



PUBLICAÇÕES SPED

# PROBIÓTICOS

Editor convidado: António Sousa Guerreiro

TEMA DE REVISÃO  
Editor: José Manuel Romãozinho



## PROBIÓTICOS - FICHA TÉCNICA

### **Editor Convidado**

António Sousa Guerreiro

### **Editor dos "Tema de Revisão"**

José Manuel Romãozinho

### **Edição**

Publicações SPED - Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva

### **Patrocínio**

Activia da Danone

### **Revisão**

António Sousa Guerreiro, José Manuel Romãozinho e Helena Granado

### **Design e Paginação**

MTP - Organização de Eventos, Lda.

### **Impressão**

Nome

Publicações SPED - Lisboa, Maio de 2009

### **Depósito Legal**

Nº -----

### **Tiragem**

N Exemplares

### **TEMA DE REVISÃO**

© 2009 Publicações SPED - Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva

Todos os direitos reservados em todo o mundo e em todas as línguas. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, transmitida ou guardada sob qualquer forma ou por qualquer meio mecânico ou electrónico, incluindo fotocópia ou gravação, ou através de sistemas de conservação e recuperação, sem autorização escrita do detentor do *copyright*.

# AUTORES

## **André Moreira**

Professor Auxiliar de Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; Assistente Hospitalar de Imunoalergologia, Hospital de São João, Porto

---

## **Ana Gomes**

Professora Auxiliar da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa

---

## **António Sousa Guerreiro**

Professor Catedrático da F. Ciências Médicas/UNL; Coordenador da Unidade Funcional de Medicina 4 - Hospital de Sta Marta/CHLC

---

## **Gonçalo Cordeiro Ferreira**

Director da Área de Pediatria Médica , CHLC-EPE; Professor Associado Convidado da FCM/UNL

---

## **José Manuel Romãozinho**

Chefe de Serviço de Gastreenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra  
Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

---

# ÍNDICE

<b>PREFÁCIO</b> .....	<b>PÁG. 07</b>
José Manuel Romãozinho	
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>PÁG. 09</b>
António Sousa Guerreiro	
<b>MICROBIOTA INTESTINAL: ALGUMAS CONSIDERAÇÕES</b> .....	<b>PÁG. 15</b>
António Sousa Guerreiro	
<b>MECANISMOS DE ACÇÃO</b> .....	<b>PÁG. 21</b>
André Moreira	
<b>APLICAÇÕES CLÍNICAS EM GASTROENTEROLOGIA</b> .....	<b>PÁG. 29</b>
António Sousa Guerreiro	
<b>PROBIÓTICOS NA IDADE PEDIÁTRICA</b> .....	<b>PÁG. 39</b>
Gonçalo Cordeiro Ferreira	
<b>PRODUTOS, ALEGAÇÕES DE SAÚDE E CRITÉRIOS DE SELECÇÃO</b> ...	<b>PÁG. 45</b>
Ana Gomes	

# PREFÁCIO

O termo probiótico, cujo significado literal é “pró-vida”, foi originalmente proposto por Lilley & Stillwell, em 1965, como antónimo do vocábulo antibiótico, no sentido em que pretendia designar os agentes microbianos que promovem o desenvolvimento de outros microorganismos. Na actualidade, o conceito de probiótico engloba todos os microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, exercem um efeito benéfico na saúde do hospedeiro.

De facto, ao integrarem a flora intestinal humana – cuja actividade metabólica é tão diversa como a flora em si mesma – os probióticos parecem actuar a três níveis distintos: lúmen intestinal, parede do intestino e sistémico. Tal poderá explicar as variegadas situações clínicas susceptíveis de beneficiarem com o emprego destes agentes microbianos, as quais, no âmbito da Gastreenterologia, vão desde a síndrome do cólon irritável à encefalopatia portossistémica, passando pela diarreia associada aos antibióticos, intolerância à lactose e doença inflamatória intestinal, entre outras.

Deste modo, não será de estranhar a escolha do título “Probióticos” para inaugurar a série “Tema de Revisão” das Publicações SPED, primordialmente dirigida, como é sabido, aos Especialistas e Internos de Gastreenterologia.

Para Editor deste título foi convidado o Prof. António Sousa Guerreiro, figura insigne de médico e universitário, desde há largos anos dedicado ao estudo dos microorganismos que colonizam o tubo digestivo – incluindo o *Helicobacter pylori* e os agentes probióticos – e com um vasto currículo, científico e pedagógico, nesta área. O Editor Convidado, e a prestigiada equipa que o ajudou na produção desta obra, constituem, assim, uma garantia segura da plena aceitação que se lhe augura por parte dos seus leitores.

Coimbra, 25 de Maio de 2009

**José Manuel Romãozinho**



# INTRODUÇÃO

**António Sousa Guerreiro**



A sociedade moderna, em países industrializados, tem um perfil diferente do existente há décadas, quando as doenças infecciosas predominavam. Actualmente, verifica-se um aumento progressivo da ocorrência de diversas patologias, nomeadamente, alérgicas, autoimunes e inflamatórias crónicas. O mesmo tem ocorrido em países em vias de desenvolvimento, onde esta mudança coexiste no entanto com a persistência de doenças infecciosas. Este fenómeno, de acordo com alguma evidência, parece resultar de alterações na sociedade do hemisfério ocidental, tais como a diminuição progressiva do contacto das crianças com microrganismos, devido a melhores condições de higiene e vacinação, e a alteração dos hábitos alimentares (redução da ingestão de fibras), que em conjunto determinam alterações da microbiota intestinal.<sup>1</sup>

As bactérias são habitantes usuais dos seres humanos, predominantemente no tracto gastrointestinal distal, onde metade do peso húmido do conteúdo do cólon (1-2 kg) é devido aos referidos microrganismos, cujo número é 10 vezes superior ao das células que constituem o corpo humano.<sup>2,3</sup> Os seres humanos podem ser considerados como "superorganismos" devido à sua estreita ligação com a microbiota intestinal.<sup>4</sup> Esta é composta por  $10^{13}$  a  $10^{14}$  microrganismos cujo genoma colectivo ("microbioma") contém 100 vezes mais genes que os existentes no genoma humano.<sup>5</sup>

O metabolismo dos "superorganismos" envolve integração dos processos metabólicos verdadeiramente endógenos (codificados no genoma do hospedeiro) com os da microbiota. O conceito de "superorganismo" representa um desvio importante no paradigma da compreensão da biologia humana e no futuro, provavelmente, terá um impacto significativo na prevenção e tratamento da doença.<sup>6</sup> A importância da microbiota intestinal para o metabolismo do hospedeiro é bem demonstrada pelo facto de animais geneticamente homogéneos poderem ter fenótipos metabólicos diversos devido à heterogeneidade da microbiota intestinal.<sup>7</sup>

Na verdade, evidência científica recente aponta para a importância do desenvolvimento da "metagenómica funcional" no contexto do estudo da relação dinâmica ente a microbiota e o hospedeiro.<sup>8</sup>

Assim, a compreensão detalhada da biologia humana necessita, para além do conhecimento do genoma (já descrito), da identificação do metagenoma, isto é, do conjunto dos genomas dos microrganismos associados ao ser humano. Em 2006, cientistas norte-americanos publicaram na revista *Science* o primeiro estudo sobre a análise metagenómica do microbioma humano do intestino distal.<sup>5</sup> A opção por esta localização deveu-se a diversos factores: 1. fácil acessibilidade das amostras fecais; 2. grande densidade populacional da microbiota do tracto digestivo distal; 3. importante actividade funcional da microbiota. Neste contexto, teve início em 2008 no âmbito da Comissão Europeia (7º programa quadro), o projecto denominado *MetaHIT – Metagenomics of the Human Intestinal Tract*, cujo objectivo é a caracterização do genoma de todas as bactérias que constituem a flora intestinal humana de modo a caracterizar as suas funções e consequentes implicações na saúde.<sup>9</sup>

Os dados existentes acerca da importância da flora intestinal no controlo da componente infecciosa e na modulação da resposta imunitária incentivaram a procura de medidas de prevenção e tratamento

de diversas doenças, baseadas na manutenção de uma flora intestinal saudável. Mas o que significa microbiota saudável, uma vez que só uma minoria da flora intestinal, talvez 30%, é identificável por exame bacteriológico do conteúdo fecal? Na verdade, existe uma “zona de grande nebulosidade” acerca da qual muito pouco se sabe.<sup>3</sup>

Uma das vias para atingir este objectivo baseia-se na tentativa de a “normalizar” através da introdução de microorganismos promotores de efeitos benéficos, os probióticos, ou de substâncias, denominadas prebióticos, que promovem o crescimento dos primeiros.

No que respeita aos probióticos, uma das mais recentes definições “microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades apropriadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro” foi proposta em 2001 por peritos da *Food and Agriculture Organisation (FAO)* dos EUA.<sup>10</sup> No entanto, a base científica desta definição pode ser questionada, uma vez que estudos em animais sugerem que alguns efeitos probióticos, podem ser obtidos através de bactérias não viáveis ou mesmo de DNA bacteriano isolado.<sup>11-13</sup> Assim, futuramente, poderão ser necessárias modificações à definição da *FAO*.

No ser humano, os probióticos mais vulgarmente utilizados são bactérias dos géneros *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium*, quer isoladamente ou em cultura mista. Também têm sido utilizados outros géneros bacterianos não patogénicos, incluindo *Escherichia*, *Enterococcus* e *Bacillus*, e organismos não bacterianos, tais como a levedura não patogénica *Saccharomyces boulardii*.<sup>14</sup>

No que respeita aos prebióticos, definem-se de acordo com *Gibson e Roberfroid*<sup>15</sup>, como “ingredientes alimentares não digeríveis que afectam benéficamente o indivíduo ao estimularem, de forma selectiva, o crescimento e/ou a actividade de um número limitado de bactérias no cólon, contribuindo para o estado de saúde do hospedeiro”.

Quanto aos simbióticos, são combinações apropriadas de prebióticos e probióticos, nas quais o componente prebiótico estimula selectivamente o componente probiótico. Um produto simbiótico exerce um efeito tanto prebiótico como probiótico.

No que respeita aos probióticos e de acordo com dados do *Council for Agricultural Science and Technology*, o ritmo de investigação no âmbito de ensaios clínicos com probióticos no ser humano quadruplicou no período 2001-2005 comparativamente a 1996-2000.<sup>16</sup>

No entanto, embora a investigação nesta área sugira uma gama alargada de potenciais efeitos benéficos, só alguns dos benefícios foram confirmados através de ensaios bem conduzidos, de dupla ocultação, randomizados e controlados.<sup>14</sup> De realçar que o efeito probiótico é específico de estirpe, o que significa que potenciais efeitos benéficos atribuídos a uma dada estirpe não podem ser atribuíveis a outra “*the genetic difference between one LAB(Lactic Acid Bacteria) and another can be greater than that between a fish and a human being*”.<sup>17</sup>

## Bibliografia

---

1. Chen CC, Walker WA. Probiotics and prebiotics: role in clinical disease states. *Adv Pediatr*. 2005;52:77-113.
2. Tannock GW. Analysis of the intestinal microflora: A renaissance. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1999;76:265-78.
3. Bengmark S. Bioecologic control of the gastrointestinal tract: the role of flora and supplemented probiotics and synbiotics. *Gastroenterol Clin N Am* 2005 (34):413-36.
4. Lederberg J. Infectious history. *Science* 2000; 288:287-93.
5. Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. *Science* 2006; 312:1355-9.
6. Nicholson JK. Global systems biology, personalized medicine and molecular epidemiology. *Mol Syst Biol* 2006; 2:52.
7. Li M, Wang B, Zhang M, et al. Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes. *PNAS* 2008; 105(6):2117-22.
8. Nicholson JK, Holmes E, Wilson ID. Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3:431-8.
9. MetaHIT project. [www.metahit.eu](http://www.metahit.eu)
10. FAO/WHO, Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Power Milk With Live Acid Bacteria. Cordoba. Argentina, 2001.
11. Bernardeau M, Vernoux JP, Gueguen M. Safety and efficacy of probiotic lactobacilli in promoting growth in post-weaning Swiss-mice. *Int J Food Microbiol* 2002; 77:19-27.
12. Rachmilewitz D, Karmeli F, Takabayashi K, et al. Immunostimulatory DNA ameliorates experimental and spontaneous murine colitis. *Gastroenterology* 2002; 122:1428-41.
13. Jijon H, Backer J, Diaz H, et al. DNA from bacteria modulates murine and human epithelial and immune function. *Gastroenterology* 2004; 126:1358-73.
14. Szajewska H. Probiotics and prebiotics in pediatrics: where are we now? *The Turkish Journal of Pediatrics* 2007; 49:231-44.
15. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota. Introducing the concept of probiotics. *J Nutr* 1995; 125:1401-12.
16. The Council for Agriculture Science and Technology. [www.cast-science.org](http://www.cast-science.org)
17. Bengmark S. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology 2003; 17:833-48.



# MICROBIOTA INTESTINAL: ALGUMAS CONSIDERAÇÕES

António Sousa Guerreiro



O Projecto Genoma Humano, concluído em 2003, teve por objectivo o mapeamento do genoma humano e a identificação de todos os nucleótidos que o compõem. Coloca-se, no entanto, a seguinte questão: Será que o conhecimento isolado do mapa genético é suficiente para entender o corpo humano tanto na saúde como na doença? Os dados existentes na actualidade permitem afirmar que não.

Com efeito, 90% das células do nosso organismo são microrganismos que se localizam nos tractos digestivo, respiratório e genito-urinário. A grande maioria corresponde a bactérias que se localizam no tracto digestivo distal, as quais vivem em simbiose com o organismo, uma vez que, se por um lado, necessitam para sobreviverem de nutrientes fornecidos pelo hospedeiro (tais como, a saliva e o muco intestinal), por outro lado, são também indispensáveis para o ser vivo que os alberga, uma vez que nele desempenham funções essenciais. Na verdade, para além de protegerem o organismo de agentes patogénicos (conceito clássico), influenciam igualmente a aquisição de nutrientes e regulam o metabolismo energético, através de mecanismos que o organismo intrinsecamente não dispõe.<sup>1</sup>

No tracto digestivo, a densidade bacteriana aumenta de um modo muito significativo no sentido distal, em particular, no intestino delgado distal e no cólon (estômago:  $10^1$  a  $10^3$  ufc/ml; duodeno:  $10^2$  a  $10^3$  ufc/ml; jejuno/íleon:  $10^4$  a  $10^7$  ufc/ml; cólon:  $10^{11}$  a  $10^{12}$  ufc/ml), correspondendo, neste último, a 60% da massa fecal.<sup>2</sup> Devido ao pH ácido do estômago, a colonização bacteriana é relativamente baixa neste órgão, o mesmo acontecendo na parte proximal do intestino delgado, devido ao trânsito rápido do conteúdo luminal e à presença de secreções bílio-pancreáticas. Em adultos saudáveis a microbiota (conjunto de microrganismos que estão normalmente associados a um órgão ou tecido particular) intestinal é estável e o número de bactérias anaeróbicas é cerca de 10 a 1000 vezes superior ao das bactérias aeróbicas. Os géneros mais vulgares incluem: 1. Anaeróbicos: *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* e *Eubacterium*; 2. Aeróbicos: *Escherichia*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Klebsiela*.<sup>3</sup> De um ponto de vista quantitativo, as espécies bacterianas mais importantes são os bacteróides e as bifidobactérias, que no adulto correspondem, respectivamente, a 30 e 25% do total da população de anaeróbicos. A relação entre as bactérias anaeróbicas e aeróbicas é inferior no caso das bactérias aderentes à parede comparativamente às que se localizam no lume intestinal. Assim, a variação da microbiota no tracto digestivo verifica-se não só no sentido longitudinal (proximal-distal) mas também no sentido transversal (parede-lume).<sup>2</sup>

Esta variação no sentido transversal, demonstra que a comunidade microbiana associada à mucosa é significativamente diferente das comunidades luminal e fecal.<sup>4</sup> Assim, ao considerar que as amostras fecais reflectem adequadamente a composição da microbiota aderente à mucosa está-se muito provavelmente a cometer uma incorrecção.<sup>4,13</sup> De salientar que embora a maior quantidade de biomassa se situe no lúmen do tracto gastrointestinal, é possível que os microrganismos associados à mucosa sejam os mais importantes para o hospedeiro devido à sua interacção com o GALT (*Gut Associated Lymphoid Tissue*).<sup>10</sup>

Esta impressionante carga bacteriana tem um *turn-over* de 3 dias e possui uma massa bioactiva semelhante a um órgão humano maior.<sup>5</sup>

Assim, temos de aceitar que o nosso corpo é mais microbiano que humano, isto é, associado ao genoma humano existe o genoma microbiano, "o microbioma", que contém pelo menos cem vezes mais genes que o primeiro.<sup>6</sup>

Recentemente, sob o patrocínio dos Institutos Nacionais de Saúde Norte-Americanos, iniciou-se o projecto intitulado "Projecto do Microbioma Humano" que inclui a identificação de milhares de espécies de bactérias.<sup>7</sup> De salientar que, embora as bactérias constituam as formas dominantes de vida na Terra, somente foi identificada até ao momento actual uma fracção muito diminuta, pois esta identificação tem tido por base o exame cultural em laboratório e, provavelmente, a maioria das bactérias não é cultivável.<sup>4</sup> Na verdade, cerca de 70% da microbiota humana não pode ser identificada através da análise microbiológica convencional, a qual se baseia no exame cultural.<sup>8</sup> A título de exemplo, no tracto digestivo distal existem pelo menos 1.800 géneros e entre 15.000 a 36.000 espécies bacterianas distintas.<sup>9</sup> No entanto, actualmente, uma nova abordagem experimental baseada em avanços das tecnologias de biologia molecular, a metagenómica, possibilita a análise genética de populações microbianas complexas sem necessidade de cultura prévia (*gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era*).<sup>10</sup> A metagenómica, no ser humano, compreende o estudo de todos os genes existentes no genoma humano bem como nos genomas da microbiota intestinal (microbioma).<sup>10</sup> A sua aplicação ao tracto digestivo, através da análise de amostras fecais e de mucosa intestinal distal obtidas a partir de indivíduos saudáveis, demonstrou a presença de oito divisões bacterianas, sendo de registar que duas, Firmicutes (gram+) e Bacteroidetes (gram -), constituem 60 a 80% do total da comunidade fecal.<sup>4</sup>

Dados recentes<sup>11</sup> indicam que 98% de todas as espécies bacterianas se incluem em 4 divisões bacterianas *major*: Firmicutes (64%); Bacteroidetes (23%); Proteobacteria (8%); Actinobacteria (3%), que por sua vez incluem géneros diversos, alguns deles mais representativos. De entre estes, a divisão Firmicutes engloba géneros, tais como, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus* e *Enterococcus*, enquanto que a divisão Bacteroidetes integra o género *Bacteroides*. A divisão Proteobacteria inclui, entre outros, o género *Helicobacter* e a divisão Actinobacteria compreende o género *Bifidobacterium*.<sup>12</sup>

Embora a presença destas divisões seja relativamente constante no ser humano, uma nova questão se coloca: O microbioma humano é específico e individual tal qual o genoma humano? Existe em nós uma "impressão digital bacteriana"? Os dados científicos disponíveis apontam indiscutivelmente neste sentido, verificando-se que a variabilidade ocorre principalmente entre espécies e subespécies das divisões Firmicutes e Bacteroidetes. No habitat intestinal algumas espécies parecem ser residentes permanentes (componente autóctones), enquanto outras são transitórias (componente alóctones) e veiculadas pelos alimentos. É lógico admitir, tendo em conta o intenso *cross-talk* entre as bactérias e o hospedeiro, que a individualidade genómica possa determinar a individualidade microbiómica. Esta última é bem patente, uma vez que somente 1% das mesmas espécies são partilhadas pelos diferentes seres humanos.<sup>4</sup>

Quando e como se constitui o microbioma? No caso de parto por via vaginal, no momento do nascimento, devido ao contacto com os microrganismos maternos localizados no canal vaginal. Mais tarde, é influenciado por factores, tais como, a dieta, os níveis de higiene e a medicação. Num artigo recentemente publicado, foi estudado o processo de aquisição da microbiota intestinal em 14 crianças, tendo-se verificado que no final do primeiro ano de vida se tinha atingido um padrão essencialmente adulto de diversidade bacteriana.<sup>14</sup>

Em adultos saudáveis a microbiota intestinal é estável e o número de bactérias anaeróbias é cerca de 10 a 1000 vezes superior ao das bactérias aeróbias. Os dados científicos actualmente existentes apontam indiscutivelmente para que o ser humano deva ser considerado como um superorganismo, em que a doença pode surgir no contexto de um desequilíbrio ecológico. Numa perspectiva

gastroenterológica pode-se questionar até que ponto este desequilíbrio pode interferir, por exemplo, na patogenia das doenças inflamatórias intestinais, enquanto que, num contexto mais amplo, se pode colocar o problema do *status* metabólico, nomeadamente no determinismo da obesidade.<sup>15</sup> É indispensável mudar o paradigma actual relativamente às bactérias, nomeadamente as existentes na microbiota intestinal. Na verdade, esta é constantemente agredida por fármacos, em particular, os antibióticos, devido ao facto de, por norma, não ser considerada um “órgão virtual” fundamental à preservação da saúde do seu hospedeiro, o corpo humano, com quem evoluiu conjuntamente.<sup>16</sup>

## Bibliografia

---

1. Bajzer M, Seeley RJ. Obesity and gut flora. *Nature* 2006; 21:444(7122):1009-10.
2. O’Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO reports* 2006; 7(7):688-93.
3. O’Hara AM, Shanahan F. Gut microbiota: mining for therapeutic potential. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2007; 5:274-84.
4. Eckburg PS, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microflora. *Science* 2005; 308(5728):1635-8.
5. Jia W, Li H; Zhao L, Nicholson JK. Gut microbiota: a potential new targeting for drug targeting. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7:123-9.
6. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307:1915-9.
7. Turnbaugh PJ, Lay RE, Hamady M, et al. The human microbiome project. *Nature* 2007; 449(7164):804-10.
8. Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y. Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. *Microbiol Immunol* 2002; 46:535-48.
9. Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312(5778):1355-9.
10. Frank DN, Pace NR. Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24:4-10.
11. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci* 2007; 104:13780-5.
12. Macfarlane S, Macfarlane GT. Bacterial diversity in the human gut. *Adv Appl Microbiol* 2004; 54:261-89.
13. Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela L, et al. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68:3401-7.
14. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5(7): e177. Epub 2007 Jun 26.
15. Hattori M, Taylor TD. The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Research* 2009; 16:1-12.
16. Turrioni F, Ribbera A, Foroni E, et al. Human gut microbiota and bifidobacteria: from composition to functionality. *Antoine van Leeuwenhoek* 2008; 94:35-50.



# MECANISMOS DE ACÇÃO

André Moreira



## 1. ANTAGONISMO DE MICROORGANISMOS

A extensão e permanente contacto com o exterior tornam a superfície mucosa epitelial a porta de entrada de eleição da maioria dos agentes infecciosos. No aparelho gastrointestinal, o aumento da permeabilidade epitelial induzido por situações inflamatórias - como as que resultam de disfunção mucosa causada por vírus, bactérias ou antigénios alimentares - facilita a invasão de microorganismos. A capacidade de promover a normalização da permeabilidade epitelial em estados inflamatórios é um dos principais mecanismos de acção dos probióticos.<sup>1</sup> De facto, algumas estirpes de *Lactobacillus* têm a capacidade de inibir a apoptose de células epiteliais<sup>2</sup> e promover a regeneração epitelial aumentando significativamente a actividade mitótica na mucosa.<sup>3</sup>

A redução da permeabilidade mucosa tem importantes consequências biológicas. Num modelo animal, a administração rectal de estirpes de *Lactobacillus* inibiu a translocação bacteriana e subsequente migração ganglionar regional num modelo de agressão hepática aguda.<sup>4</sup> Também uma mistura de probióticos contendo quatro *Lactobacillus*, três *Bifidobacterium* e um *Streptococo*, aumentou significativamente a resistência transepitelial à invasão por *Salmonella* em células intestinais.<sup>5</sup>

A primeira etapa do processo de agressão microbiana é a adesão às células ou às superfícies mucosas do hospedeiro. Daqui resulta que mecanismos que impeçam ou que interrompam este processo serão potencialmente benéficos. Por outro lado, a adesão dos probióticos à mucosa é, em si própria, considerada uma das principais formas pela qual exercem a sua acção. A ligação pode ser mediada por forças electrostáticas, hidrofóbicas e hidrofílicas, estabelecidas entre a cápsula ou fimbria bacterianas e uma enorme variedade de constituintes da parede celular que servem de receptores para a adesão bacteriana, tais como glicoproteínas e glicolipídios.<sup>6</sup> Este processo pode ser regulado a vários níveis, nomeadamente na interacção específica entre adesinas na superfície bacteriana e domínios carboidratados na superfície celular do epitélio mucoso. Por exemplo, o mecanismo pelo qual alguns probióticos impedem a adesão de *E. coli* e *Salmonella* parece ser a inibição competitiva pela ligação inespecífica aos receptores epiteliais disponíveis.<sup>7</sup> As superfícies mucosas são ainda protegidas por secreções luminiais como muco, glicolipídios e peptídeos, semelhantes a antibióticos naturais como as defensinas. As mucinas intestinais, glicoproteínas de alto peso molecular por células epiteliais, protegem da agressão providenciando simultaneamente uma barreira físico-química e inactivando a capacidade invasora dos agentes patogénicos por interacções mucina-bactéria/vírus específicas.<sup>8</sup> Este é um dos mecanismos de acção de algumas estirpes de probióticos que conseguem inibir a adesão de *E. coli* às células epiteliais intestinais por um mecanismo dependente da expressão de genes de mucinas.<sup>9</sup> Por último, foi ainda sugerido que os probióticos tinham a capacidade de interromper ligações já estabelecidas entre agentes patogénicos e o epitélio.<sup>10</sup> Estes fenómenos de inibição, adesão, exclusão competitiva e remoção de agentes patogénicos não se correlacionam entre si, sugerindo que diferentes mecanismos específicos de espécie estão subjacentes a estes eventos.

Para além da inibição competitiva na aderência de agentes patogénicos à mucosa, os *Lactobacillus* e as *Bifidobacterium* possuem a capacidade de aumentar a actividade microbiana inespecífica, promovendo

a produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogénio, ácidos gordos de cadeia curta, biosurfactantes e bacteriocinas.<sup>11</sup> As bacteriocinas são moléculas bactericidas com espectro antimicrobiano estreito e apenas tóxicas para estirpes bacterianas proximamente relacionadas com a estirpe produtora. As bacteriocinas produzidas por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são eficazes contra espécies de *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Listeria* e *Mycobacterium*. Adicionalmente, a actividade microbicida de estirpes de *Lactobacillus* é fortemente dependente da produção de ácido láctico.<sup>12</sup> Drago<sup>13</sup> sugeriu ainda um fenómeno de “coagregação inibitória” pela existência de um microambiente criado por probióticos e agentes invasores em que, através das suas características de superfície específicas, a actividade de metabólitos inibitórios fosse exacerbada, levando à redução da capacidade de crescimento de microorganismos.

## 2. EFEITOS IMUNOMODULADORES

A capacidade imunoestimuladora dos probióticos é um dos mecanismos sugeridos pelo qual os probióticos providenciam protecção contra as infecções. Esta parece ser determinada pelos agrupamentos e sequências padrão repetidas na parede bacteriana, como peptídeoglicanos, polissacarídeos e ácido lipoteicoico, reconhecidos por receptores “Toll-like” expressos em células imunes e da mucosa intestinal.<sup>14</sup> Por exemplo, os *Lactobacillus* têm a capacidade de activar as células apresentadoras de antígeno pela sinalização via TLR-2.<sup>15</sup> Desta activação, ou da activação de outras células imunes, nomeadamente do sistema monocítico-macrofágico resulta a amplificação da resposta imune pela libertação de citocinas e quimiocinas.

Probióticos do género *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium* têm a capacidade de estimular as células mononucleares do sangue periférico a aumentar a produção e libertação de citocinas por um mecanismo dependente da regulação da expressão dos factores de transcrição nuclear NF- $\kappa$ B e STAT.<sup>16,17</sup> Contudo, estes efeitos são altamente dependentes quer do probiótico, quer do hospedeiro. Assim, os *Lactobacillus* induzem preferencialmente a expressão de citocinas pró-inflamatórias (tais como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ), enquanto o efeito em citocinas anti-inflamatórias ou reguladoras (como IL-4, IL-10 or TGF- $\beta$ ) é fraco.<sup>17,18</sup> Porém, em condições inflamatórias, os *Lactobacillus* induzem a redução da produção de citocinas pró-inflamatórias e promovem a expressão de citocinas anti-inflamatórias.<sup>14,19-21</sup>

A imunomodulação também parece ser diferente *in vivo* e *in vitro*. Estudos *in vivo* sugerem que o efeito dos probióticos no balanço Th1-Th2 é dependente do estado imunológico do sujeito. Em adultos saudáveis e em indivíduos com patologia inflamatória crónica basal, os *Lactobacillus* parecem reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias<sup>22,23</sup>, mas em indivíduos de grupos etários mais avançados e saudáveis<sup>24</sup> e em crianças com manifestações clínicas de atopia ou de doença IgE mediada<sup>25-27</sup>, os probióticos promovem a resposta Th1 pelo aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias.

A principal função das citocinas pró-inflamatórias e interferões é chamar fagócitos ao local da infecção e ao mesmo tempo activar células T citotóxicas, monócitos, macrófagos e células NK. Estudos em modelos animais mostraram que *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* aumentam a capacidade fagocítica dos leucócitos do sangue periférico, de macrófagos peritoneais e pulmonares, e das células NK<sup>16,28-30</sup>. Em adultos saudáveis, o consumo regular de diferentes estirpes de probióticos, estava associado ao aumento da capacidade fagocítica *ex-vivo* de polimorfonucleares e da citotoxicidade das células NK<sup>31</sup>.

Os efeitos imunoestimuladores dos probióticos são dependentes quer da espécie quer de factores relacionados com hospedeiro, tais como a idade e o estado de saúde. Por exemplo, em indivíduos de

idade superior a 70 anos os probióticos induzem um maior incremento na activação das células NK em relação a mais jovens<sup>32</sup>; e os *Lactobacillus* mostraram diminuir a actividade fagocítica dos neutrófilos em indivíduos com hipersensibilidade ao leite, mas tem efeito contrário em indivíduos saudáveis<sup>33</sup>.

A modulação funcional da célula dendrítica por *Lactobacillus* regula ainda as respostas mediadas pela imunidade celular e o desenvolvimento da célula T<sup>34</sup>. Células dendríticas humanas mielóides activadas por *Lactobacillus* polarizam a resposta T no sentido Th1 e Tc1. Por outro lado, a resposta proliferativa de células B ou T, à suplementação com probióticos em humanos, depende do estado imunológico do sujeito: há um aumento do número de linfócitos B duodenais e de células T CD4+ em indivíduos saudáveis<sup>22</sup> ou ileostomizados<sup>35</sup> e há diminuição da proliferação T em doentes com condições inflamatórias crónicas como por exemplo a Doença de Crohn<sup>23</sup>.

Resumindo, os probióticos têm a capacidade de estimular o sistema imune de várias formas. Ao induzirem a produção de citocinas pelas células imunes, polarizando-as essencialmente no sentido Th1, estimulam fagócitos, células B, T e NK. Contudo, estes efeitos e as respectivas consequências são dependentes primeiro da estirpe de probiótico e segundo da condição imunológica basal e possivelmente da idade do hospedeiro.

### 3. MECANISMOS DE DEFESA NAS MUCOSAS

Um dos principais mecanismos de defesa imune resulta da produção nas mucosas de imunoglobulina A (IgA). Após a estimulação antigénica, os linfócitos T e B activados nas placas de Peyer migram em direcção aos órgãos linfóides secundários localizados nos tecidos linfóides associados à mucosa (MALT - *mucosa-associated lymphoid tissue*) onde as células B se diferenciam em plasmócitos produtores de imunoglobulinas. Este mecanismo oferece-nos a explicação dos efeitos sistémicos, mostrando que a ingestão oral de probióticos é capaz de regular a resposta imune em outras superfícies mucosas que não a gastrointestinal.

Estudos animais mostram que probióticos do género *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* tem a capacidade de induzir o aumento dos níveis de IgA específica no plasma, nas secreções intestinais e nas placas de Peyer, por um mecanismo dependente do aumento da produção de IL-6<sup>36</sup>. Em ensaios clínicos, a administração de *Lactobacillus* aumentou o número de células B produtoras de anticorpos IgA específicos para o rotavírus em crianças com gastroenterite induzida pelo rotavírus<sup>37,38</sup> e de IgA fecal em crianças com alergia às proteínas do leite de vaca<sup>39</sup>. Em crianças amamentadas, cujas mães ingeriram *Lactobacillus* GG no período pré-natal, e que foram elas próprias suplementadas após o parto, o número total de células produtoras de IgM, IgA e IgG circulantes foi maior que nas crianças sem suplementação<sup>40</sup>. Estes resultados sugerem que o aleitamento materno conjugado com administração de probióticos influencia favoravelmente a maturação do sistema imune. Todavia, estirpes tradicionais nos iogurtes como *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* induzem apenas uma fraca produção de IgA. Foi recentemente demonstrado, em adultos saudáveis, que a ingestão de bactérias lácticas possui um efeito adjuvante na resposta humoral à administração de vacinas orais. Com efeito, verificou-se que a ingestão oral de *Lactobacillus* GG ou de *Lactobacillus fermentum* aumentou significativamente os seguintes parâmetros: níveis séricos de IgA e IgG específicos de poliovírus;<sup>41</sup> número de plasmócitos produtores de IgA contra a *Salmonella typhi*<sup>42</sup> e de IgM específica para o rotavírus<sup>38</sup>; nível de IgA sérica específica para influenza vírus<sup>43</sup>.

#### 4. CONCLUSÕES

A imunoregulação induzida pelos probióticos pode actuar a nível local e sistémico. A nível local, promovendo a inibição da adesão de microrganismos patogénicos, a actividade anti-microbiana, a produção de mucinas, o reforço da função de barreira, a produção de citocinas pró-inflamatórias, a proliferação de células B, a produção de IgA e a expressão de células T reguladoras. A nível sistémico, regulando a proliferação de células B e T, a produção de imunoglobulinas e a sua expressão noutras mucosas à distância, potenciando, assim, as acções das vacinas.

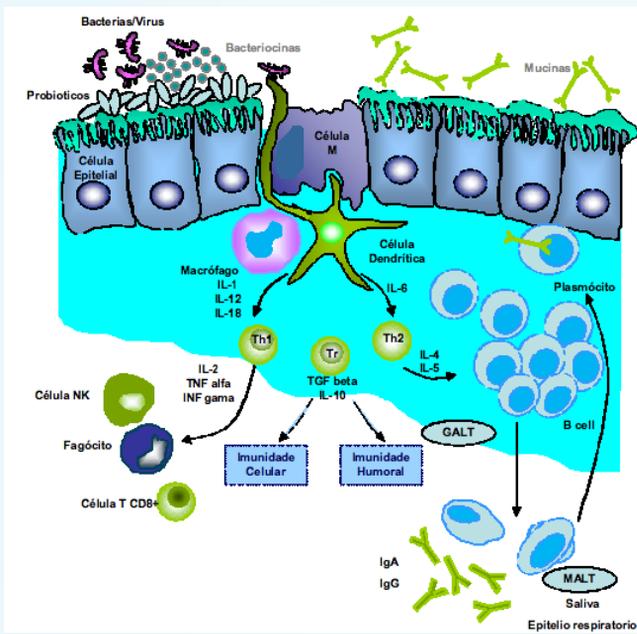


Figura 1. Mecanismos de acção dos probióticos a nível local e sistémico.

#### Bibliografia

1. Isolauri E, Majamaa H, Arvola T, Rantala I, Virtanen E, Arvilommi H. *Lactobacillus casei* strain GG reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats. *Gastroenterology* 1993 Dec;105(6):1643-50.
2. Yan F, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem* 2002 Dec 27;277(52):50959-65.
3. Banasaz M, Norin E, Holma R, Midtvedt T. Increased enterocyte production in gnotobiotic rats mono-associated with *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Appl Environ Microbiol* 2002 Jun;68(6):3031-4.
4. Adawi D, Ahrne S, Molin G. Effects of different probiotic strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on bacterial translocation and liver injury in an acute liver injury model. *Int J Food Microbiol* 2001 Nov 8;70(3):213-20.
5. Otte JM, Podolsky DK. Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004 Apr;286(4):G613-G626.
6. Lu L, Walker WA. Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium. *Am J Clin Nutr* 2001 Jun;73(6):1124S-30S.
7. Lee YK, Puong KY. Competition for adhesion between probiotics and human gastrointestinal pathogens in the presence of carbohydrate. *Br J Nutr* 2002 Sep;88 Suppl 1:S101-S108.

8. Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am J Clin Nutr* 2001 Jun;73(6):1131S-41S.
9. Mack DR, Ahne S, Hyde L, Wei S, Hollingsworth MA. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells in vitro. *Gut* 2003 Jun;52(6):827-33.
10. Collado MC, Jalonen L, Meriluoto J, Salminen S. Protection mechanism of probiotic combination against human pathogens: in vitro adhesion to human intestinal mucus. *Asia Pac J Clin Nutr* 2006;15(4):570-5.
11. Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev* 2004 Oct;28(4):405-40.
12. De Keersmaecker SC, Verhoeven TL, Desair J, Marchal K, Vanderleyden J, Nagy I. Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Salmonella typhimurium* is due to accumulation of lactic acid. *FEMS Microbiol Lett* 2006 Jun;259(1):89-96.
13. Drago L, Gismondo MR, Lombardi A, de HC, Gozzini L. Inhibition of in vitro growth of enteropathogens by new *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin. *FEMS Microbiol Lett* 1997 Aug 15;153(2):455-63.
14. Pena JA, Versalovic J. *Lactobacillus rhamnosus* GG decreases TNF-alpha production in lipopolysaccharide-activated murine macrophages by a contact-independent mechanism. *Cell Microbiol* 2003 Apr;5(4):277-85.
15. Foligne B, Zoumpopoulou G, Dewulf J, Ben YA, Chareyre F, Sirard JC, et al. A key role of dendritic cells in probiotic functionality. *PLoS ONE* 2007;2(3):e313.
16. Ishida-Fujii K, Sato R, Goto S, Yang XP, Kuboki H, Hirano S, et al. Prevention of pathogenic *Escherichia coli* infection in mice and stimulation of macrophage activation in rats by an oral administration of probiotic *Lactobacillus casei* I-5. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007 Apr;71(4):866-73.
17. Miettinen M, Vuopio-Varkila J, Varkila K. Production of human tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, and interleukin-10 is induced by lactic acid bacteria. *Infect Immun* 1996 Dec;64(12):5403-5.
18. Miettinen M, Matikainen S, Vuopio-Varkila J, Pirhonen J, Varkila K, Kurimoto M, et al. Lactobacilli and streptococci induce interleukin-12 (IL-12), IL-18, and gamma interferon production in human peripheral blood mononuclear cells. *Infect Immun* 1998 Dec;66(12):6058-62.
19. Hart AL, Lammers K, Brigidi P, Vitali B, Rizzello F, Gionchetti P, et al. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut* 2004 Nov;53(11):1602-9.
20. Jijon H, Backer J, Diaz H, Yeung H, Thiel D, McKaigney C, et al. DNA from probiotic bacteria modulates murine and human epithelial and immune function. *Gastroenterology* 2004 May;126(5):1358-73.
21. Zhang L, Li N, Caicedo R, Neu J. Live and dead *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. *J Nutr* 2005 Jul;135(7):1752-6.
22. Schultz M, Linde HJ, Lehn N, Zimmermann K, Grossmann J, Falk W, et al. Immunomodulatory consequences of oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in healthy volunteers. *J Dairy Res* 2003 May;70(2):165-73.
23. Braat H, van den BJ, van TE, Hommes D, Peppelenbosch M, van DS. *Lactobacillus rhamnosus* induces peripheral hyporesponsiveness in stimulated CD4+ T cells via modulation of dendritic cell function. *Am J Clin Nutr* 2004 Dec;80(6):1618-25.
24. Matsumoto M, Hara K, Benno Y. The influence of the immunostimulation by bacterial cell components derived from altered large intestinal microbiota on probiotic anti-inflammatory benefits. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007 Apr;49(3):387-90.
25. Prescott SL, Dunstan JA, Hale J, Breckler L, Lehmann H, Weston S, et al. Clinical effects of probiotics are associated with increased interferon-gamma responses in very young children with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2005 Dec;35(12):1557-64.
26. Viljanen M, Pohjavuori E, Haahtela T, Korpela R, Kuitunen M, Sarnesto A, et al. Induction of inflammation as a possible mechanism of probiotic effect in atopic eczema-dermatitis syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2005 Jun;115(6):1254-9.
27. Flinterman AE, Knol EF, van Ieperen-van Dijk AG, Timmerman HM, Knulst AC, Bruijnzeel-Koomen CA, et al. Probiotics have a different immunomodulatory potential in vitro versus ex vivo upon oral administration in children with food allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;143(3):237-44.
28. Lee Y, Lee TS. Enhancement in ex vivo phagocytic capacity of peritoneal leukocytes in mice by oral delivery of various lactic-acid-producing bacteria. *Curr Microbiol* 2005 Jan;50(1):24-7.
29. Ogawa T, Asai Y, Tamai R, Makimura Y, Sakamoto H, Hashikawa S, et al. Natural killer cell activities of synbiotic *Lactobacillus casei* ssp. *casei* in conjunction with dextran. *Clin Exp Immunol* 2006 Jan;143(1):103-9.

30. Sun JL, Le GW, Hou LX, Wang NF, Chang GF, Shi YH. Nonopsonic phagocytosis of Lactobacilli by mice Peyer's patches' macrophages. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007;16 Suppl 1:204-7.
31. Parra D, De Morentin BM, Cobo JM, Mateos A, Martinez JA. Monocyte function in healthy middle-aged people receiving fermented milk containing *Lactobacillus casei*. *J Nutr Health Aging* 2004;8(4):208-11.
32. Gill HS, Rutherford KJ, Cross ML. Dietary probiotic supplementation enhances natural killer cell activity in the elderly: an investigation of age-related immunological changes. *J Clin Immunol* 2001 Jul;21(4):264-71.
33. Peltto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy* 1998 Dec;28(12):1474-9.
34. Smits HH, Engering A, van der KD, de Jong EC, Schipper K, van Capel TM, et al. Selective probiotic bacteria induce IL-10-producing regulatory T cells in vitro by modulating dendritic cell function through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin. *J Allergy Clin Immunol* 2005 Jun;115(6):1260-7.
35. Valeur N, Engel P, Carbajal N, Connolly E, Ladefoged K. Colonization and immunomodulation by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 2004 Feb;70(2):1176-81.
36. Perdigon G, Alvarez S, Medina M, Vintini E, Roux E. Influence of the oral administration of lactic acid bacteria on iga producing cells associated to bronchus. *Int J Immunopathol Pharmacol* 1999 May;12(2):97-102.
37. Kaila M, Isolauri E, Soppa E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res* 1992 Aug;32(2):141-4.
38. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995 Apr;20(3):333-8.
39. Viljanen M, Kuitunen M, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Savilahti E. Probiotic effects on faecal inflammatory markers and on faecal IgA in food allergic atopic eczema/dermatitis syndrome infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2005 Feb;16(1):65-71.
40. Rinne M, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Effect of probiotics and breastfeeding on the *Bifidobacterium* and *Lactobacillus/enterococcus* microbiota and humoral immune responses. *J Pediatr* 2005 Aug;147(2):186-91.
41. Winkler P, de VM, Laue C, Schrezenmeir J. Effect of a dietary supplement containing probiotic bacteria plus vitamins and minerals on common cold infections and cellular immune parameters. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2005 Jul;43(7):318-26.
42. He F, Tuomola E, Arvilommi H, Salminen S. Modulation of human humoral immune response through orally administered bovine colostrum. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001 Aug;31(2):93-6.
43. Olivares M, az-Ropero MP, Sierra S, Lara-Villoslada F, Fonolla J, Navas M, et al. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. *Nutrition* 2007 Mar;23(3):254-60.

# APLICAÇÕES CLÍNICAS EM GASTROENTEROLOGIA

**António Sousa Guerreiro**



## HELICOBACTER PYLORI

Num artigo de revisão publicado em 2007, é assinalado que a terapêutica adjuvante com probióticos, no contexto da terapêutica anti-*Helicobacter pylori*, reduz significativamente os efeitos secundários relacionados com este tratamento, sem no entanto ter um impacto major na taxa de erradicação do referido microorganismo.<sup>1</sup>

No entanto, uma meta-análise, publicada também em 2007 e englobando 14 estudos randomizados (1671 doentes), sugere que a suplementação da terapêutica anti-*Helicobacter pylori* com determinados probióticos (terapêutica adjuvante) pode igualmente aumentar as taxas de erradicação, para além de reduzir os efeitos secundários.<sup>2</sup>

Uma meta-análise recente, publicada já em 2009, baseada em 10 estudos randomizados controlados englobando cerca de 1000 doentes e em que foram utilizados como terapêutica adjuvante preparados constituídos por leites fermentados contendo probióticos, sugere melhoria das taxas de erradicação de 5-15%, sendo no entanto heterogênea a repercussão nos efeitos secundários.<sup>3</sup>

De acordo com as *guidelines* da *World Gastroenterology Organization (WGO)* publicadas em Maio de 2008, não há evidência científica que suporte a utilização de probióticos isoladamente, existindo, no entanto, dados da literatura que sugerem a utilidade de alguns probióticos como terapêutica adjuvante no contexto da erradicação do *Helicobacter pylori*.<sup>4</sup>

De salientar que numa brochura recente do *AGA Patient Center (Medical Information from the American Gastroenterological Association - AGA Institute)* em que se assinalam situações de aplicabilidade clínica dos probióticos, não é efectuada qualquer referência relacionada com a bactéria anteriormente sinalizada.<sup>5</sup>

## Bibliografia

---

1. Jonkers D, Stockbrügger R. Review article: probiotics in gastrointestinal and liver diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26(Suppl2):133-48.
2. Tong JL, Ran, ZH, Shen J, et al. Meta-analysis the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25:155-68
3. 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. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21(1):45-53.
4. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)
5. American Gastroenterological Association - AGA Patient Center. PROBIOTICS. What they are and what they can do for you (Medical Information from the American Gastroenterological Association). [www.isapp.net/docs/AGA\\_probiotics\\_guidelines.pdf](http://www.isapp.net/docs/AGA_probiotics_guidelines.pdf)

## MÁ ABSORÇÃO DE LACTOSE

É bem conhecido que os produtos lácteos fermentados melhoram a digestão da lactose e os sintomas relacionados com a intolerância nos indivíduos com má absorção deste dissacárido.<sup>1</sup>

A utilização de iogurte, deve-se à fermentação do leite por duas espécies microbianas produtoras de ácido láctico, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* e *S. thermophilus*, que possuem β-galactosidases e sobrevivem à passagem pelo estômago, o que permite a libertação destas enzimas no intestino delgado onde participam na hidrólise da lactose.<sup>2,3</sup> De referir que os microrganismos acima mencionados participam na hidrólise da lactose, tanto durante a fermentação como após a ingestão de lactose, calculando-se que a fermentação reduza o conteúdo de lactose de aproximadamente 25-50%.<sup>4</sup>

De salientar que muitos probióticos revelam uma menor actividade enzimática ou, pelo contrário, apesar de possuírem uma actividade elevada, não libertam o seu conteúdo enzimático no intestino delgado, devido à sua elevada resistência às agressões ácida e biliar, em oposição aos microrganismos existentes no iogurte.<sup>5</sup>

As *guidelines* da WGO, reafirmam a evidência científica a favor da eficácia do iogurte (leite fermentado contendo culturas vivas de *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* e *S. thermophilus*) na melhoria da absorção da lactose e consequente redução dos sintomas relacionada com intolerância à lactose.<sup>6</sup>

## Bibliografia

---

1. Montalto M, Curigliano V, Santoro L, et al. Management and treatment of lactose malabsorption.
2. Adolfsson O, Meydani SN, Russell RM. Yogurt and gut function. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:245-56.
3. Bourlioux P, Pochart P. Nutritional and health properties of yogurt. *World Rev Nutr Diet* 1988; 56:217-58.
4. Gorbach SL. Lactic acid bacteria and human health. *Ann Med* 1990; 22:37-41.
5. de Vrese M, Schrezenmeier. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Ad Biochem Eng Biotechnol* 2008; 111:1-66.
6. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)

## CANCRO COLORECTAL

Os resultados do projecto *SYNCAN - SYMBIOTICS and CANCER* (2ª fase –intervenção dietética em humanos), subsidiado pela União Europeia, publicado em 2007<sup>1</sup>, testou o efeito da oligofrutose (prebiótico) e de duas estirpes de probióticos (*L.rhamnosus GG* e *Bifidobacterium lactis Bb12*) em doentes em risco de desenvolver carcinoma do cólon (polipectomizados devido a pólipos adenomatosos). Os resultados do estudo (12 semanas, randomizado, duplamente cego e controlado contra placebo) demonstraram que o simbiótico utilizado alterou favoravelmente a expressão de biomarcadores (exº: genotoxicidade, cinética celular, inflamação, imunológicos) de cancro colo-rectal.

Estes resultados no ser humano, confirmam dados prévios experimentais<sup>2</sup> e, embora preliminares, são encorajadores no que respeita à possibilidade de simbióticos com características semelhantes ao acima mencionado poderem vir a ser utilizados na quimioprevenção do cancro do cólon.

## Bibliografia

---

1. Rafter J, Bennett M, Caderni G, et al. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:488-96.
2. Geier MS, Butler RN and Howarth GS. Probiotics, prebiotics and synbiotics. A role in chemoprevention for colorectal cancer? *Cancer, biology and Therapy* 2006; 5(10):1265-9.

## DIARREIA

### TRATAMENTO DA DIARREIA AGUDA

Há confirmação que diferentes estirpes de probióticos, que incluem *L. reuteri* ATCC 55730, *L. rhamnosus GG*, *L. casei* DN-114001, and *Saccharomyces cerevisiae (boulardii)* são úteis na redução da gravidade e duração da diarreia infecciosa aguda, particularmente no caso de infecção por rotavírus, sendo a evidência particularmente convincente em crianças<sup>1</sup>. A administração oral de probióticos reduz (aproximadamente 1 dia) a duração do episódio agudo neste grupo etário. Foram publicadas algumas meta-análises de ensaios clínicos controlados que mostram resultados consistentes, sugerindo que os probióticos são seguros e eficazes. A evidência baseada em estudos de doentes com gastroenterite viral é mais convincente do que no contexto de infecções bacterianas ou parasitárias. Os mecanismos de acção são específicos de estirpe: existe evidência de eficácia relativamente a *Saccharomyces boulardii* e algumas estirpes de lactobacilos (ex<sup>o</sup>: *Lactobacillus casei GG* and *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730).<sup>2-5</sup>

## Bibliografia

---

1. Floch MH, Walker WA, Guandalini S, et al. Recommendations for probiotic use. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42:S104-S108.
2. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html).
3. Allen SJ, Okoko B, Martinez E, et al. Probiotics for treating infectious diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(2):CD003048.
4. Lee MC, Lin LH, Hung KL, Wu HY. Oral bacterial therapy promotes recovery from acute diarrhea in children. *Acta Paediatr Taiwan* 2001; 42:301-5.
5. Reid G, Anukam K and Koyama T. Probiotic products in Canada with clinical evidence: What can gastroenterologists recommend?

### PREVENÇÃO DA DIARREIA AGUDA

Existe evidência científica que comprova a eficácia do *Lactobacillus GG*, *L. casei* DN-114001, and *S. boulardii* na prevenção da diarreia infantil e do adulto, em alguns contextos específicos.

## Bibliografia

---

1. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)

## DIARREIA DO VIAJANTE

Neste caso específico de diarreia aguda, os dados obtidos com base em estudos relacionados com a eficácia dos probióticos não são consistentes<sup>1</sup>, possivelmente devido a diversos factores, tais como, diferenças entre estirpes probióticas, diversidade geográfica, microflora local, hábitos alimentares específicos dos viajantes ou modo de administração do probiótico (antes ou durante a viagem, cápsula vs. produto lácteo fermentado).

Os efeitos benéficos (redução/menor duração dos episódios de diarreia) demonstrado por alguns estudos<sup>2-4</sup>, não é confirmado por outros<sup>5</sup>.

## Bibliografia

---

1. de Vrese M, Schrezenmeier J. Probiotics, prebiotics and synbiotics. *Ad Biochem Eng Biotechnol* 2008; 111:1-66.
2. Black FT, Andersen PL, Orskov J, et al. Prophylactic efficacy of lactobacilli on traveller's diarrhea. In: Steffen R (ed.) *travel medicine. Conference on international travel medicine*, Zurich, Switzerland. Berlin: Springer, 1989:333-5.
3. Hilton E, Kolakowski P, Smith M, Singer C. Efficacy of *Lactobacillus GG* as a diarrhea preventive. *J Travel Med* 1997; 4:3-7.
4. Oksanen PJ, Salminen S, Saxelin M, et al. *Ann Med* 1990; 22:53-6.
5. Katelaris PH, Salam I, Farthing MJG. Lactobacilli to prevent traveller's diarrhea. *N Engl J Med* 1995; 333:1360-1.

## DIARREIA ASSOCIADA A ANTIBIÓTICOS

A diarreia associada a antibióticos é um problema clínico frequente, ocorrendo em 25-30% dos doentes sendo cerca de ¼ dos casos causado pelo *C. difficile*.<sup>1</sup> A eficácia de *S. boulardii* ou *L. rhamnosus GG*, tanto em crianças como em adultos, tem forte substrato científico (recomendação tipo A - baseada em estudos controlados consistentes).<sup>2</sup>

Evidência recente indica que *L. casei* DN-114001 é eficaz na diarreia associada a antibióticos bem como na diarreia associada ao *C. difficile* em doentes adultos hospitalizados.<sup>3</sup>

## Bibliografia

---

1. de Vrese M and Marteau PR. Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. *J Nutr* 2007; 137:803S-811S.
2. Floch MH, Walker WA, Guandalini S, et al. Recommendations for probiotic use. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42:S104-S108.
3. Hickson M, D' Souza AL, Muthu N, et al. Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised, double-blind placebo controlled trial. *BMJ* 2007; 335(7610):80

## DIARREIA INDUZIDA POR RADIOTERAPIA

Um estudo duplamente cego, controlado contra placebo, em que foram incluídos 409 doentes submetidos a radioterapia adjuvante pós-operatória após cirurgia colo-rectal e ginecológica (1999-2005), demonstrou eficácia de um preparado composto por diversos probióticos, o VSL-3 (*Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *Bifidobacterium longum*, *B. Breve*, *B. infantis*, and *Streptococcus termophilus*) na prevenção da diarreia induzida por radioterapia (dose: 450 biliões/g de bactérias viáveis liofilizadas, 3x/dia).<sup>1</sup>

Num artigo publicado em 2006 (artigo de revisão e de opinião de membros de um painel de peritos) o artigo mencionado induziu uma recomendação de tipo C (baseada em alguns estudos positivos mas claramente insuficientes para o estabelecimento de conclusões definitivas).<sup>2</sup>

Também, de acordo com as *guidelines* da WGO (2008) não existe ainda evidência científica suficiente que, com segurança, permita afirmar a eficácia da mistura probiótica no contexto da enterite rádica.<sup>3</sup>

## Bibliografia

---

1. Delia P, Sansotta G, Donato V, et al. Use of probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea. *World J Gastroenterol* 2007; 13(6):912-5.
2. Floch MH, Madsen KK, Jenkins DJA, et al. Recommendations for probiotic use. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40(3):275-8.
3. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)

## SÍNDROME DO INTESTINO IRRITÁVEL (IBS)

Uma meta-análise recente<sup>1</sup>, baseada em 14 ensaios randomizados controlados contra placebo (artigos incluídos até 2007), demonstra que determinados probióticos podem promover alívio de alguns dos sintomas do IBS. De acordo com os autores, 4 dos 14 ensaios randomizados obtiveram a pontuação máxima no contexto da qualidade metodológica.<sup>2-5</sup> De entre estes, dois foram publicados em 2007<sup>4,5</sup>, sendo de salientar o trabalho de Guyonnet D. e col.<sup>5</sup>, atendendo ao número de doentes (IBS com predomínio de obstipação) incluídos (274), em que foi utilizado um leite fermentado contendo *Bifidobacterium animalis* DN-173010. No entanto, os autores da meta-análise recomendam a realização de estudos com maior duração, uma vez que o IBS é uma entidade crónica, geralmente intermitente. Estes estudos, devem centrar-se no tipo e dose de probióticos, bem como nos subgrupos de doentes que mais provavelmente beneficiarão desta abordagem terapêutica.

Após a conclusão da meta-análise acima mencionada, ocorreu a publicação do estudo de Kajander K. e col.<sup>6</sup>, em que foi utilizada uma mistura de 5 probióticos, e cujos resultados reforçam as conclusões resultantes desta meta-análise.

De registar que de acordo com as *guidelines* da WGO - 2008 os dados disponíveis na literatura sugerem que determinados probióticos podem melhorar os principais sintomas que integram o Síndrome do Intestino Irritável.<sup>7</sup>

Os peritos da *Task Force on IBS do American College of Gastroenterology*, em documento publicado já em 2009, sugerem também a existência de um efeito benéfico dos probióticos, referindo no entanto que a heterogeneidade de espécies, estirpes e doses de probióticos utilizadas nos diferentes estudos científicos torna difícil chegar a conclusões acerca da estratégia de sua utilização no contexto do IBS.<sup>8</sup>

## Bibliografia

---

1. Heneghan C, Mahtani KR, et al. A systematic review and meta-analysis: Probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterology* 2009; 16; 9(1):1-15 (Epub ahead of print)
2. Gade J, Thorn P. Paraghurt for patients with irritable bowel syndrome. A controlled clinical investigation from general practice. *Scand J Prim health Care* 1989; 7(1):23-6.
3. O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, et al. Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* 2005; 128:541-51.
4. Gawronska A, Dziechciarz P, Horvath A, Szajewska H. A randomized double-blind placebo-controlled trial of Lactobacillus GG for abdominal pain disorders in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25(2):177-84.
5. Guyonnet D, Chassany O, Ducrotte P, et al. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26(3):475-86.
6. Kajander K, Myllyuoma E, Rajilic-Stonavic M, et al. Clinical trial: multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27:48-57.
7. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)
8. American College of Gastroenterology IBS Task Force. An evidence-based systematic review on the management of irritable bowel syndrome. *American Journal of Gastroenterology* 2009; 104 (suppl 1):S1-S35.

## DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL

### “POUCHITE” - MANUTENÇÃO DE REMISSÃO

De acordo com as recomendações apresentadas em 2007 na reunião *Advances in Clinical Use of Probiotics*<sup>1</sup>, existe uma recomendação de tipo A (baseada em: estudos consistentes, controlados e publicados sob forma extensa) no âmbito da manutenção de remissão de “pouchite” no caso de anastomose íleo-anal, quer após indução de remissão com antibioterapia ou imediatamente após construção cirúrgica da bolsa. A eficácia dos probióticos, está predominantemente relacionada com a utilização de um preparado probiótico, o VSL#3 (mistura de 4 espécies de lactobacilos, 3 espécies de bifidobactérias, e *Streptococcus thermophilus*, contendo 450 biliões de bactérias vivas por saqueta), cujos benefícios são comprovados através de diversas publicações científicas.<sup>2-4</sup> As *guidelines* da WGO–2008 estão em consonância com as recomendações acima descritas.<sup>5</sup>

### Bibliografia

---

1. Floch MH, Walker WA, Guandalini S, et al. Recommendations for probiotic use – 2008. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42:S104-S108.
2. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000; 119:305-9.
3. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124:1202-9.
4. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, et al. Once-daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut* 2004; 53:108-14.
5. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)

### “POUCHITE”- INDUÇÃO DE REMISSÃO

De acordo com as recomendações apresentadas em 2007 na reunião *Advances in Clinical Use of Probiotics*<sup>1</sup>, existe uma recomendação de tipo C (baseada em estudos favoráveis, mas em quantidade claramente inadequada para o estabelecimento de uma recomendação de tipo “A” ou “B”) no contexto de indução de remissão da pouchite após administração de VSL#3, em dose elevada (3.600 biliões de bactérias/dia).<sup>1</sup>

As *guidelines* da WGO–2008 sugerem a possibilidade de utilização na pouchite com actividade ligeira.<sup>2</sup>

### Bibliografia

---

1. Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, et al. High-dose probiotics for the treatment of active pouchitis. *Dis Colon Rectum* 2007; 50:2075-84.
2. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)

### COLITE ULCEROSA - MANUTENÇÃO DE REMISSÃO

Três ensaios randomizados, duplamente cegos, demonstraram que uma estirpe não agressiva de *Escherichia coli* (*E. coli* Nissle 1917) tem eficácia semelhante ao 5-ASA (mesalazina)<sup>1-3</sup>, sendo de salientar que em dois estudos<sup>2,3</sup> o período de controlo pós-remissão foi de 12 meses, enquanto no restante<sup>1</sup> foi somente de 3 meses.

Diversos estudos relacionados com a utilização de lactobacilos ou bifidobactérias forneceram resultados contraditórios.<sup>4</sup>

As *guidelines* da WGO–2008, referem que para além dos estudos acerca da *E. coli* Nissle 1917 não existem estudos adequados que permitam assegurar a eficácia de outros probióticos neste contexto.<sup>5</sup> De referir que, no entanto relativamente ao preparado probiótico VSL#3 (mistura de 4 espécies de lactobacilos, 3 espécies de bifidobactérias, e *Streptococcus thermophilus*, contendo 450 biliões de bactérias vivas por saqueta), um estudo aberto publicado em 1999 foi favorável à utilização da mistura acima descrita<sup>6</sup>, tendo um ensaio randomizado, controlado contra placebo, (VSL#3+mesalamina vs. placebo+mesalamina) publicado já em 2009<sup>7</sup>, confirmado a sua mais valia quando administrado simultaneamente com 5-ASA (mesalamina).

## Bibliografia

---

1. Kruis W, Schutz E, Fric P, et al. Double-blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11:853-8.
2. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, et al. Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354:635-9.
3. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut* 2004, 53:1617-23.
4. Hedin C, Whelan K, Lindsay JO. Evidence for use of probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: a review of clinical trials. *Proceedings of the Nutrition Society* 2007; 66:307-15.
5. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)
6. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, et al. Impact on the composition of faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13:1103-8.
7. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, et al. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:437-43.

## COLITE ULCEROSA - INDUÇÃO DE REMISSÃO

Os estudos disponíveis são escassos, com metodologia diversificada (ex<sup>o</sup>: preparado administrado; via de administração) e apresentam resultados heterogéneos no contexto da colite ulcerosa activa.<sup>1</sup> De realçar, um ensaio randomizado, controlado contra placebo, publicado em 2009, que sugere a mais valia da mistura probiótica VSL#3, como adjuvante da corticoterapia.<sup>2</sup>

## Bibliografia

---

1. Hedin C, Whelan K, Lindsay JO. Evidence for use of probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: a review of clinical trials. *Proceedings of the Nutrition Society* 2007; 66:307-15.
2. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, et al. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:437-43.

## DOENÇA DE CROHN - INDUÇÃO / MANUTENÇÃO DE REMISSÃO

Os resultados dos estudos relacionados com a utilização de probióticos na Doença de Crohn têm sido decepcionantes.<sup>1</sup>

Dois artigos de revisão em que foi utilizada a base de dados Cochrane não permitem validar cientificamente qualquer efeito benéfico, tanto na fase activa (indução de remissão)<sup>2</sup> como no período inactivo da doença (manutenção da remissão).<sup>3</sup>

## Bibliografia

---

1. World Gastroenterology Organisation Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics, May 2008. [www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html](http://www.worldgastroenterology.org/global-guidelines.html)
2. Butterworth AD, Thomas AG, Akobeng AK. Probiotics for induction of remission in Crohn`s disease. Cochrane Database System Rev 2008; 16(3): CD006634.
3. Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ, Bath-Hextall F. Probiotic for maintenance of remission in Crohn`s disease. The Cochrane Database of Systematic Reviews 2006, issue 4, CD004826, Chichester, West Sussex: John Wiley and Sons Ltd.

## ENCEFALOPATIA PORTOSSISTÊMICA

A encefalopatia hepática mínima é uma alteração importante que pode comprometer gravemente a qualidade de vida dos doentes com cirrose. Ocorre em 30 a 70% dos cirróticos sem evidência clínica de encefalopatia (*overt encephalopathy*). Um trabalho publicado em 2004, concluiu que o tratamento com um sinbiótico (10 g de fibras fermentáveis: 2.5 g de glucano; 2.5 g de inulina; 2.5 g de pectina; 2.5 g de amido resistente + 4 probióticos: *Pediococcus pentoseceus* 5-33:3; *Leuconostoc mesenteroides* 32-77:1; *Lactobacillus paracasei* subespécie *paracasei* 19) (Cocktail 2000; Medipharm, Kagerod, Sweden) ou com fibras fermentáveis (10g de fibras fermentáveis: 2.5g de glucano; 2.5g de inulina; 2.5g de pectina; 2.5g de amido resistente) é uma alternativa à utilização de lactulose.<sup>1</sup>

Este estudo foi muito apreciado a nível mundial, tendo merecido o seguinte comentário por parte de hepatologistas de referência<sup>2</sup> "*The study by Liu et al. merits attention as a big step forward in the translation of such a research to humans.*"

Mais recentemente, um estudo em que foi utilizado iogurte (leite fermentado por *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*) com várias espécies de lactobacilos, demonstrou igualmente eficácia no contexto da reversibilidade da encefalopatia hepática mínima.<sup>3</sup>

## Bibliografia

---

1. Liu Q, Duan ZP, Ha DK, et al. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. Hepatology 2004; 39:1141-49.
2. Solga SF, Diehl AM. Gut flora-based liver therapy? The liver cares about the gut. Hepatology 2004; 39(5):1197-200.
3. Bajaj JS, Saeian K, Christensen KM, et al. Probiotic yogurt for the treatment of minimal hepatic encephalopathy. American Journal of Gastroenterology .2008; 103:1707-15

## FÍGADO GORDO NÃO ALCOÓLICO E/OU ESTEATOHEPATITE

Não foram identificados ensaios clínicos randomizados. Dados preliminares de dois estudos-piloto não randomizados sugerem que os probióticos, para além de bem tolerados, podem melhorar as provas de função hepática convencionais, e diminuir os marcadores de peroxidação lipídica.<sup>1</sup>

## Bibliografia

---

1. Lirussi F, Mastropasqua E, Orando S, Orlando R. Probiotics for non-alcoholic fatty liver disease and/or steatohepatitis (review). The Cochrane Library 2009, Issue 1.

# PROBIÓTICOS NA IDADE PEDIÁTRICA

Gonçalo Cordeiro Ferreira



O intestino do Recém Nascido (RN) é essencialmente estéril, mas rapidamente vai ser colonizado por bactérias, levando à constituição progressiva da sua microbiota intestinal, a qual atinge um grau de estabilidade, semelhante à do adulto, pelos 2 anos de vida<sup>1</sup>.

Até essa idade a flora intestinal vai sofrendo modificações sucessivas que estão dependentes de três factores: tipo de parto, alimentação desde o primeiro dia de vida e uso de antibióticos.

No RN de parto vaginal a colonização intestinal é precoce, e tem origem na flora vaginal e cólica materna, mas também em factores microbianos ambientais. De uma forma geral as primeiras bactérias são anaeróbios facultativos como as enterobactérias (coliformes e enterococos) mas, à medida que vão utilizando o oxigénio do meio intestinal, começa a formar-se uma flora predominante de anaeróbios estritos.

Nos RN amamentados a microbiota é composta fundamentalmente por bifidobactérias e em menor grau por lactobacilos e bacteroides<sup>2</sup>.

Em RN e lactentes alimentados total ou parcialmente por fórmulas a flora é mais complexa, consistindo de coliformes e bacteróides, com diminuição sensível da percentagem de bifidobactérias.

Também o tipo de parto é determinante para o estabelecimento inicial da microbiota intestinal do bebé. Os RN por cesariana apresentam uma colonização mais tardia para bifidobactérias e *Bacteroides fragilis* e um aumento de *Clostridium difficile* e *Escherichia coli*<sup>3</sup>.

Num e noutro grupo a diversificação alimentar leva a uma modificação apreciável da flora, com o aumento de microorganismos anaeróbios do tipo *Bacteroides*, *Veillonella* e *Fusobacterium*, bem como outros não cultiváveis, constituindo um conjunto de  $10^{10}$ -  $10^{12}$  células procariotas, compreendendo cerca de 500 espécies, das quais 30-40 são largamente predominantes (representando 99% do total). Esta microbiota intestinal que se vai estabelecendo pode ser também alterada pelo uso de antibióticos (frequente na idade pediátrica) com redução de bifidobactérias e lactobacilos e aumento das espécies de *Clostridium*<sup>4</sup>.

Nas últimas décadas tem sido reconhecido o papel benéfico desta microflora na saúde do RN e do lactente, quer em termos imediatos, quer mais tardios, através de três mecanismos :

- Efeito antimicrobiano para com espécies patogénicas, através da síntese de substâncias inibidoras ou letais para essas espécies ou competindo directamente com aquelas, quer pelos mesmos substratos alimentares, quer pelos locais de adesão à membrana dos enterocitos.<sup>5</sup>

- Efeitos metabólicos, nomeadamente, fermentando a lactose não digerida no intestino proximal, levando entre outros produtos, à síntese de ácidos gordos voláteis de cadeia curta, utilizados como substrato energético pelas células do hospedeiro.

- Efeito de modulação imunológica a nível do tracto intestinal, mas com repercussões sistémicas, activando a síntese local de IgA, favorecendo a manutenção de uma barreira intestinal mais resistente à passagem de macromoléculas ou à translocação bacteriana.

Por outro lado, no RN, a constituição desta microbiota parece influenciar a aquisição de mecanismos de tolerância a antígenos alimentares, em detrimento de reacções do tipo alérgico.<sup>6,7</sup>

Este conjunto de efeitos benéficos induzido pela microflora intestinal do bebé, principalmente quando constituída em condições ideais (parto vaginal seguido de amamentação), tem levado a que se procure intervir através da administração de probióticos dos géneros *Lactobacilos* ou *Bifidobactéria*, em circunstâncias de risco para a formação de uma flora menos satisfatória: RN de cesariana, RN não amamentados ou parcialmente amamentados, prematuros sujeitos a manobras invasivas em meio hospitalar e a tratamentos com antibióticos de largo espectro.

Esta administração tem sido obtida através da adição directa de um ou de uma mistura de probióticos ou, na maioria dos casos, através da suplementação de fórmulas infantis com esses microrganismos. O uso de probióticos em Pediatria deve no entanto ser condicionado por dois tipos de preocupações: segurança e eficácia. A segurança contempla problemas imediatos ou efeitos mais tardios.

Nos problemas imediatos destaca-se o hipotético risco de infecção sistémica causada por esses probióticos, no contexto da sua administração a RN, nomeadamente prematuros, em que a imunidade se encontra fisiologicamente diminuída.

Contempla ainda a possibilidade de transmissão, via plasmídeos, de genes de resistência a antibióticos a bactérias patogénicas do tracto intestinal.

Quanto a questões de segurança mais a longo prazo, coloca-se a tónica na eventual repercussão dessa administração precoce no crescimento, na resposta imune e na possibilidade de ocorrerem efeitos metabólicos deletérios.

Até agora os estudos efectuados (mais de 70 envolvendo um numero superior a 4000 crianças) com o uso de suplementos ou fórmulas contendo probióticos, mesmo em RN prematuros, tem demonstrado um perfil de segurança excelente<sup>8,9</sup>.

Há no entanto evidência de translocação bacteriana e infecção por lactobacilos e *Saccharomyces boulardii*, após administração destes em prematuros imunocomprometidos, mas não há referência a nenhum episódio de bacteriémia após o uso de bifidobactérias<sup>10,11</sup>.

Por outro lado, e até ao momento, não foi demonstrada a transmissão a outras espécies ou estirpes bacterianas de genes de resistência aos antibióticos<sup>12</sup>.

No médio prazo os estudos efectuados com lactentes alimentados com fórmulas suplementadas com probióticos não demonstraram qualquer alteração do crescimento ou no perfil metabólico, e também no que respeita à modulação imunológica, não tem havido comunicação de complicações e, apesar dos resultados das meta-análises não serem ainda totalmente conclusivos, vários estudos (sobretudo de origem finlandesa) demonstraram vantagens com o uso precoce de probióticos na redução de algumas formas de atopia (mais concretamente a dermatite atópica) e na melhor resposta imunológica a infecções respiratórias<sup>13-15</sup>.

No que respeita ao aspecto da eficácia, o uso de probióticos em Pediatria tem sido estudado para avaliar efeitos gastrointestinais e extra-digestivos (neste último caso ligado à modulação da imunidade através de estudos incidindo na possível protecção de doenças infecciosas comuns nas crianças, ao nível do tracto respiratório, ou trabalhos que concernem a prevenção da doença alérgica, em ambos os casos fora do âmbito desta monografia).

Os estudos relativos ao efeito dos probióticos nas doenças do aparelho gastrointestinal demonstram uma eficácia moderada na redução do tempo de duração das gastroenterites agudas (GEA) virais (principalmente a rotavírus) e na prevenção da diarreia ligada aos antibióticos, como referido noutra local desta monografia.

Os estudos na indução da remissão ou na manutenção da Doença Inflamatória Intestinal na idade pediátrica ou na erradicação do *Helicobacter pylori* são ainda escassos e com um número insuficiente de casos para se poderem tirar conclusões (16).

Uma área de especial interesse no campo pediátrico é o da prevenção da Enterocolite Necrotizante (NEC), a mais comum das situações de emergência intestinal no RN com uma incidência de 1-3 /1000 nascimentos. Caracteriza-se por isquémia intestinal e colonização por bactérias intestinais patogénicas, coincidindo com o início da alimentação entérica, levando a necrose intestinal e perfuração em cerca de um terço dos casos. São factores de risco a prematuridade (sobretudo abaixo das 33 semanas) e o baixo peso ao nascer, principalmente o extremo baixo peso (inferior a 1.500 g). Em cerca de 20-40% dos casos pode ser necessária cirurgia e a mortalidade situa-se entre 10-30 % de todos os casos. O racional do uso dos probióticos na prevenção da NEC assenta em três vertentes: competição e inibição da colonização intestinal por espécies patogénicas; maturação da barreira intestinal com redução da permeabilidade evitando a translocação bacteriana luminal; aumento da produção de substâncias com acção antimicrobiana local (Ig A secretora, citoquinas). Os modelos animais têm confirmado a validade destas assunções. Os estudos em humanos (sobretudo no RN pré termo) foram recentemente revistos e num total de cinco estudos seleccionados, estavam incluídos 1267 RN (17). Apesar da falta de uniformidade dos referidos trabalhos, especialmente quanto ao tipo de probióticos (na maioria lactobacilos e bifidobactérias, mas também *Saccharomyces boulardii* e *Streptococcus thermophilus*) e quanto à dosagem utilizada (nunca inferior a 10<sup>9</sup> CFU/dia) verifica-se um efeito benéfico na prevenção, principalmente as formas iguais ou superiores a 2 na classificação de Bell, e na mortalidade, mas o efeito depende da incidência habitual de NEC nas unidades de cuidados intensivos neonatais, sendo o efeito não apreciável naquelas com baixa incidência desta patologia. Um outro estudo mais recente, realizado em 2008 em Taiwan, mostra benefícios estatisticamente significativos no uso de uma mistura de *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus acidophilus* na prevenção da incidência (estádio de Bell igual ou superior a 2) ou mortalidade por NEC (18).

Como conclusão, o uso de probióticos na idade pediátrica, isolados ou em associação, directamente ou adicionados a produtos alimentares, pode considerar-se globalmente seguro e promissor, com eficácia comprovada (ainda que os efeitos não sejam espectaculares) em várias situações: GEA a rotavírus, diarreia associada aos antibióticos, prevenção da NEC nas unidades de cuidados intensivos neonatais, prevenção da dermatite atópica. Novos estudos metodologicamente correctos, serão bem vindos para confirmar ou infirmar estas tendências, sugerir novos campos de aplicação e reafirmar o perfil de segurança destes produtos. No entanto, e porque estamos a falar de uma idade em que muitas vezes os efeitos deletérios de intervenções precoces só se tornam óbvios bastante mais tarde, convém ter em conta as recomendações prudentes do comité de nutrição da European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) em relação à suplementação de alimentos infantis com probióticos (19):

“O comité recomenda que, quando se adicionarem probióticos a produtos dietéticos para lactentes, só sejam utilizadas: 1. estirpes bacterianas para as quais a identidade e estabilidade genética foram demonstradas por métodos culturais e moleculares; 2: estirpes consideradas seguras.”

“Cada estirpe a usar deve ser avaliada num espectro de doses indicadas para uso humano, devendo ser definida a dose mínima que garanta uma eficácia óptima”

## Bibliografia

---

1. Parracho H, Mc Cartney AL, Gibson GR. Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *Proc Nutr Soc* 2007; 66:405-411.
2. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30:61-67.
3. Penders J, Thijs C, Vink C, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118(2):511-521.
4. Neu J, Douglas-Escobar M, Lopez M. Microbes and the developing gastrointestinal tract. *Nutr Clin Pract* 2007; 22:174-182.
5. Servin AL. Antagonistic activities of Lactobacilli and Bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev* 2004; 28:405-440.
6. Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpaa P, et al. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (2 suppl): 444S-450S.
7. MacDonald TT, Gordon JN. Bacterial regulation of intestinal immune responses. *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 401-408.
8. Saavedra JM. Use of probiotics in Pediatrics: rationale, mechanisms of action and practical aspects. *Nutr Clin Pract* 2007; 22: 351-365
9. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, et al. Safety of probiotics that contain Lactobacilli or Bifidobacteria. *Clin Infect Dis* 2003; 36:775-780.
10. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, et al. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005; 115:178-181.
11. Hannequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, et al. Possible roles of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19 :16-20.
12. Tynkkynen S, Singh KV, Varmanen P. Vancomycin resistance factor of *Lactobacillus rhamnosus* GG in relation to Enterococcal vancomycin resistance(*van*) genes. *Int J Food Microbiol* 1998; 41:195-204.
13. Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, et al. Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 261-267.
14. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, et al. Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic treatment: randomized, double-blind, placebo – controlled trial. *Pediatrics* 2008; 122(1): 8-12.
15. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4 year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869-1871.
16. Szaweska H, Mala S, Mrukowick J, et al. Probiotics in gastrointestinal diseases in children : hard and not-so-hard evidence of efficacy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006 ; 42 : 454-475
17. Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight : a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet* 2007; 369:1614-1620
18. Lin HC, Hsu CH, Chen HL, et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter , randomized controlled trial. *Pediatrics* 2008; 122: 693-700
19. Agostoni C, Axelson I, Braegger C, et al. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004 ; 38:365-374

# PRODUTOS, ALEGAÇÕES DE SAÚDE E CRITÉRIOS DE SELECÇÃO

Ana Gomes



## 1. POTENCIAL DE MERCADO

Os alimentos funcionais são aqueles que apresentam substâncias com distintas funções biológicas, denominadas componentes bioactivos, e que são capazes de modular a fisiologia do organismo, garantindo a manutenção do estado geral de saúde.

Neste contexto, onde se conjuga alimentação e saúde, os probióticos e os prebióticos constituem um grupo de alimentos funcionais que merecem maior atenção: os alimentos pré- e probióticos ou os alimentos simbióticos quando ambos os ingredientes compõem o género alimentício. Ao longo das duas últimas décadas têm surgido no mercado agro-alimentar mundial várias especialidades lácteas fermentadas, contendo bactérias lácticas como as espécies probióticas de *Bifidobacterium* ou de *Lactobacillus*, conjugadas ou não com substâncias prebióticas como os fructo-oligosacáridos ou inulina, as quais têm sido alvo de muita procura e interesse por parte do consumidor. Com efeito, benefícios como o equilíbrio ou o bom funcionamento da flora intestinal, a regulação do sistema imunitário intestinal ou o reforço da barreira intestinal são exemplos reclamados por cada um destes produtos com base em evidência clínica robusta. A comercialização destes produtos tem tido um enorme sucesso na Europa, Ásia, e, mais recentemente, em outras regiões do mundo como os Estados Unidos da América. Este sucesso comercial promoverá necessariamente uma investigação e desenvolvimento de produtos adicionais de forma cuidada e cientificamente validada o que por sua vez suportará a sua recomendação por profissionais de saúde e o seu consumo alargado por parte do consumidor.

## 2. ALEGAÇÃO DE SAÚDE

A estratégia comunitária em matéria de Política dos Consumidores para 2007-2013 sublinha que a possibilidade de fazer escolhas a partir de informações nutricionais nos rótulos dos alimentos é fundamental tanto para assegurar uma verdadeira concorrência como para garantir o bem-estar dos consumidores.<sup>1, 2</sup> Em Portugal, o Regulamento (CE) nº 1924/2006 de 20 de Dezembro de 2006<sup>3</sup>, com entrada em vigor em 19 de Janeiro de 2007, e aplicável desde 1 de Julho de 2007 constitui a primeira peça da legislação que regulamenta especificamente as alegações nutricionais e de saúde indicando os procedimentos para registo de um alimento com alegação nutricional e/ou de saúde na respectiva rotulagem. De acordo com o Regulamento:

- alegação nutricional: é aquela que refere, sugere ou implica que um alimento possui propriedades benéficas particulares relativas à energia (fornece muita ou pouca) e/ou a um nutriente/constituente específico (contém ou não contém);
- alegação de saúde: é qualquer declaração que refere, sugere ou implica uma relação entre um alimento ou um dos seus constituintes e a saúde. Este tipo de alegações refere-se a funções fisiológicas de um componente, e tem de ser baseada em dados científicos confirmados e aceites e deve ser compreensível para o consumidor comum;

- alegação de saúde associada à redução do risco de doença: é um tipo particular de alegação, que sugere que um alimento ou um dos seus constituintes reduz significativamente o risco de aparecimento de uma doença humana. Pela primeira vez, é permitido mencionar doenças nos rótulos alimentares, desde que tenha a aprovação da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA).

No contexto internacional os Estados Unidos, em 1985 foi o primeiro país a decretar uma lei para alegações de saúde para alimentos que contém naturalmente o nutriente. Depois disso, o Japão foi o primeiro país a permitir alegações de saúde para alimentos funcionais no âmbito do programa nacional FOSHU (FOod for Specific Health Use). A título de exemplo a FDA tem aprovado 14 alegações de saúde.<sup>4</sup>

A nível europeu registam-se dificuldades para a adopção de uma lista harmonizada de alegações de saúde, uma vez que são grandes as disparidades de critérios adoptados pelos diversos Estados-membros. Nesse sentido, e na sequência do regulamento 1924/2006 a harmonização duma lista comunitária de alegações de saúde só estará concluída no final de 2010.

De acordo com a calendarização prevista os Estados-membros remeteram à Comissão, durante o ano 2008, a lista de alegações de saúde autorizadas no seu território, baseadas em dados científicos aceites. As alegações serão agora devidamente analisadas pela EFSA, a instituição científica que apoia a Comissão Europeia nas suas decisões, num prazo de 2 anos, e a adopção de uma lista de declarações de saúde autorizadas, acompanhadas com as respectivas condições de utilização está prevista para o final de Janeiro de 2010. As empresas que queiram fazer novas alegações sobre qualquer alimento ou bebida terão de apresentar uma proposta à EFSA, sustentada em evidência cientificamente comprovada, seguindo o procedimento de aceitação. No que diz respeito às alegações de redução de risco de doença ou as relacionadas com a saúde infantil, prevê-se a existência de procedimentos mais exaustivos. É exigida a elaboração de um Dossier Técnico Científico contendo informações detalhadas sobre o produto, a descrição da metodologia analítica para avaliação dos componentes objecto da alegação, além de informações sobre o desenho e dizeres de rotulagem do produto. Na composição do dossier são também exigidas a inclusão de evidências científicas aplicáveis, conforme o caso, à comprovação da alegação de saúde estrutura função ou de redução do risco de doença resultando de ensaios nutricionais e ou fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação, ensaios bioquímicos, estudos epidemiológicos, ensaios clínicos, comprovação de uso tradicional sem danos à saúde, e de evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecida sobre as propriedades e características do produto.<sup>3</sup>

### **3. PROBIÓTICOS E ALEGAÇÕES DE SAÚDE**

Ao longo dos últimos 5 anos temos assistido a uma explosão tremenda de novas culturas de bactérias intituladas probióticas, cada uma associada a um conjunto de benefícios e funcionalidades. Neste contexto, as alegações de saúde cientificamente validadas continuam a ser uma prioridade absoluta para aquelas indústrias que procuram nos benefícios biológicos que as suas estirpes possam promover, suporte para a promoção do seu probiótico particular. A comunidade científica enfrenta um desafio ainda maior em ter que identificar objectivamente relações causa – efeito para muitas das espécies potencialmente probióticas presentemente sob investigação. A selecção criteriosa de estirpes probióticas em termos de viabilidade, colonização e adesão, continua a ser um desafio e requer uma plataforma de informação básica relacionada com a fisiologia e genética de estirpes

candidatas importantes pelos seus papéis sob o intestino, estimulação da função imune e/ou interação com outra microflora residente. Certamente, os estudos relatados na literatura científica reforçam as evidências de que algumas estirpes probióticas são poderosas aliadas do organismo pelos seus efeitos na modulação da microflora intestinal. Para algumas estirpes existem já alguns estudos que indicam o tipo e magnitude dos seus efeitos no corpo humano *in vivo*, com base nas mudanças observadas em biomarcadores de resposta rápida. Todavia os efeitos *in vivo* apesar de significativos, são mais limitados. As razões para tal são: (i) falta de biomarcadores validados para estudos *in vivo*; (ii) conhecimento ainda limitado dos mecanismos fisiológicos e moleculares que provocam o efeito protector, (iii) dados clínicos disponíveis são apenas aplicáveis às estirpes estudadas e não passíveis de extrapolação a outras estirpes da mesma espécie; (iv) conhecimento pouco aprofundado das sinergias entre estirpes e relação com patologias diferentes; (iii) ausência de estudos a longo prazo em populações alargadas e multicentro, e (iv) ausência de estudos farmacocinéticos para definição de dose-efeito: efeito profilático vs efeito terapêutico.<sup>6</sup>

#### 4. CRITÉRIOS DE SELECÇÃO – SUPORTE CIENTIFICO

As alegações que sustentam os efeitos benéficos dos probióticos podem adoptar formas diferentes, dependendo do uso que se pretende do produto. As mais comuns são aquelas que relacionam os probióticos com a estrutura e funcionamento normal do corpo humano, enquadrando-se no grupo das “alegações de saúde estrutura-função”, as quais serão corroboradas por resultados consistentes derivados de ensaios clínicos em humanos bem desenhados, duplamente cegos e controlados com placebo. Apesar dos estudos *in vitro* e em animais serem importantes para desenvolver estratégias clínicas, não são considerados suficientes para suportar tais alegações.

Neste contexto, o Conselho para a Ciência e Tecnologia Agrícolas publicou recentemente um trabalho ([www.cast-science.org](http://www.cast-science.org)), corroborado entretanto por outros investigadores<sup>6, 7</sup>, onde afirmam a necessidade emergente de aplicar medidas estreitas de controlo de denominação e validação científica em defesa da ciência e do consumidor, com base em factos como:

- Actualmente os produtos podem ser rotulados como alimentos probióticos ainda que careçam de uma caracterização adequada ou de estudos controlados em humanos demonstrando a sua eficácia,
- O ritmo da investigação sobre os probióticos tem acelerado substancialmente nos últimos anos,
- Para alguns produtos, existem diferenças importantes entre a eficácia demonstrada na investigação e o afirmado no mercado; têm sido documentadas situações para as quais os produtos não cumprem as alegações que figuram nos respectivos rótulos no que concerne o número e tipo de microrganismos viáveis presentes, bem como a quantidade necessária a consumir para constatação de um benefício para a saúde.

Assim, é fortemente aconselhado por toda a comunidade científica que a introdução de novas estirpes probióticas para uso em seres humanos, deverá ser devidamente suportada com evidência científica sólida sobre os aspectos funcionais e a inocuidade dos probióticos nos géneros alimentícios seguindo as regras estabelecidas pelo grupo de trabalho da FAO/OMS.<sup>8</sup> Dado que as normas para as declarações de conteúdo e rotulagem sobre os produtos não estão estabelecidas universalmente e/ou não se aplicam universalmente, a indústria deve manter a integridade na formulação e rotulagem para manter a confiança do consumidor. São acrescentadas medidas de rotulagem específicas exigindo a declaração no rótulo do género, espécie, estirpe de cada probiótico incorporado no género alimentício, bem como indicação do número de células viáveis prevista no final do tempo de prateleira.

Para a selecção criteriosa de estirpes probióticas capazes de ostentar alegações de saúde devidamente comprovadas a FAO/OMS<sup>8</sup> apresenta um conjunto de directrizes sumariadas na Figura 2 e detalhadas nos seguintes itens:

#### **4.1 Definição e caracterização do probiótico**

O primeiro passo na selecção de uma estirpe probiótica é a determinação da sua classificação taxonómica, a qual poderá indicar a origem, habitat e fisiologia da estirpe sob estudo.<sup>9</sup> Não existindo uma definição legal do termo probiótico determina-se que, para ser denominada de probiótico, uma espécie bacteriana deve estar bem definida e administrada ao hospedeiro em dose adequada ao longo de todo o tempo de prateleira do produto (com variabilidade mínima de um lote para outro) no sentido de conferir benefícios fisiológicos devidamente definidos e comprovados em estudos controlados em humanos. Consta-se que não são apenas organismos comensais encontrados no intestino humano.<sup>10</sup> A identidade da estirpe é importante para estabelecer a relação causal entre estirpe e efeito benéfico para além de permitir estudos epidemiológicos e de vigilância adequados. Evidências científicas demonstram que os microrganismos probióticos podem ser muito diferentes uns dos outros, mesmo estirpes que se encontrem taxonomicamente próximas. Estas diferenças intrínsecas entre probióticos são respeitantes, nomeadamente, ao genoma, enzimas, resistência às agressões encontradas no tracto gastrointestinal (ácido, bilis), capacidade de aderência às células epiteliais em cultura, capacidade de produzir substâncias antimicrobianas etc.

Na abordagem da identificação adequada das estirpes identifica-se a necessidade de recorrer a metodologias actuais, robustas e universalmente aceites garantindo simultaneamente uma caracterização fenotípica e genotípica contribuindo assim para uma melhor identificação. Avanços consideráveis nos métodos de biologia molecular permitem tais objectivos.

#### **4.2 Dose**

O número de células viáveis empregues num produto deve ser consistente com aquele testado com sucesso em sede de ensaio clínico. Por exemplo, uma estirpe probiótica que tenha demonstrado eficácia numa dose de 1 bilhão ufc não poderá ser adicionada a um produto numa dosagem de 1000 ufc e ser denominado produto probiótico.<sup>11</sup> Efectivamente, a dose de probiótico necessária varia consideravelmente com a estirpe e o produto (alimento ou suplemento). Embora muitos produtos de venda livre proporcionem entre  $1-10 \times 10^{11}$  de ufc/dose, alguns produtos demonstraram ser eficazes a níveis mais baixos, enquanto outros requerem quantidades muito maiores. Por exemplo, *Bifidobacterium infantis* 35624 foi eficaz para aliviar os sintomas do Síndrome do Intestino Irritável a uma dosagem de  $1 \times 10^8$  ufc/dia<sup>12</sup>, enquanto existem estudos com VSL3 (uma mistura de 8 estirpes probióticas) que utilizaram  $3-4 \times 10^{11}$  ufc três vezes ao dia.<sup>13</sup> Não é possível estabelecer uma dose geral para os probióticos; a dosagem tem que estar baseada nos estudos em humanos que mostrem um real benefício para a saúde.

#### **4.3 Estudos *in vitro* para 'screening' inicial**

Pese embora os critérios de selecção incluam resistência à acidez gástrica e sais biliares, a capacidade de adesão às superfícies de mucosas e persistência no tracto GI e a capacidade antagonista contra patogénicos específicos, muitos dos estudos *in vitro* não são depois corroborados com estudos *in vivo*. Assim, é fortemente aconselhada a utilização da designação de potencial estirpe probiótica até comprovativo humano existente.

#### 4.4 Estudos em animais e ensaios clínicos

Os estudos em animais modelos existem para consubstanciar os efeitos *in vitro* e determinar o mecanismo probiótico. Sempre que apropriado, o grupo de trabalho da FAO/OMS<sup>8</sup> recomenda a sua implementação pré ensaios em humanos. Todavia, é de realçar que os estudos *in vitro* e em animais não reflectem a complexidade dos fenómenos até que eles tenham ocorrido no homem. Estudos clínicos são igualmente necessários para confirmar o papel dos prébióticos nas condições fisiológicas atribuídas.

#### 4.5 Capacidade tecnológica de estirpes probióticas

De modo a assegurar uma credibilidade alargada entre as comunidades científica e clínica é fundamental que os produtos probióticos contenham estirpes devidamente identificadas, com potencial terapêutico mas expressando igualmente uma boa capacidade tecnológica traduzida numa eficaz estabilidade e viabilidade ao longo do processamento, armazenamento, distribuição até ao momento de consumo.<sup>9</sup> São muitas as diferenças observadas entre estirpes da mesma espécie, em termos de factores tecnológicos, que podem afectar a viabilidade viz. parâmetros de crescimento, resistência aos factores ambientais e tolerância ao oxigénio e temperatura.<sup>14</sup> Para além das características intrínsecas às estirpes, as condições nas quais o probiótico é ingerido podem influenciar as suas propriedades ao nível do intestino. Assim, torna-se imprescindível avaliar o efeito do vector de administração sobre a eficácia tecnológica e biológica dos probióticos. Indubitavelmente, do ponto de vista alimentar são as matrizes lácteas as mais favoráveis à administração de estirpes probióticas; de realçar que estas contêm metabolitos que poderão estar na origem do efeito benéfico atribuído ao probiótico. Contudo, se alguns estudos demonstraram que certos efeitos fisiológicos são devidos ao ADN dos probióticos e aos metabolitos resultantes de preparações bacterianas, outros mostraram que os efeitos não são observáveis senão com preparações vivas (correspondendo à definição de probiótico).<sup>7</sup> De forma equivalente a incorporação de prebióticos relativamente frequente em géneros alimentícios também necessita de ser acompanhada de indicação da quantidade e natureza do produto a conferir benefícios suportada em estudos clínicos completos. A demonstração de um efeito sobre uma função intestinal não é sinónimo duma acção sobre a saúde: a relação efeito fisiológico-saúde deve ser objecto de análise documentada.

#### 4.6 Segurança das estirpes probióticas

A garantia da inocuidade das estirpes probióticas deve ser assegurada. Algumas espécies de lactobacilos e bifidobactérias são residentes normais ou transitam regularmente pelo aparelho digestivo humano não apresentando infecciosidade ou toxicidade. Em geral, as bactérias lácticas têm sido associadas a uma longa tradição de uso seguro em aplicações comerciais.<sup>15, 16</sup> São muito poucos os estudos que relatam efeitos prejudiciais pela ingestão de bactérias probióticas, embora algumas estirpes de *Lactobacillus* tenham sido isoladas de locais de infecção ou da corrente sanguínea.<sup>16, 17</sup> Os efeitos nocivos poderão estar teoricamente implicados com infecções sistémicas, actividades metabólicas colaterais, imunoestimulação excessiva e transferência de genes. Os casos relatados estão relacionados com *Lactobacillus*, *Sacharomyces* e *Bacillus subtilis*; não existem registos de efeitos colaterais associados ao consumo de *Bifidobacterium*

Segundo o relatório do grupo de trabalho conjunto FAO/OMS<sup>8</sup>, o exame dos aspectos patológicos, genéticos, toxicológicos, imunológicos, gastroenterológicos, e de segurança microbiológica das novas estirpes probióticas exige um enfoque multidisciplinar. A avaliação de segurança e a análise

toxicológica convencional não são suficientes, porque para beneficiar os humanos os probióticos deverão sobreviver e/ou se multiplicar. Assim recomenda-se que as estirpes probióticas sejam, no mínimo, caracterizadas nos seguintes parâmetros:

1. Determinação dos padrões de resistência aos antibióticos;
2. Avaliação de actividades metabólicas específicas (ex. produção de D-lactato, desconjugação de sais biliares);
3. Avaliação de efeitos colaterais em ensaios em humanos;
4. Vigilância epidemiológica de incidentes adversos em consumidores (pós-venda);
5. Se a estirpe sob avaliação pertencer a uma espécie produtora de toxinas então o potencial de produção de toxinas deve ser avaliado<sup>18</sup>;
6. Se a estirpe sob avaliação pertencer a uma espécie com potencial hemolítico, será necessário proceder à determinação da respectiva actividade hemolítica.

A avaliação da ausência de infecciosidade por probióticos em animais imunocomprometidos é recomendada como uma medida adicional de confiança relativamente à segurança de uma estirpe probiótica.

## **5. CONCLUSÃO**

Com base no anteriormente exposto é importante recordar que a sobrevivência no tracto intestinal das estirpes bacterianas ingeridas não implica forçosamente a existência de efeitos benéficos. Em contrapartida, a não sobrevivência também não implica a ausência de efeitos benéficos. A sobrevivência do probiótico, da ingestão ao local de actuação, depende particularmente da quantidade de produto ingerido, mas também da estirpe, dos factores ligados ao hospedeiro e do alimento vector. A maioria dos probióticos não coloniza por um período largo o aparelho digestivo: o seu efeito é transitório. Os efeitos dos prebióticos e probióticos são específicos à sua estrutura e à espécie considerada. Assim a justificação dos efeitos comuns a duas estirpes ou duas moléculas deverá ser objecto de uma demonstração eficaz por ensaios clínicos realizados com cada estirpe/molécula em cada vector apropriado. Só depois de assegurada uma comprovação científica sólida das propriedades benéficas de cada estirpe é que poderá ser possível a um produto comercial ostentar uma alegação de saúde, com a ressalva que esta seja entendível pelo consumidor. Desta forma, espera-se contribuir para que os projectos de desenvolvimento de produtos possam ser racionalizados, resultando em benefícios para os fabricantes, órgãos de saúde pública, confiança dos profissionais de saúde e para os consumidores.

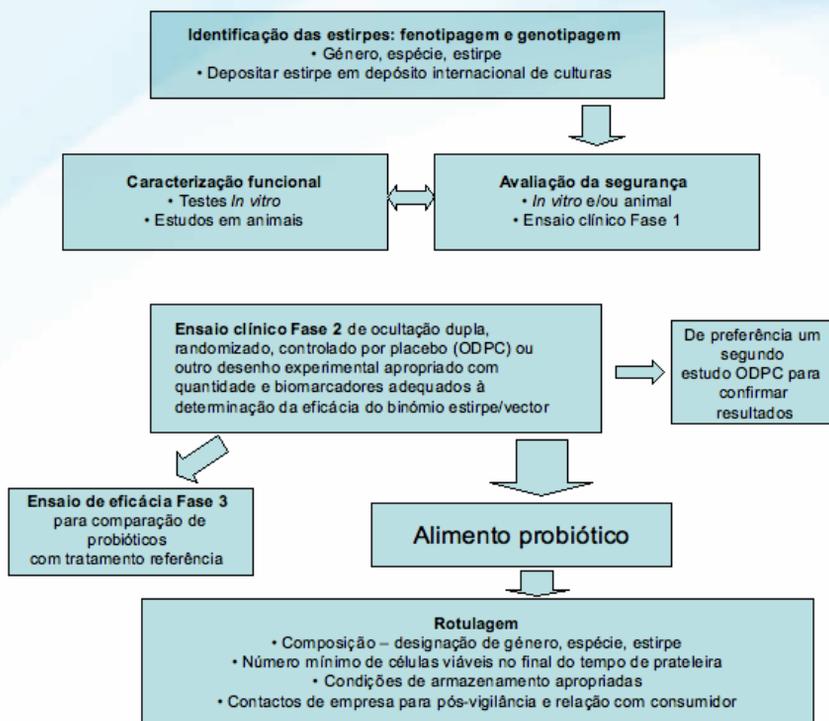


Figura 2. Diretrizes para a avaliação de estirpes probióticas para aplicações alimentares.

## Bibliografia

1. Kristal A, Levy L, Patterson R, Li S. (1998) Trends in food label use with new nutrition labeling regulations. *American Journal Public Health* 88, 1212-1215.
2. WHO. (2002) Expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Genova; 2002.
3. EFSA (2006) Regulamento 1924/2006. Disponível em:
4. [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/pt/oj/2007/L\\_012/L\\_01220070118pt00030018.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/pt/oj/2007/L_012/L_01220070118pt00030018.pdf)
5. Katan M.B. & Roos N.M. (2003). Toward evidence-based health claims for foods. *Science* 299, 206-207.
6. Reid, G. (2008) Probiotics and prebiotics – Progress and challenges. *International Dairy Journal* 18, 969–975
7. Vasiljevic, T. & Shah, N.P. (2008) Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal* 18, 714-728.
8. FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ont., Canada.
9. Morelli, L. (2007). In vitro assessment of probiotic bacteria: From survival to functionality. *International Dairy Journal* 17, 1278–1283.
10. Reid, G., Kim, S. O., & Kohler, G. A. (2006). Selecting, testing and understanding probiotic microorganisms. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 46, 149– 157.
11. Reid, G., & Bruce, A. W. (2006). Probiotics to prevent urinary tract infections: the rationale and evidence. *World Journal of Urology* 24, 28–32.

12. Whorwell, P.J. Whorwell, L. Altringer, J. Morel, Y. Bond, D. Charbonneau and L. O'Mahony (2006) Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome, *American Journal of Gastroenterology* 101, 1581–1590.
13. Kim HJ, Vazquez Roque MI, Camilleri M, et al. (2005). A randomized controlled trial of a probiotic combination VSL# 3 and placebo in irritable bowel syndrome with bloating. *Neurogastroenterology Motility* 17, 687–96.
14. Simpson, P. J., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., & Ross, R. P. (2005). Intrinsic tolerance of *Bifidobacterium* species to heat and oxygen and survival following spray drying and storage. *Journal of Applied Microbiology* 99, 493–501.
15. Adams MR, Marteau P (1995): *On the safety of lactic acid bacteria*. *International Journal Food Microbiology* 27: 263-264.
16. Salminen, M. K., Rautelin, H., Tynkkynen, S., Poussa, T., Saxelin, M., Valtonen, V. (2006). *Lactobacillus* bacteremia, species identification, and antimicrobial susceptibility of 85 blood isolates. *Clinical Infectious Diseases* 42, e35–e44.
17. Marteau, P. (2001). Safety aspect of probiotic products. *Scandinavian Journal of Nutrition* 45, 22–24.
18. SCAN (2000): *Report of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the Safety of Use of Bacillus Species in Animal Nutrition*. European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General.

Apoio

