam numa diminuição significativa nos efeitos adversos dos antibióticos; outros estudos defendem as terapias sequências, e a maioria favorece a terapêutica tripla.

Podemos concluir que parece haver uma forte ligação com as terapêuticas de erradicação preconizadas, em combinação com os pro e prebióticos e os tempos diferentes da terapia de erradicação. Dos quarenta e sete estudos analisados, apenas vinte com probióticos, dois descritos com simbióticos e um com prebióticos, apresentam uma redução significativa nas taxas de erradicação do *H. pylori*; no entanto, são necessários estudos mais homogêneos que relacionem os mesmos probióticos e prebióticos para diferentes terapias padronizadas de erradicação e vice-versa, de forma a limitar os resultados falsos negativos e positivos.

No futuro, o custo-efetividade do tratamento é importante para aprovação como adjuvante de primeira linha. Esta revisão não comparou o custo de cada terapia de erradicação, bem como o adjuvante utilizado em todos os estudos. Somente Cremonini et al. calcularam, um custo adicional de preparações com *Lactobacillus GG* aos antibióticos e IBPs de 0,84 € em cada dose, com um custo no final do tratamento de 11,8 € para um plano de 2 semanas, demonstrando ser um probiótico custo-efetivo. (80)

Em suma, apesar de leves na maioria dos casos, os efeitos gastrointestinais adversos associados à terapêutica antibiótica, como a diarreia, náuseas, vômitos, dor e desconforto abdominal podem representar sérias desvantagens na terapia anti-*H.pylori*. A suplementação com probióticos, prebióticos e simbióticos, para além de parecer ser eficaz na redução de alguns efeitos adversos e melhorar a adesão do paciente à terapêutica convencional, apresenta de facto uma maior taxa de erradicação da bactéria, comprovada pela diminuição das suas contagens após a utilização destas modalidades de tratamento. Portanto, torna-se necessário procurar outras combinações de probióticos e prebióticos, com dosagens diferentes e com períodos de tempo de tratamento específicos para atingir de uma forma mais consistente uma erradicação custo-efetiva.

Capítulo 5. Conclusão

O alarmante aumento da resistência aos antibióticos e o surgimento de estirpes multi-resistentes, enfatizam a necessidade de abordagens e alternativas para o tratamento de doenças GI.

Os resultados baseados em evidências têm uma importância tanto clínica quanto científica, sendo precursores de pesquisas e investigações futuras. Embora muitos resultados sugiram que preparações de probióticos, prebióticos e simbióticos possam promover um aumento nas taxas de erradicação da *H. pylori* comparativamente à terapia standard preconizada, mais ensaios clínicos são necessários para uma validação dos resultados. A evidência disponível limitada e a marginal qualidade de alguns dos estudos impedem uma conclusão mais sólida. Os dados disponíveis também são insuficientes para eleger uma preparação e espécies bacterianas preferidas, bem como ambiente clínico perfeito.

Secção 5.1. Perspetivas futuras

Com os avanços das tecnologias, a investigação nesta área continuará a fornecer bio-terapias e novos alvos e estratégias terapêuticas, tais como novas estirpes pro, pre e simbióticas para o tratamento e prevenção de distúrbios gastrointestinais. Tais estratégias envolvem a criação de probióticos “controlados”, exclusivamente para atingir uma condição patógeno-específica ou toxina-específica. A pato-biotecnologia e os resultados promissores introduzem a ideia de utilizar genomas para identificar novos genes para o tratamento de distúrbios gastrointestinais. O desenvolvimento de bactérias “designer” pode também implicar uma redução nos custos de produção e de armazenamento, contornando a meia-vida curta e a fragilidade associadas com a terapêutica convencional.

Esta é uma vantagem distinta no mundo em desenvolvimento. Apesar da aceitação do consumidor em relação aos pro, pre e simbióticos e à engenharia genética continua a ser um obstáculo significativo. Espera-se que para além da utilização biológica rigorosa baseada em protocolos, o fornecimento de informações objetivas devem ser adotadas para a educação do paciente. Os benefícios médicos e clínicos devem ser claramente demonstráveis para que tais terapias ganhem uma aceitação mais ampla na população geral. (84)

Bibliografia

1. Morelli L, Capurso L. FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later. *Journal of clinical gastroenterology*. 2012;46 Suppl:S1-2.
2. Malfertheiner P MF, O'Morain CA, Atherton J, Axon A, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham D, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ, The European Helicobacter Study Group (EHSg). Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*. 2012;61(5):18.
3. Coelho FMMdC. *Helicobacter pylori* - Eficácia da terapêutica [Ubi Thesis]. Covilhã: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior; 2013.
4. Raizel R SE, Kopper A, Filho A. Effects of probiotics, prebiotics and synbiotics consumption on the human organism. *Revista e Ciencia & Saúde, Porto Alegre*. 2011;4(2):8.
5. Gibson GR, Fuller R. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *The Journal of nutrition*. 2000;130(2S Suppl):391S-5S.
6. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*. 1995;125(6):1401-12.
7. Rivera-Espinoza Y, Gallardo-Navarro Y. Non-dairy probiotic products. *Food microbiology*. 2010;27(1):1-11.
8. Iannitti T, Palmieri B. Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice. *Clinical nutrition*. 2010;29(6):701-25.
9. Wohlgemuth S, Loh G, Blaut M. Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects. *International journal of medical microbiology : IJMM*. 2010;300(1):3-10.
10. Gupta V, Garg R. Probiotics. *Indian journal of medical microbiology*. 2009;27(3):202-9.
11. Saad N DC, Urdaci M, Schmitter JM, Bressollier P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT - Food Science and Technology*. 2013;50:16.
12. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions - A review. *International Journal of Medical Microbiology* 2010;300:5.
13. Sanders ME, Guarner F, Guerrant R, Holt PR, Quigley EM, Sartor RB. An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut*. 2013;62(5):787-96.
14. Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi F, Pola P. A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2000;14(12):1625-9.
15. Gourbeyre P, Denery S, Bodinier M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *Journal of leukocyte biology*. 2011;89(5):685-95.
16. Kopp-Hoolihan L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *Journal of the American Dietetic Association*. 2001;101(2):229-38; quiz 39-41.
17. Andrieux C. Prebiotics and Health. Post-Antibiotics Era of Animal Nutrition, The 3rd Techno world Meeting. 2001.
18. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition research reviews*. 2004;17(2):259-75.
19. Boehm G, Moro G. Structural and functional aspects of prebiotics used in infant nutrition. *The Journal of nutrition*. 2008;138(9):1818S-28S.
20. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2000;30(1):61-7.
21. Schrezenmeir J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition. *The American journal of clinical nutrition*. 2001;73(2 Suppl):361S-4S.
22. de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*. 2008;111:1-66.
23. Murray PR BE, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed 1999.

24. Roxo-Rosa M, Oleastro M, Vale FF. Helicobacter pylori eradication - the alternatives beyond antibiotics. *Formatex*. 2013:10.
25. Oliveira CSB. Incidência e prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* em utentes do Laboratório de Análises Clínicas Machado e sua relação com fatores de risco do hospedeiro. Açores: Ponta Delgada - Universidade dos Açores; 2013.
26. Brown LM. Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiologic reviews*. 2000;22(2):283-97.
27. Goh KL, Chan WK, Shiota S, Yamaoka Y. Epidemiology of Helicobacter pylori infection and public health implications. *Helicobacter*. 2011;16 Suppl 1:1-9.
28. Alakkari A, Zullo A, O'Connor HJ. Helicobacter pylori and nonmalignant diseases. *Helicobacter*. 2011;16 Suppl 1:33-7.
29. Yoon JB, Lee TY, Lee JS, Yoon JM, Jang SW, Kim MJ. Two Cases of Russell Body Gastritis Treated by Helicobacter pylori Eradication. *Clinical endoscopy*. 2012;45(4):412-6.
30. Arakawa T, Watanabe T, Tanigawa T, Tominaga K, Fujiwara Y, Morimoto K. Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: its pathophysiology and clinical relevance. *World journal of gastroenterology* : WJG. 2012;18(35):4811-22.
31. Ding SZ, Zheng PY. Helicobacter pylori infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut pathogens*. 2012;4(1):18.
32. Ghoshal UC, Chaturvedi R, Correa P. The enigma of Helicobacter pylori infection and gastric cancer. *Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian Society of Gastroenterology*. 2010;29(3):95-100.
33. Pinto ACR. Helicobacter pylori: uma revisão. São Paulo: Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas 2007.
34. McNulty CA, Lehours P, Megraud F. Diagnosis of Helicobacter pylori Infection. *Helicobacter*. 2011;16 Suppl 1:10-8.
35. Logan RP, Walker MM. ABC of the upper gastrointestinal tract: Epidemiology and diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Bmj*. 2001;323(7318):920-2.
36. Kazemi S, Tavakkoli H, Habizadeh MR, Emami MH. Diagnostic values of Helicobacter pylori diagnostic tests: stool antigen test, urea breath test, rapid urease test, serology and histology. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2011;16(9):1097-104.
37. Menoni SM, Bonon SH, Zeitune JM, Costa SC. PCR-Based Detection and Genotyping of Helicobacter pylori in Endoscopic Biopsy Samples from Brazilian Patients. *Gastroenterology research and practice*. 2013;2013:951034.
38. Urita Y, Hike K, Torii N, Kikuchi Y, Kurakata H, Kanda E. Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting Helicobacter pylori infection. *Internal medicine*. 2004;43(7):548-52.
39. Nocon M, Kuhlmann A, Leodolter A, Roll S, Vauth C, Willich SN. Efficacy and cost-effectiveness of the 13C-urea breath test as the primary diagnostic investigation for the detection of Helicobacter pylori infection compared to invasive and non-invasive diagnostic tests. *GMS health technology assessment*. 2009;5:Doc14.
40. Chey WD, Wong BC, Practice Parameters Committee of the American College of G. American College of Gastroenterology guideline on the management of Helicobacter pylori infection. *The American journal of gastroenterology*. 2007;102(8):1808-25.
41. Longo D FA, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine. 18th ed 2011 July.
42. Cindoruk M, Erkan G, Karakan T, Dursun A, Unal S. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in the 14-day triple anti-*Helicobacter pylori* therapy: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study. *Helicobacter*. 2007;12(4):309-16.
43. Szajewska H, Horvath A, Piwowarczyk A. Meta-analysis: the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on Helicobacter pylori eradication rates and side effects during treatment. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010;32(9):1069-79.
44. Duman DG, Bor S, Ozutemiz O, Sahin T, Oguz D, Istan F. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in prevention of antibiotic-associated diarrhoea due to Helicobacter pylori eradication. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2005;17(12):1357-61.
45. Tong JL, Ran ZH, Shen J, Zhang CX, Xiao SD. Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during Helicobacter pylori eradication therapy. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2007;25(2):155-68.

46. Song MJ, Park DI, Park JH, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI. The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI-based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2010;15(3):206-13.
47. Hurduc V, Plesca D, Dragomir D, Sajin M, Vandenplas Y. A randomized, open trial evaluating the effect of *Saccharomyces boulardii* on the eradication rate of *Helicobacter pylori* infection in children. *Acta paediatrica*. 2009;98(1):127-31.
48. Sachdeva A, Nagpal J. Effect of fermented milk-based probiotic preparations on *Helicobacter pylori* eradication: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2009;21(1):45-53.
49. Park SK, Park DI, Choi JS, Kang MS, Park JH, Kim HJ. The effect of probiotics on *Helicobacter pylori* eradication. *Hepato-gastroenterology*. 2007;54(79):2032-6.
50. Nista EC, Candelli M, Cremonini F, Cazzato IA, Zocco MA, Franceschi F. *Bacillus clausii* therapy to reduce side-effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2004;20(10):1181-8.
51. Yasar B, Abut E, Kayadibi H, Toros B, Sezikli M, Akkan Z. Efficacy of probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*. 2010;21(3):212-7.
52. Goldman CG, Barrado DA, Balcarce N, Rua EC, Oshiro M, Calcagno ML. Effect of a probiotic food as an adjuvant to triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection in children. *Nutrition*. 2006;22(10):984-8.
53. Wang KY, Li SN, Liu CS, Perng DS, Su YC, Wu DC. Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;80(3):737-41.
54. Imase K, Takahashi M, Tanaka A, Tokunaga K, Sugano H, Tanaka M. Efficacy of *Clostridium butyricum* preparation concomitantly with *Helicobacter pylori* eradication therapy in relation to changes in the intestinal microbiota. *Microbiology and immunology*. 2008;52(3):156-61.
55. Shavakhi A, Tabesh E, Yaghoutkar A, Hashemi H, Tabesh F, Khodadoostan M. The effects of multistrain probiotic compound on bismuth-containing quadruple therapy for *Helicobacter pylori* infection: a randomized placebo-controlled triple-blind study. *Helicobacter*. 2013;18(4):280-4.
56. Medeiros JA, Goncalves TM, Boyanova L, Pereira MI, de Carvalho JN, Pereira AM. Evaluation of *Helicobacter pylori* eradication by triple therapy plus *Lactobacillus acidophilus* compared to triple therapy alone. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2011;30(4):555-9.
57. Zou J, Dong J, Yu X. Meta-analysis: *Lactobacillus* containing quadruple therapy versus standard triple first-line therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter*. 2009;14(5):97-107.
58. Yoon H, Kim N, Kim JY, Park SY, Park JH, Jung HC. Effects of multistrain probiotic-containing yogurt on second-line triple therapy for *Helicobacter pylori* infection. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2011;26(1):44-8.
59. Kim MN, Kim N, Lee SH, Park YS, Hwang JH, Kim JW. The effects of probiotics on PPI-triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter*. 2008;13(4):261-8.
60. Sheu BS, Cheng HC, Kao AW, Wang ST, Yang YJ, Yang HB. Pretreatment with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual *Helicobacter pylori* infection after failed triple therapy. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;83(4):864-9.
61. Ziemniak W. Efficacy of *Helicobacter pylori* eradication taking into account its resistance to antibiotics. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. 2006;57 Suppl 3:123-41.
62. Navarro-Rodriguez T, Silva FM, Barbuti RC, Mattar R, Moraes-Filho JP, de Oliveira MN. Association of a probiotic to a *Helicobacter pylori* eradication regimen does not increase efficacy or decreases the adverse effects of the treatment: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *BMC gastroenterology*. 2013;13:56.
63. Du YQ, Su T, Fan JG, Lu YX, Zheng P, Li XH. Adjuvant probiotics improve the eradication effect of triple therapy for *Helicobacter pylori* infection. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2012;18(43):6302-7.
64. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, Modeo ME. Effect of *Lactobacillus casei* supplementation on the effectiveness and tolerability of a new second-line 10-day quadruple

therapy after failure of a first attempt to cure *Helicobacter pylori* infection. Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research. 2004;10(12):CR662-6.

65. Giovannone M BF, Boschetto S. *Lactobacillus casei* Dg effectiveness on *Helicobacter pylori* eradication treatment-side effects; A placebo-controlled, double-blind randomized pilot study Gastroenterology 2007;132(4 Suppl 2):A614.

66. Sykora J, Valeckova K, Amlerova J, Siala K, Dedek P, Watkins S. Effects of a specially designed fermented milk product containing probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 and the eradication of *H. pylori* in children: a prospective randomized double-blind study. Journal of clinical gastroenterology. 2005;39(8):692-8.

67. Flores JES, Pena LSL, Ramirez JJC, Bravo MSG, Gomez RG, Garcia JEA. Eradication of *Helicobacter pylori*: triple treatment scheme plus *Lactobacillus* vs. triple treatment alone. Cirugia y cirujanos. 2007;75(5):333-6.

68. Deguchi R, Nakaminami H, Rimbara E, Noguchi N, Sasatsu M, Suzuki T. Effect of pretreatment with *Lactobacillus gasseri* OLL2716 on first-line *Helicobacter pylori* eradication therapy. Journal of gastroenterology and hepatology. 2012;27(5):888-92.

69. Boonyaritichakij S, Kuwabara K, Nagano J, Kobayashi K, Koga Y. Long-term administration of probiotics to asymptomatic pre-school children for either the eradication or the prevention of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter. 2009;14(3):202-7.

70. Gotteland M, Andrews M, Toledo M, Munoz L, Caceres P, Anziani A. Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and *Lactobacillus johnsonii* La1 in children. Nutrition. 2008;24(5):421-6.

71. Rosania R, Minenna MF, Giorgio F, Facciorusso A, De Francesco V, Hassan C. Probiotic multistrain treatment may eradicate *Helicobacter pylori* from the stomach of dyspeptics: a placebo-controlled pilot study. Inflammation & allergy drug targets. 2012;11(3):244-9.

72. Tolone S, Pellino V, Vitaliti G, Lanzafame A, Tolone C. Evaluation of *Helicobacter Pylori* eradication in pediatric patients by triple therapy plus lactoferrin and probiotics compared to triple therapy alone. Italian journal of pediatrics. 2012;38:63.

73. Scaccianoce G, Zullo A, Hassan C, Gentili F, Cristofari F, Cardinale V. Triple therapies plus different probiotics for *Helicobacter pylori* eradication. European review for medical and pharmacological sciences. 2008;12(4):251-6.

74. Efrati C, Nicolini G, Cannaviello C, O'Sed NP, Valabrega S. *Helicobacter pylori* eradication: sequential therapy and *Lactobacillus reuteri* supplementation. World journal of gastroenterology : WJG. 2012;18(43):6250-4.

75. Francavilla R, Polimeno L, Demichina A, Maurogiovanni G, Principi B, Scaccianoce G. *Lactobacillus reuteri* Strain Combination In *Helicobacter pylori* Infection: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. Journal of clinical gastroenterology. 2013.

76. Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS. Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2002;16(9):1669-75.

77. Szajewska H, Skorka A. *Saccharomyces boulardii* for treating acute gastroenteritis in children: updated meta-analysis of randomized controlled trials. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2009;30(9):960-1.

78. Armuzzi A, Cremonini F, Ojetti V, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M. Effect of *Lactobacillus GG* supplementation on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy: a pilot study. Digestion. 2001;63(1):1-7.

79. Myllyluoma E, Veijola L, Ahlroos T, Tynkkynen S, Kankuri E, Vapaatalo H. Probiotic supplementation improves tolerance to *Helicobacter pylori* eradication therapy--a placebo-controlled, double-blind randomized pilot study. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2005;21(10):1263-72.

80. Cremonini F, Di Caro S, Covino M, Armuzzi A, Gabrielli M, Santarelli LL. Effect of different probiotic preparations on anti-*Helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. The American journal of gastroenterology. 2002;97(11):2744-9.

81. de Bortoli N, Leonardi G, Ciancia E, Merlo A, Bellini M, Costa F. *Helicobacter pylori* eradication: a randomized prospective study of triple therapy versus triple therapy plus lactoferrin and probiotics. The American journal of gastroenterology. 2007;102(5):951-6.

82. Bekar O, Yilmaz Y, Gulden M. Kefir improves the efficacy and tolerability of triple therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. Journal of medicinal food. 2011;14(4):344-7.

83. Manfredi M, Bizzarri B, Sacchero RI, Maccari S, Calabrese L, Fabbian F. *Helicobacter pylori* infection in clinical practice: probiotics and a combination of probiotics + lactoferrin improve compliance, but not eradication, in sequential therapy. *Helicobacter*. 2012;17(4):254-63.
84. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Matto J, Sandholm MT. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*. 2000;84:197-215.