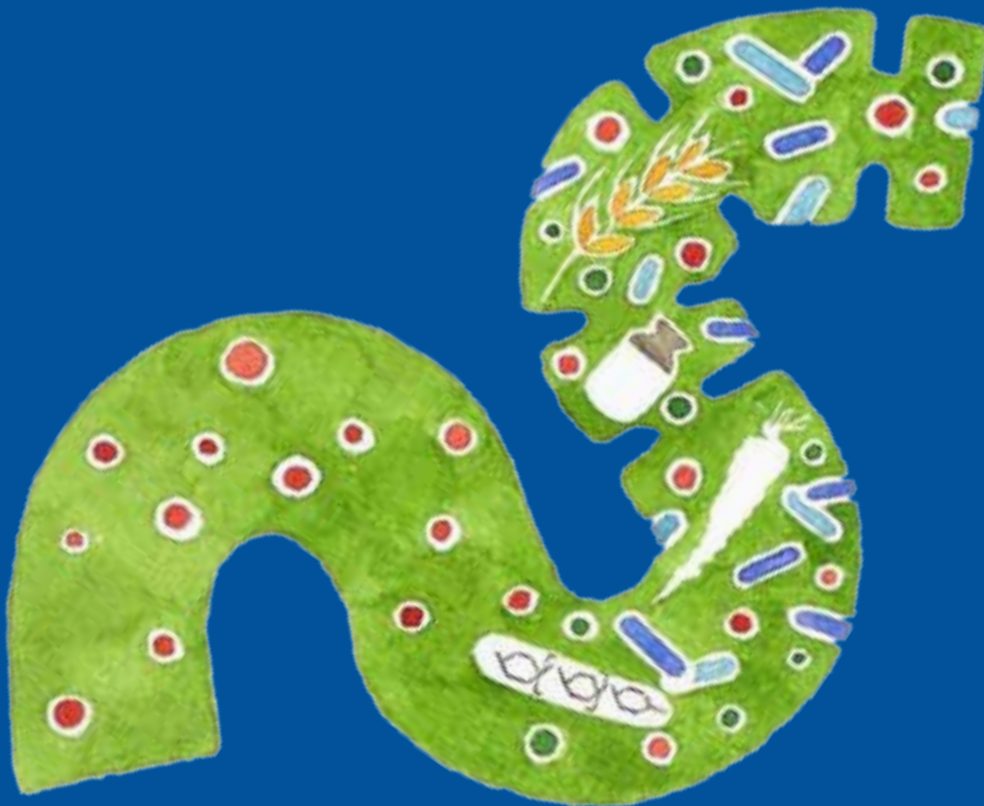


ILSI EUROPE CONCISE MONOGRAPH SERIES

PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E A MICROBIOTA INTESTINAL



SOBRE O ILSI / ILSI EUROPE

Fundado em 1978, o International Life Sciences Institute (ILSI) é uma organização global sem fins lucrativos destinada a melhorar o bem-estar do público em geral por meio do avanço da ciência. Seu objetivo é aprimorar o conhecimento de questões científicas relativas à nutrição, segurança alimentar, toxicologia, avaliação de risco e ao meio-ambiente. O ILSI é reconhecido globalmente pela qualidade das pesquisas que apoia, pelas conferências e workshops internacionais que patrocina, pelos projetos educacionais que inicia e pelas publicações que produz. A sede do ILSI localiza-se em Washington, DC. O instituto é afiliado à Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma organização não-governamental, com status consultivo diferenciado na Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) das Nações Unidas.

A divisão europeia, ILSI Europe, foi criada em 1986. O ILSI Europe promove a cooperação entre os melhores cientistas para a obtenção de consensos científicos, com base em evidências, a respeito das áreas acima mencionadas. Facilitando essa cooperação, o ILSI Europe auxilia cientistas de diversos setores da sociedade – públicos e privados – a melhor explorar questões complexas relativas à ciência e a saúde, compartilhando conhecimentos e perspectivas exclusivas.

O ILSI Europe promove o entendimento e a resolução de questões científicas por meio de grupos de especialistas, workshops, simpósios e publicações subsequentes. O objetivo primordial do ILSI Europe é aprimorar a saúde pública.

Todas as atividades do ILSI Europe são conduzidas sob a supervisão do Comitê Científico Consultivo. Com sua composição balanceada, o Comitê Científico Consultivo tem papel importante na avaliação de todas as atividades quanto à respectiva validade científica e coerência com a programação do ILSI Europe. O Comitê Científico Consultivo também é responsável por orientar o Conselho de Diretores. A política do ILSI estabelece que os Conselhos de Diretores do ILSI e das divisões do ILSI sejam, no mínimo, 50% compostos por cientistas do setor público; os diretores restantes são representantes das empresas-membro do ILSI.

Esta publicação foi realizada com o apoio dos Grupos de Trabalho de Prebióticos e Probióticos do ILSI Europe. Os membros desses grupos de trabalho provenientes da indústria, bem como a composição do Conselho de Diretores e do Comitê Científico Consultivo, estão descritos no website do ILSI Europe: www.ils.eu.

As opiniões ora expressas e as conclusões desta publicação são as opiniões do autor, e não representam necessariamente as visões do ILSI Europe ou de suas empresas-membro.

ILSI Europe Board of Directors

Non-industry members

Prof. A. Boobis, Imperial College London (UK)
Prof. G. Eisenbrand, University of Kaiserslautern (DE)
Prof. C.L. Galli, University of Milan (IT)
Prof. A. Grynberg, INRA – University Paris 13 (FR)
Prof. R. Hurrell, Federal Institute of Technology – ETH (CH)
Prof. D. Marko, Institute of Food Chemistry and Toxicology – University of Vienna (AT)
Prof. G. Rechkemmer, Max Rubner-Institut – Federal Research Institute of Nutrition and Food (DE)
Prof. A. Somogyi, Hungarian Ministry of Agriculture and Rural Development (HU)
Prof. V. Tutelyan, National Nutrition Institute (RU)
Prof. G. Varela-Moreiras, University San Pablo-CEU of Madrid (ES)

Industry members

Dr. M. Knowles, The Coca-Cola Company (BE)
Dr. G. Kozianowski, Südzucker/BENEOL Group (DE)
Prof. G. Meijer, Unilever (NL)
Dr. M. Michalik, PepsiCo International (PL)
Prof. J. O'Brien, Nestlé (CH)
Prof. C. Shortt, McNeil Nutritionals (UK)
Dr. J. Stowell, DuPont Nutrition & Health (UK)
Dr. G. Thompson, Danone (FR)
Dr. P. Weber, DSM (CH)

ILSI Europe Prebiotics Task Force industry members

Cargill
Cosucra Groupe Warcoing
Danisco Sweeteners Oy
Danone
FrieslandCampina
Kraft Europe
Mead Johnson Nutrition
Nestlé Research Center
Nexira
Pfizer Consumer Healthcare
Puratos
Roquette Frères
Sensus
Südzucker/BENEOL Group
Tate & Lyle Ingredients France
Tereos-Syral

ILSI Europe Probiotics Task Force industry members

Arla Foods
Cargill
Danone
Dicofarm
DuPont Nutrition and Health
FrieslandCampina
Mead Johnson Nutrition
Merck Médication Familiale s.a.s.
Nestlé Research Center
Pfizer Consumer Healthcare
Procter & Gamble
Yakult Europe B.V.

PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E A MICROBIOTA INTESTINAL

*por
Nino Binns*



© 2013 ILSI Europe

Esta publicação pode ser reproduzida para fins não-comerciais, em sua forma presente e integral, sem a necessidade de autorização do ILSI Europe. A reprodução parcial e o uso comercial ficam proibidos sem a permissão prévia por escrito do ILSI Europe.

“A Global Partnership for a Safer, Healthier World. ®”, a imagem com círculos concêntricos do logotipo do International Life Sciences Institute (ILSI), a logomarca “International Life Sciences Institute”, bem como a sigla “ILSI”, são marcas registradas do International Life Sciences Institute, e licenciadas para uso pelo ILSI Europe. O uso dos nomes comerciais e fontes comerciais neste documento serve exclusivamente para identificação e não implica nenhum endosso pelo ILSI Europe.

Para mais informações sobre o ILSI Europe, entre em contato

ILSI Europe a.i.s.b.l.
Avenue E. Mounier 83, Box 6
B-1200 Bruxelas
Bélgica
Tel: (+32) 2 771 00 14
Fax: (+32) 2 762 00 44
E-mail: info@ilsieurope.be
Website: www.ilsieurope.be

Impresso no Brasil

ISBN:

ILSI BRASIL
INTERNACIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE DO BRASIL
Rua Hungria, 664 – conj. 113
01455-904 – São Paulo – SP – Brasil
Tel./Fax: 55 (11) 3035 5585
e-mail: ilsibr@ilsieurope.be
© 2014 ILSI Brasil International Life Sciences Institute do Brasil

ÍNDICE

PREFÁCIO	1
INTRODUÇÃO	2
IMPORTÂNCIA DA MICROBIOTA DO TRATO GASTROINTESTINAL NA SAÚDE E NA DOENÇA	4
Microbiota do trato gastrointestinal	4
Fermentação e metabolismo bacteriano	6
A barreira epitelial gastrointestinal e o sistema imunológico	8
Técnicas de exploração da microbiota gastrointestinal	10
O CONCEITO DE PROBIÓTICOS	12
Definição e histórico	12
Seleção de probióticos candidatos	13
Caracterização e taxonomia	14
Segurança	14
Aplicação de probióticos nos alimentos	14
O CONCEITO DE PREBIÓTICOS	15
Definição e histórico	15
Caracterização dos ingredientes prebióticos	15
Critérios para seleção de prebióticos	16
Aplicação de prebióticos nos alimentos	17
EFEITOS DOS PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS NA SAÚDE	17
Desafios de pesquisa	17
Impacto dos prebióticos e probióticos no trato gastrointestinal	18
Impacto específico dos prebióticos no trato gastrointestinal	20
Impacto específico dos probióticos no trato gastrointestinal	22
Impacto nas respostas imunológicas	22
PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS: MECANISMOS DE AÇÃO	26
Mecanismo geral	26
Trato gastrointestinal e sua microbiota	27
Interação com o hospedeiro	28
ABREVIACÕES	29
CONCLUSÕES GERAIS	30
GLOSSÁRIO	31
MATERIAL DE REFERÊNCIA E LEITURAS RECOMENDADAS	32

Autor: Nino Binns, NB Consulting (Reino Unido)

Editores Científicos: Glenn. R. Gibson, Universidade de Reading (Reino Unido);
Mary Ellen Sanders, Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (Estados Unidos)

Revisores Científicos: Nathalie Delzenne, Universidade Católica de Louvain (Bélgica)
e Lorenzo Morelli, Universidade Católica de Piacenza, (Itália)

Editor da Série Monografias Concisas: John Howlett (Reino Unido)

Coordenadores: Agnès Méheust, Massimo Ambrosio e Alessandro Chiodini, ILSI Europe (Bélgica)

Traduzido por: J. I. Nelson Gonzalez

Revisor científico da versão em português: Prof. Dra. Maricê N. Oliveira, Universidade de São Paulo

PREFÁCIO

Desde a introdução do conceito de alimentos funcionais no Japão nos anos 1980, observa-se um interesse crescente nos prebióticos e probióticos, nas combinações sinérgicas desses elementos, conhecidas como simbióticos, e na importância desses conceitos para a nutrição humana. Atualmente, os prebióticos e probióticos são frequentemente encontrados em uma variedade de produtos para bebês, crianças e adultos. Qual é o interesse dos consumidores nesses ingredientes? Por definição, tanto os prebióticos quanto os probióticos conferem possíveis benefícios à saúde. A população geral está cada vez mais interessada na manutenção da saúde e nos cuidados pessoais, e isso pode ser uma explicação para o interesse dos consumidores.

Prebióticos e probióticos exercem seus efeitos, pelo menos até certo ponto, por meio da modulação da microbiota intestinal (conhecida anteriormente como microflora). Recentemente, foram publicados resultados de iniciativas de pesquisa multidisciplinar para elucidar a composição e a função da microbiota intestinal, bem como o papel dos prebióticos e probióticos. Sendo assim, este é um momento apropriado e oportuno para se apresentar um resumo desses achados, no contexto de prebióticos e probióticos.

Devido à ausência de informações objetivas e facilmente compreensíveis para cientistas não-especialistas interessados no assunto, os Grupos de Trabalho de Prebióticos e Probióticos do ILSI Europe decidiram iniciar a redação de uma monografia concisa, com contribuições de especialistas da área.

O objetivo da monografia é discutir em termos compreensíveis os abundantes conhecimentos científicos atuais sobre prebióticos, probióticos e a microbiota intestinal, inclusive os efeitos resultantes sobre o hospedeiro. A monografia não aborda em detalhes os aspectos regulatórios relativos ao assunto. O desafio para as ciências nutricionais não é combater doenças usando fármacos, mas

sim oferecer manutenção e suporte à saúde, reduzindo o risco de aparecimento de doenças. Em vez de testar desfechos clínicos relacionados à remissão de doenças, nos estudos de intervenção nutricional, são os marcadores de saúde e doença que devem ser acompanhados e validados. Para influenciar os biomarcadores de risco de doenças, muitas vezes precisamos de conhecimentos aprofundados a respeito dos mecanismos subjacentes envolvidos. É assim que as futuras pesquisas na área de prebióticos e probióticos contribuirão para aumentar o conhecimento e as evidências atualmente existentes. Com a complexidade desses elementos e dos sistemas com os quais eles interagem (a microbiota intestinal, o sistema imunológico etc.), compreender os mecanismos envolvidos é um desafio em termos de ciência.

No entanto, a compreensão da ciência por trás dos mecanismos dos prebióticos e probióticos aumentou substancialmente na última década, e as iniciativas nessa área são cada vez mais numerosas, o que nos deixa confiantes de que mais conhecimento científico será gerado. Até o momento, já foram documentadas evidências de muitos possíveis benefícios dos diferentes probióticos e prebióticos na saúde, sendo que os efeitos são frequentemente específicos de um determinado produto ou estirpe. O surgimento de novas ferramentas fisiológicas e analíticas, inseridas no contexto da pesquisa multidisciplinar, permitirá melhor entendimento dos mecanismos envolvidos. Esse entendimento fará parte de nossa compreensão geral dos efeitos dos prebióticos, probióticos e simbióticos na saúde.

Temos certeza de que esta monografia concisa, baseada em sólidas evidências científicas, ajudará a informar um público bastante abrangente a respeito da nutrição com prebióticos, probióticos e simbióticos.

Bernd Stahl, Pesquisa Danone, Alemanha
Arthur Ouwehand, DuPont Nutrição e Saúde, Finlândia

INTRODUÇÃO

Os micróbios, ou micro-organismos, incluem bactérias, fungos, leveduras e algas. Podem ser encontrados em qualquer lugar do planeta, inclusive ambientes hostis, como os vulcões, o leito do oceano e os desertos. São incrivelmente diversificados e adaptaram-se ao longo de milhões de anos para ocupar seus próprios nichos particulares. Em relação aos humanos, os micro-organismos são bem conhecidos por causarem doenças, mas também desenvolveram, durante milênios, o poder de trazer benefícios para a humanidade. Os micro-organismos são utilizados na produção de alimentos fermentados, incluindo laticínios, pães, vegetais e, logicamente, vinhos e cervejas, entre outros. Graças a seu potencial de ação extremamente seletiva, também são indispensáveis para o desenvolvimento e a produção de fármacos, como os antibióticos, e para a produção de ingredientes alimentares, como as vitaminas e o ácido cítrico. Os micro-organismos também estão envolvidos na produção de muitas outras substâncias químicas e enzimas, e são usados no processamento do lixo.

A maioria das 10^{14} bactérias do intestino é encontrada no intestino grosso (cólon) e, nos últimos 30 anos ou mais, o interesse na população microbiana intestinal – a microbiota – e em seu ambiente tem se intensificado. Muitas pesquisas demonstraram que os residentes habituais do intestino (micro-organismos comensais) estão longe de ser apenas habitantes passivos do trato gastrointestinal (GI), mas interagem com seu hospedeiro de forma bastante intrincada. Eles são capazes de modular os efeitos de bactérias potencialmente nocivas, causar impacto no trato gastrointestinal, na digestão, no metabolismo e no sistema imunológico do hospedeiro, e até influenciar funções muito além do intestino.

O conceito de que as bactérias contidas nos alimentos podem beneficiar a saúde surgiu no começo do século

20 e é frequentemente atribuído ao cientista russo Ilya Metchnikoff, ganhador do Prêmio Nobel. Ele criou a hipótese de que o consumo de grandes quantidades de leites fermentados contendo bactérias do tipo *Lactobacillus* (“leite azedo”) poderia proporcionar maior longevidade e qualidade de vida, já que essas bactérias chegavam ao cólon e limitavam as atividades de micro-organismos indesejáveis. Metchnikoff, portanto, considerou o trato intestinal como um órgão que poderia ser manipulado para melhorar a saúde, colocando-se bactérias exógenas no intestino. Foi assim que produtos como iogurtes e leites fermentados ganharam popularidade após a Primeira Guerra Mundial, mas foi somente nos anos 1980 que a venda desses itens contendo probióticos começou a crescer rapidamente – primeiramente no Japão e, depois, na Europa, durante os anos 90.

Bactérias probióticas podem ser definidas como “*micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, proporcionam benefícios à saúde do hospedeiro*” (FAO/OMS 2001). Elas podem interagir com bactérias comensais e também podem ter impacto direto sobre o hospedeiro. A compreensão dessas interações é um dos principais desafios de futuras pesquisas. Outros desafios importantes incluem compreender os mecanismos de ação dessas bactérias, explicar de forma mais específica quais estirpes de probióticos podem oferecer quais benefícios à saúde, e definir os níveis de consumo necessários para atingir esses efeitos.

O conceito de prebióticos surgiu mais recentemente. Os japoneses foram os primeiros a reconhecer o valor dos oligossacarídeos não-digeríveis, inicialmente em rações animais, já que a adição desses ingredientes à alimentação de leitões ajudava a aliviar e prevenir fezes líquidas (diarreia). Os pesquisadores japoneses reconheceram também o valor dos oligossacarídeos no leite humano e demonstraram posteriormente que o consumo de fruto-oligossacarídeos

(FOS) e galacto-oligosacarídeos (GOS) levava a um aumento nas bifidobactérias intestinais e estimulava o crescimento desses micro-organismos no intestino humano. No entanto, somente em 1995 foi introduzido o conceito científico de modulação da microbiota intestinal humana por “prebióticos”. Desde então, uma miríade de informações de pesquisas tem se acumulado. Prebióticos podem ser definidos como *“ingredientes seletivamente fermentados, que resultam em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, proporcionando benefícios para a saúde do hospedeiro”* (Gibson et al., 2011).

Atualmente, mais de 60% dos alimentos funcionais destinam-se à melhora da saúde digestiva, sendo provavelmente os prebióticos e probióticos os mais comuns em todo o mundo. Os probióticos e prebióticos exercem seus efeitos no hospedeiro pelo intestino, utilizando mecanismos de ação distintos, bem como complementares.

Esta monografia concisa descreve os conceitos de probióticos e prebióticos para utilização na dieta humana e explora as bases científicas dos potenciais benefícios para a saúde humana. Em termos gerais, as pesquisas até o momento indicam que esses ingredientes alimentares oferecem possíveis benefícios e não geram nenhum risco à saúde. Na verdade, uma variedade de prebióticos e probióticos naturais, principalmente dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Saccharomyces*, já é consumida há muito tempo em todo o mundo, seja como parte de dietas tradicionais, ou na forma de alimentos funcionais modernos.

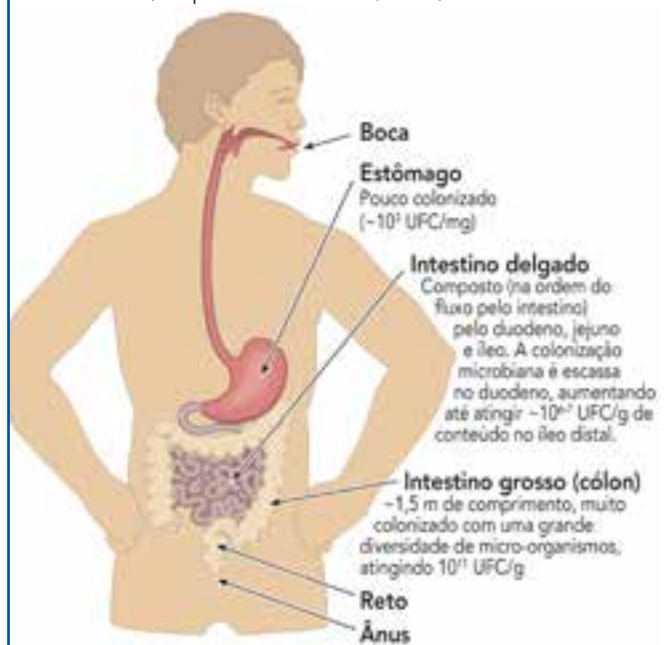
IMPORTÂNCIA DA MICROBIOTA DO TRATO GASTROINTESTINAL NA SAÚDE E NA DOENÇA

Microbiota do trato gastrointestinal

As bactérias coabitam normalmente com humanos e encontram-se associadas a vários tecidos, incluindo a pele, o trato vaginal, o trato respiratório e o trato gastrointestinal. Os micro-organismos ocorrem em todo o trato gastrointestinal (Figura 1), sendo que a maioria reside no cólon.

FIGURA 1.

Trato gastrointestinal humano. UFC, unidades formadoras de colônias (adaptado de Sanders, 2007).



As mais comuns dentre as várias bactérias que habitam a cavidade oral são os estreptococos. As bactérias não colonizam o estômago em grandes quantidades, devido ao baixo pH e ao trânsito rápido desse órgão; ainda assim, no estômago de um adulto saudável, pode haver 10^3 bactérias para cada mililitro (mL) de conteúdo gástrico, sendo os principais habitantes os lactobacilos, enterococos, helicobactérias e bacilos.

O duodeno também tende a ser ácido e apresenta trânsito rápido; além disso, recebe secreções pancreáticas e bile, que criam um ambiente hostil para os micro-organismos.

Ali, predominam os lactobacilos e estreptococos, com números totais em torno de 10^2 – 10^4 por mililitro. No jejuno e, particularmente, no íleo, há aumento gradual no número e na diversidade das bactérias presentes.

Finalmente, o cólon contém a maior parte dos micro-organismos gastrointestinais, com até 10^{11} organismos por mililitro. Antes do nascimento, não há micro-organismos presentes no trato gastrointestinal, mas a colonização ocorre rapidamente durante ou após o parto. A microbiota exata a ser desenvolvida depende de fatores como o tipo de parto e o ambiente em que este ocorre, a microbiota da mãe e a forma de alimentação. As bifidobactérias dominam a microbiota fecal de bebês saudáveis alimentados com leite materno; já os bebês saudáveis alimentados com fórmula apresentam variedade maior de organismos presentes, incluindo bifidobactérias, bacteroidetes, clostrídios, enterobactérias e estreptococos. No desmame, ocorrem alterações no número e na diversidade da microbiota intestinal, que gradualmente passa a se parecer com a dos adultos.

Quando a microbiota adulta se estabelece, mais ou menos aos 2-3 anos de idade, ela é relativamente estável em um mesmo indivíduo, mas ainda pode ser influenciada pela dieta, doenças, uso de medicamentos (principalmente antibióticos) e envelhecimento.

Os micro-organismos intestinais podem ser comensais (micro-organismos colonizadores nativos de uma pessoa) ou temporários (micro-organismos de passagem). Além disso, esses micro-organismos podem ser benéficos, potencialmente nocivos ou patogênicos. Os micro-organismos considerados benéficos geralmente fermentam carboidratos, não produzem toxinas e podem proporcionar uma série de potenciais benefícios para o hospedeiro, como a interação com o sistema imunológico e a inibição competitiva de patógenos. Esses micro-organismos incluem os gêneros *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Lactobacillus*.

O intestino delgado é o principal alvo de muitas infecções exógenas, como as causadas por rotavírus, *Salmonella typhimurium* e alguns tipos de *Escherichia coli*, geralmente contraídos a partir de água ou alimentos contaminados. No entanto, todos os indivíduos carregam micro-organismos com potencial patogênico oportunista. Entre os mais importantes, encontra-se o *Clostridium difficile*, que pode se tornar proeminente e causar diarreia e inflamação graves, caso as condições no intestino sejam alteradas por doença ou medicamentos. O *C. difficile* frequentemente torna-se um patógeno transmissível pela contaminação de alimentos ou superfícies, especialmente em hospitais e casas de repouso. Outros micro-organismos colônicos indesejáveis, como as bactérias peptolíticas e as redutoras de sulfato, não causam doenças agudas, mas podem estar associados à produção de toxinas, pré-carcinógenos, carcinógenos e gases tóxicos (como sulfeto de hidrogênio). Isso pode resultar no aumento da susceptibilidade do hospedeiro a patógenos temporários, diarreia associada a antibióticos e, possivelmente, doença inflamatória do intestino e síndrome do intestino irritável.

Os probióticos são temporários, embora alguns deles possam pertencer a espécies que também são organismos comensais usuais. Alguns probióticos, embora não todos, também são capazes de se replicar e persistir no intestino, pelo menos temporariamente, mas desaparecem alguns dias após a interrupção de sua ingestão.

Embora as pesquisas recentes tenham fornecido grande quantidade de informações sobre a composição geral da microbiota intestinal, há pouca certeza em relação à composição microbiana normal (eubiose) do intestino. Isso se deve, em partes, à dificuldade de se estudar o que acontece dentro do trato gastrointestinal de um indivíduo saudável. Portanto, não há definição do que seria uma microbiota "normal" ou "saudável", embora isso seja um dos objetivos primordiais das pesquisas atuais. Os indivíduos podem apresentar uma microbiota razoavelmente estável, mas a variação interindividual existente é considerável.

Desvios na composição ou função da microbiota usual, conhecidos como disbiose, foram observados em alguns estados patológicos (Tabela 1), mas não se sabe se a alteração da microbiota é que causa, total ou parcialmente, o estado patológico, ou se a alteração nos micro-organismos é uma consequência da própria doença. Alterações na microbiota podem certamente ser causadas por uma infecção gastrointestinal ou pelo uso de antibióticos orais para o tratamento de doenças, mas essas alterações normalmente se corrigem rapidamente sem intervenção, e a microbiota do indivíduo em questão acaba voltando ao "normal". Entretanto, o uso recorrente de antibióticos pode resultar em uma microbiota permanentemente alterada. Um dos objetivos das pesquisas é determinar se os prebióticos e probióticos podem acelerar ou melhorar a correção da microbiota após a ocorrência de uma agressão.

TABELA 1.
Estados patológicos que já foram associados a alterações na microbiota gastrointestinal (adaptado de Sanders, 2011)

Atopia (alergia) e asma
Doença celíaca
Câncer de cólon
Diabetes tipo I

Diabetes tipo II
Infecção por HIV
Doença inflamatória do intestino (DII)
Síndrome do intestino irritável (SII)
Infecções gastrointestinais
Diarreia associada a antibióticos (DAA)
Enterocolite necrosante
Obesidade
Artrite reumatoide

Pesquisas atuais também sugerem que uma microbiota normal não é simplesmente uma coleção de micro-organismos, mas reflete uma inter-relação entre

diferentes grupos que, possivelmente, trabalham juntos para beneficiar o hospedeiro. Além disso, acredita-se atualmente que a existência de uma grande diversidade de organismos no trato gastrointestinal seria benéfica ao hospedeiro.

Fermentação e metabolismo bacteriano

Como organismos vivos, todos os micro-organismos necessitam de uma fonte de energia para poder crescer e se reproduzir. Muitos micro-organismos fermentam carboidratos (fermentação sacarolítica), uma atividade aproveitada pelos humanos para a produção de diversos

TABELA 2.

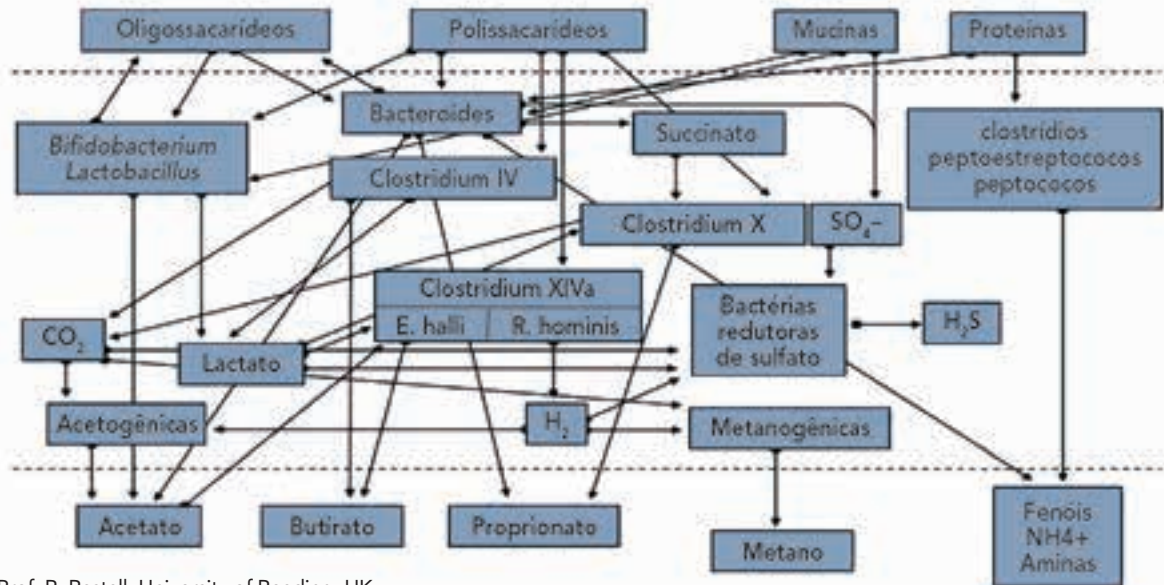
Bactérias, modos de ação nos substratos e produtos de fermentação (adaptado de Salminen, 1998)

Bactérias	Modo de ação nos substratos	Produtos de fermentação
<i>Bacteroides</i>	Sacarolíticas, peptolíticas, fermentadoras de aminoácidos	Ac, Pr, Su, Am
<i>Eubactérias</i>	Sacarolíticas, algumas espécies fermentadoras de aminoácidos	Ac, Bu, La, Am, Sul
<i>Bifidobactérias</i>	Sacarolíticas	Ac, La, f, EtOH
<i>Ruminococos</i>	Sacarolíticas	Ac
<i>Peptoestreptococos</i>	Sacarolíticas, algumas espécies fermentadoras de aminoácidos	Ac, La, Am
<i>Peptococos</i>	Fermentadoras de aminoácidos	Ac, Bu, La, Am
<i>Clostrídios</i>	Sacarolíticas, algumas espécies fermentadoras de aminoácidos	Ac, Pr, Bu, La, EtOH, Am, Sul
<i>Lactobacilos</i>	Sacarolíticas	La
<i>Propionibactérias</i>	Sacarolíticas, fermentadoras de lactato	Ac, Pr, Am
<i>Actinomicetos</i>	Sacarolíticas	Ac, Pr
<i>Streptococos</i>	Fermentadoras de carboidratos e aminoácidos	La, Ac, Am, Sul
<i>Metanobrevibactérias</i>	Quimiolitotróficas	CH ₄
<i>Escherichia</i>	Fermentadoras de carboidratos e aminoácidos	Ácidos mistos, Am
<i>Desulfovibrio</i>	Vários	Ac, Sul
<i>Fusobactérias</i>	Fermentadoras de aminoácidos, assimiladoras de carboidratos	Bu, Ac, La, Am, Sul

aa: aminoácidos; Ac: acetato; Am: aminas; Bu: butirato; EtOH: etanol; f: formato; La: lactato; Pr: propionato; S: succinato; Sul: sulfetos

FIGURA 2.

Diagrama mostrando a atividade metabólica primária no cólon



Source: Prof. R. Rastall, University of Reading, UK

produtos alimentícios. Por exemplo, na produção de vinhos, as leveduras fermentam os açúcares contidos no suco de uva para produzir álcool. Na produção de iogurtes, bactérias como os lactobacilos e os estreptococos fermentam o açúcar do leite (lactose), transformando-o em ácido láctico, responsável pelo sabor azedo característico desses produtos. Na produção do chucrute, as bactérias naturalmente presentes no repolho fermentam os açúcares, transformando-os em ácido láctico na ausência de oxigênio e na presença de 2-3% de sal.

Semelhantemente, os micro-organismos na primeira parte do cólon suprem suas necessidades de energia por meio da fermentação de resíduos alimentares e endógenos que escapam da digestão e da absorção

no trato gastrointestinal superior (Tabela 2 e Figura 2). Muitos micro-organismos metabolizam carboidratos e fibras alimentares¹, incluindo polissacarídeos (como pectinas, hemiceluloses, gomas, inulina e amidos resistentes), oligossacarídeos (como rafinose, estaquiose, FOS, GOS e dextrinas resistentes), açúcares (lactulose, lactose não absorvida e frutose não absorvida) e polióis (como manitol, lactitol, maltitol e isomalte). As principais espécies da microbiota colônica que fermentam carboidratos pertencem aos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* e *Lactobacillus*. Essa ação microbiana resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dos ácidos acético, propiônico e butírico, e do ácido láctico (que é convertido predominantemente em ácido acético e

1. Observe que a definição oficial de fibra alimentar varia em diferentes partes do mundo. O termo fibra alimentar é usado aqui de forma genérica, referindo-se aos componentes alimentares listados.

ácido propiônico pelos micro-organismos intestinais). A natureza dos produtos de fermentação depende, em partes, do substrato fermentado e do tipo de bactéria (Tabela 2), bem como de outros fatores individuais do hospedeiro. Os AGCC são absorvidos, melhorando a captação de água e sais, e usados como fonte de energia pelo hospedeiro. O ácido butírico é também a principal fonte de energia das células epiteliais que revestem o cólon e pode influenciar no crescimento e na diferenciação celular.

Os gases hidrogênio, metano e dióxido de carbono também são produzidos e podem contribuir para o equilíbrio da microbiota. Além disso, esses gases podem causar flatulência e distensão, que podem levar a desconforto intestinal caso a ingestão de substratos fermentáveis aumente subitamente.

As bactérias também metabolizam outros componentes encontrados no ambiente em que se localizam (Figura 2). Além de alimentos consumidos pelo hospedeiro, que não tenham sido totalmente digeridos, os substratos para o crescimento bacteriano incluem células bacterianas degradadas, mucinas e enzimas provenientes do hospedeiro e células intestinais descamadas. As espécies peptococos e clostrídios metabolizam proteínas como fonte de nitrogênio para seu crescimento e produzem ácidos graxos de cadeias ramificadas, como o isobutirato e o isovalerato, bem como uma variedade de compostos nitrogenosos e sulfurosos, alguns dos quais podem ser nocivos. Por exemplo, a amônia, as aminas e os compostos fenólicos podem, em determinadas circunstâncias, levar à formação de carcinógenos, principalmente no cólon descendente esquerdo, onde podem prevalecer condições de putrefação. Fitoquímicos, como as isoflavonas e os polifenóis, também podem ser metabolizados, produzindo componentes menores, como o equol, e pequenas moléculas fenólicas, que são absorvidas mais rapidamente. O impacto dessa atividade microbiana na saúde humana ainda está sendo investigado.

À medida que aumentam em número, as bactérias contribuem para a formação do bolo fecal no reto. Uma boa formação de bolo fecal está relacionada a um trânsito intestinal mais rápido e a um menor risco de constipação e câncer de intestino. Embora as fontes de fibras alimentares não fermentáveis, como a fibra de farelo de trigo, sejam as que mais contribuem para a formação do bolo fecal, a massa bacteriana que resulta da fermentação de fibras alimentares mais solúveis e resíduos de carboidratos também contribui para a formação das fezes.

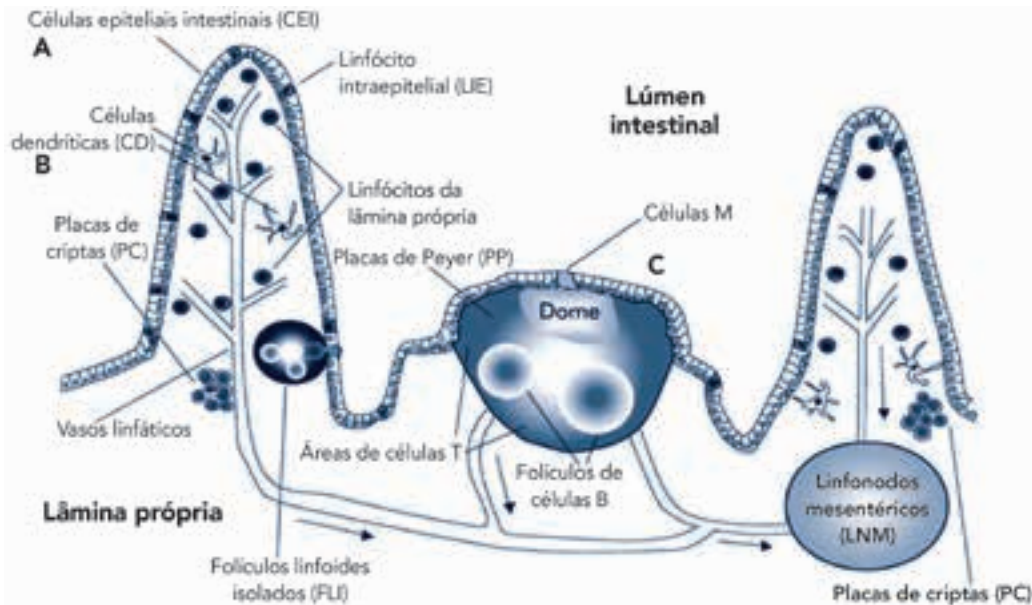
A barreira epitelial gastrointestinal e o sistema imunológico

O trato gastrointestinal é descrito, às vezes, como o maior órgão imunológico do corpo humano. Ele representa a maior área de contato da mucosa do hospedeiro com o ambiente e contém até 80% de todas as células que produzem anticorpos. A microbiota intestinal também é uma parte essencial do sistema de defesa do corpo humano.

No nascimento, o trato gastrointestinal é essencialmente estéril e, além disso, o sistema imunológico do recém-nascido ainda não está totalmente maduro. O sistema imune torna-se funcionalmente maduro somente após a exposição a diversas substâncias estranhas que entram em contato com o trato intestinal intocado. Estudos em animais criados em condições livres de germes demonstraram que o sistema imunológico desenvolve-se mal nesses animais, e estes apresentam níveis mais baixos de imunoglobulinas e menos células imunológicas especializadas em sua mucosa intestinal. Os animais criados em ambientes sem germes, portanto, são muito mais suscetíveis a doenças do que os animais criados de forma convencional. Esses estudos mostraram também que os antígenos microbianos derivados da microbiota intestinal e do ambiente têm papel primordial na maturação do tecido linfóide associado ao intestino (TLAI) e no desenvolvimento de resistência normal a doenças.

FIGURA 3.

Visão geral esquemática dos elementos linfoides do sistema imunológico associado ao intestino



As placas de Peyer (PP) e os linfonodos mesentéricos (LNM) são folículos linfoides intestinais organizados. (A–C) Vias de absorção de antígenos no intestino: antígenos no lúmen podem ser absorvidos por (A) células epiteliais intestinais, (B) células dendríticas interdigitais da lâmina própria, e (C) células M. A drenagem linfática das PPs e da lâmina própria das vilosidades é direcionada aos LNMs (a direção do fluxo linfático está indicada por setas). Reproduzido de Spahn and Kucharzik (2004) com permissão do BMJ Publishing Group Ltd.

O TLAI é organizado em diferentes compartimentos, como linfonodos, folículos linfáticos e placas de Peyer (Figura 3). O TLAI limita a passagem de bactérias e antígenos alimentares do lúmen do trato digestório através da mucosa intestinal. No entanto, esse tecido permite a passagem de antígenos (amostras minúsculas de bactérias viáveis ou mortas e fragmentos de proteínas e peptídeos), usando células especializadas, como as células M, que cobrem as placas de Peyer, e as células dendríticas, que atuam como sentinelas ao longo de toda a mucosa. As células apresentadoras de antígenos (CAAs) processam e apresentam antígenos aos linfócitos, um tipo de célula imunológica. As CAAs,

portanto, são muito importantes na promoção de uma resposta imunológica balanceada, conforme tem sido documentado cada vez mais, e exercem impacto além dos limites do intestino (consulte a seção “Interação com o hospedeiro”). Levantou-se a hipótese de que a redução da exposição a micro-organismos exógenos nos países desenvolvidos e industrializados pode ter levado a um aumento na incidência de disfunção imunológica crônica, que leva a distúrbios atópicos (alérgicos) e autoimunes, ou doença inflamatória do intestino, devido a alterações na maturação do sistema imunológico. Isso ficou conhecido como a “hipótese da higiene”.

A integridade do revestimento epitelial do trato gastrointestinal é essencial para a saúde, e o rompimento dessa barreira intestinal pode aumentar o risco de certos distúrbios ou doenças intestinais. As células epiteliais tornaram-se especializadas e passaram a adotar diversas estratégias para se defender contra patógenos.

As células caliciformes secretam mucinas (glicoproteínas de alto peso molecular), que atuam como uma camada protetora, ajudando a proteger as células epiteliais subjacentes contra danos mecânicos e ação direta de compostos químicos ingeridos ou derivados endogenamente das secreções intestinais. A quantidade e a composição do muco produzido pelo intestino variam de acordo com o local. O intestino delgado tem uma camada espessa e bastante móvel de muco, enquanto o cólon apresenta duas camadas: uma móvel, semelhante à do intestino delgado, e uma segunda camada mais fina, muito mais viscosa e impermeável que a camada mucosa móvel. Embora os micro-organismos habitem predominantemente o lúmen do trato gastrointestinal, eles também estão associados à camada mucosa e podem aderir às células que revestem determinadas áreas do intestino delgado, caso a camada mucosa esteja comprometida. Aqui, os micro-organismos benéficos podem competir com os patógenos.

Tanto a camada mucosa quanto as células epiteliais foram projetadas para permitir que nutrientes selecionados e outros componentes nutricionais penetrem e, em alguns casos, até passem por elas.

Além disso, alguns componentes passam pelos espaços intercelulares. As proteínas conhecidas como ocludinas e claudinas ajudam a patrulhar o pequeno espaço entre as células (junção de oclusão), para controlar o acesso de moléculas e partículas estranhas.

As células especializadas de Paneth, localizadas nas criptas do intestino delgado, produzem peptídeos

antibacterianos conhecidos como defensinas, além de enzimas defensoras (como a lisozima) e citocinas, que ajudam a proteger o hospedeiro de micro-organismos patogênicos.

Técnicas de exploração da microbiota gastrointestinal

No passado, os micro-organismos retirados de sua fonte inicial (alimentos, sangue, tecidos ou excretas) eram caracterizados após serem cultivados em laboratório. Os micro-organismos em cultura podiam então ser contados e identificados por microscopia, observação bioquímica e outros testes taxonômicos (de identificação) (consulte a seção “Caracterização e taxonomia” para obter mais informações sobre taxonomia).

Amostras fecais sempre foram o padrão principal de análise da microbiota intestinal humana, principalmente devido ao acesso restrito a outras partes do trato gastrointestinal. Uma limitação inerente desse método é que os micro-organismos expelidos nas fezes, e cultivados em laboratório, não necessariamente refletem com precisão tudo o que pode ser encontrado nos diferentes segmentos do intestino, particularmente no intestino superior. Mesmo as amostras de biópsias colônicas podem não refletir a situação exata *in vivo*, já que, antes da excisão, o cólon é lavado com laxantes, que perturbam a microbiota endógena. Outro desafio na compreensão da composição da microbiota intestinal é que muitos micro-organismos ainda não puderam ser cultivados com êxito em condições laboratoriais.

No início dos anos 1990, pesquisadores desenvolveram uma técnica chamada hibridização por fluorescência *in situ* (FISH). Usando sondas fluorescentes direcionadas a regiões de alta variabilidade do ácido ribonucleico ribossômico (rRNA) 16S dentro das células bacterianas, foi possível identificar e quantificar diferentes espécies,

e até subespécies, de bactérias. A partir do meio dos anos 90, possibilitou-se o sequenciamento do DNA ribossômico 16S, geralmente obtido por PCR (reação em cadeia da polimerase), o que permitiu aos microbiologistas detectar e identificar micro-organismos sem a necessidade de culturas. Ao mesmo tempo, o sequenciamento revelou uma diversidade muito maior do que havia sido detectado anteriormente com base em culturas. Essas técnicas permitiram maior precisão na detecção e identificação de espécies específicas, principalmente aquelas que antes eram desconhecidas ou difíceis de cultivar a partir de amostras fecais ou intestinais. A análise independente da cultura de amostras fecais, portanto, levou a uma maior compreensão da complexidade da microbiota intestinal. Técnicas modernas também permitiram que um grande número de amostras fosse analisado paralelamente e, assim, expandiram o entendimento da variação interindividual e da estabilidade da microbiota dentro do corpo.

O codesenvolvimento da tecnologia de sequenciamento de DNA de alto rendimento e da tecnologia da informação (bioinformática) permitiu o agrupamento e a análise de quantidades tão grandes de dados, que os pesquisadores puderam iniciar novos projetos de extrema importância para estudar o microbioma humano – termo usado para se referir aos genomas coletivos de todos os micro-organismos presentes em um ecossistema (nesse caso, o corpo humano). O Projeto Microbioma Humano (liderado pelos EUA) e o projeto MetaHIT (liderado pela Europa) contemplam um grande consórcio de pesquisa que começou a estudar e caracterizar a população microbiana completa do intestino humano e de outras partes do corpo, com o objetivo de fazer uma associação entre a composição e a função do microbioma e os estados de saúde e doença. Muitas das pesquisas atuais a respeito de probióticos e prebióticos fazem interface com esses programas de pesquisa de bactérias comensais em andamento.

Todos esses projetos ajudarão a esclarecer o papel dos micro-organismos, tanto os comensais quanto os ingeridos, na saúde humana.

A análise da microbiota intestinal já progrediu imensamente, principalmente nas duas últimas décadas, com o uso disseminado de diversas técnicas moleculares. Essas técnicas possibilitaram a investigação de componentes desconhecidos da microbiota e a respectiva funcionalidade, bem como de estirpes específicas. Entretanto, alguns desafios permanecem. A maior parte das análises ainda está restrita às amostras fecais, que podem não representar corretamente a microbiota das partes mais superiores do trato gastrointestinal, ou a microbiota associada às superfícies das mucosas. Do ponto de vista analítico, as novas técnicas permitem uma análise precisa e quantitativa da microbiota e, por mais que os limites de detecção ainda estejam altos demais para capturar todos os componentes menos frequentes da microbiota intestinal, é possível pressupor que haverá melhoras no futuro. Computadores mais poderosos e novos algoritmos estatísticos também serão necessários para processar a quantidade de dados que não para de crescer.

O CONCEITO DE PROBIÓTICOS

Definição e histórico

A palavra “probiótico” (origem: do latim *pro* (“a favor”) e do grego *bios* (“vida”) foi usada pela primeira vez em 1954 para descrever substâncias necessárias para uma vida saudável. Dentre uma série de definições, a mais usada e aceita é a proposta por um painel conjunto da FAO/OMS (FAO/OMS, 2011): “*micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro*”.

Conforme mencionado, a hipótese original de que algumas bactérias poderiam beneficiar a saúde humana é geralmente atribuída a Ilya Metchnikoff, que trabalhou no Instituto Pasteur no início do século 20 (Metchnikoff, 2004). As opiniões dele são relevantes até hoje:

“A dependência dos micro-organismos intestinais em relação aos alimentos possibilita que sejam adotadas medidas para modificar a microbiota em nosso corpo e trocar micro-organismos nocivos por micro-organismos úteis.”

e

“[...] pesquisas sistemáticas devem ser conduzidas para esclarecer a relação entre os micro-organismos intestinais e o envelhecimento precoce, e a influência de dietas que previnem a putrefação intestinal na longevidade e na manutenção das forças que atuam em nosso corpo”.

O pediatra francês Henry Tissier também publicou informações, mais ou menos na mesma época, de seu trabalho com crianças com diarreia. Ele descobriu que as fezes dessas crianças continham menos bactérias típicas em forma de Y (“bífidas”) do que as fezes de crianças

saudáveis e sugeriu que os pacientes com diarreia poderiam ser tratados com essas bactérias “bífidas” para ajudar na restauração da microbiota intestinal saudável.

Até recentemente, pesquisas científicas de alta qualidade que pudessem respaldar os benefícios hipotéticos dos probióticos eram limitadas, em partes, porque a complexidade do ecossistema intestinal era muito subestimada. Nas últimas três décadas, as pesquisas progrediram e, com o uso das técnicas moleculares, grandes avanços foram alcançados na caracterização de probióticos específicos, bem como em nossa compreensão dos respectivos mecanismos de ação e efeitos sobre a saúde.

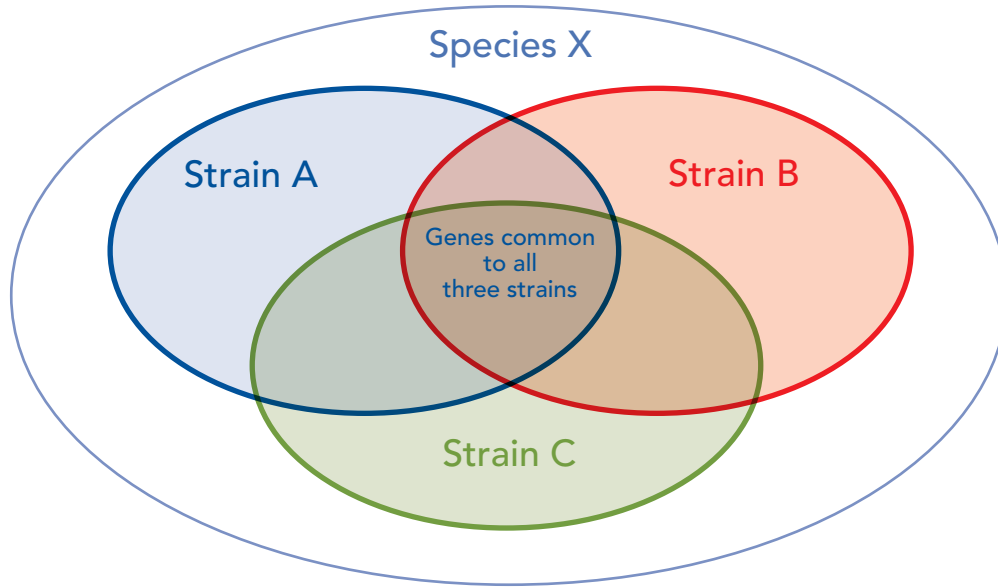
FIGURA 4.

Código de nomenclatura, usando o *Lactobacillus acidophilus* como exemplo



FIGURA 5.

Representação das semelhanças e diferenças genômicas de três estirpes pertencentes à mesma espécie



Seleção de probióticos candidatos

Além da segurança, a seleção de uma estirpe de probióticos é determinada principalmente pelo respectivo potencial de gerar benefícios aos humanos. Geralmente se considera que, para aplicação em produtos alimentícios, os probióticos precisam ser capazes de sobreviver até que tenham alcançado a parte do trato gastrointestinal em que exercerão seus supostos efeitos. Por exemplo, para atuarem no cólon, os probióticos precisam resistir a enzimas salivares, ácido gástrico, secreções de bile e enzimas no intestino delgado, bem como alterações de pH e meios químicos de outros alimentos e bebidas que encontrarão durante sua passagem pelo trato gastrointestinal. Além disso, eles precisam competir com a microbiota residente. Finalmente, uma estirpe

selecionada precisa atender a uma série de critérios tecnológicos, como ser passível de cultivo em grande escala, apresentar estabilidade genética e ser capaz de manter sua viabilidade em produtos alimentícios ou suplementos. Portanto, a identificação das estirpes de probióticos adequadas, que justificariam estudos mais avançados, é um processo muito complexo e detalhado, que pode demandar um esforço de pesquisa bastante significativo.

Os probióticos mais frequentemente usados em alimentos são espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, mas as leveduras, como o *Saccharomyces* spp., também têm sido utilizadas. Há uma série de etapas importantes necessárias para a caracterização de cada estirpe.

Caracterização e taxonomia

A determinação do gênero, da espécie e da estirpe é essencial para a caracterização completa de um micro-organismo.

A taxonomia fornece uma primeira ideia das principais propriedades fisiológicas e metabólicas do organismo, indica se há quaisquer potenciais riscos de segurança e permite a diferenciação entre estirpes individuais. Na verdade, a caracterização completa dos probióticos é uma exigência para a avaliação de qualquer indicação para a área de saúde na Europa.

Métodos moleculares modernos devem ser usados para a identificação de espécies e estirpes, por serem muito mais confiáveis que os métodos fenotípicos. Graças aos progressos tecnológicos recentes, o sequenciamento do genoma completo de uma estirpe nova não é mais tão caro ou demorado, o que abre caminho para a caracterização detalhada de estirpes específicas e a comparação destas com parentes próximas. Há um Código Internacional de Nomenclatura que deve ser usado para dar nomes a todos os micro-organismos (Figura 4).

Com base na avaliação de propriedades fenotípicas e genotípicas, a taxonomia microbiana agrupa as espécies relacionadas em gêneros e, mais ainda, as estirpes relacionadas em espécies. Entretanto, mesmo pertencendo à mesma espécie, diferentes estirpes podem ser diferenciadas por propriedades genéticas e fisiológicas exclusivas (Figura 5).

Segurança

Muitos organismos probióticos pertencem aos gêneros representados no grupo funcional de bactérias conhecidas como bactérias de ácido láctico, que têm sido consumidas com segurança há muitos anos e, portanto, pressupõe-se que sejam ingredientes seguros

para uso na indústria de alimentos. Para formalizar e assegurar esse conceito, foi proposto um sistema de avaliação de segurança pré-comercialização, que dá direito ao *status* QPS (*Qualified Presumption of Safety*, ou suposição de segurança qualificada) na Comunidade Europeia. Em suma, pode-se fazer uma avaliação de segurança de grupos selecionados de micro-organismos de um determinado grupo taxonômico (ex: gênero ou grupo de espécies relacionadas) com base em quatro pilares de informação (identidade, base de conhecimento, possível patogenicidade e uso final). Se o grupo taxonômico e a caracterização até o nível de estirpe não gerarem preocupações de segurança, ou se as possíveis preocupações de segurança puderem ser solucionadas e excluídas, o organismo pode receber o *status* QPS. Portanto, se for possível demonstrar inequivocamente que uma determinada estirpe de micro-organismos pertence a um grupo qualificado com QPS (como *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium*), avaliações adicionais de segurança para esta estirpe ficarão restritas apenas a testes de resistência a antibióticos. Caso um micro-organismo não esteja contemplado com *status* QPS, é provável que seja requerida uma avaliação de segurança completa antes que ele possa ser usado na indústria de alimentos.

Aplicação de probióticos nos alimentos

Os organismos probióticos são usados em uma variedade de alimentos, principalmente na categoria de laticínios, mas também em suplementos nutricionais, em forma de cápsulas ou comprimidos. Como a viabilidade é uma propriedade indispensável dos probióticos, o produto final deve manter uma quantidade adequada de probióticos vivos até o fim de sua validade. A adição de um probiótico a alimentos ou suplementos será considerada uma indicação de saúde somente se houver benefícios documentados com base em estudos clínicos

de alta qualidade com humanos, utilizando o produto em questão e os desfechos adequados. Esses estudos também devem ser capazes de demonstrar qual seria a dose segura e eficaz do probiótico nos alimentos. Assim como a legislação de segurança alimentar, as normas que regulam as indicações de produtos alimentícios na saúde variam em diferentes países e regiões, e indicações de produtos comerciais contendo probióticos devem cumprir critérios que, em alguns casos, incluem a aprovação da indicação pelas autoridades regulatórias antes da comercialização do produto.

O CONCEITO DE PREBIÓTICOS

Definição e histórico

Conforme mencionado, os japoneses foram os primeiros a reconhecer o valor dos oligossacarídeos fermentáveis, primeiramente com a ração para suínos e, depois, nos anos 1980, com a identificação dos oligossacarídeos do leite humano. No entanto, somente em 1995 foi introduzido o conceito de prebióticos para modulação da microbiota intestinal. Embora tenham sido propostas muitas definições, ainda não se chegou a um consenso a respeito de uma única definição para o termo prebióticos. A mais recente foi cunhada na reunião de 2010 da Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) (Gibson et al., 2011):

“Prebióticos alimentares são ingredientes seletivamente fermentados, que resultam em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, assim proporcionando benefícios para a saúde do hospedeiro”.

Caracterização de ingredientes prebióticos

Embora isso não esteja estipulado como exigência na definição de prebióticos, até o momento, apenas os compostos de carboidratos foram estudados em relação a sua atividade prebiótica. A maior parte das pesquisas foi conduzida com frutanos – ou seja, com o polissacarídeo inulina ou com fruto-oligossacarídeos (FOS) derivados de diversos cultivares ou da sacarose – e galacto-oligossacarídeos (GOS). Estudos em humanos confirmaram a ocorrência de fermentação seletiva e alteração da microbiota para esses ingredientes, que,

portanto, foram relacionados a potenciais benefícios para a saúde. Prebióticos candidatos ou emergentes ainda precisam de mais evidências em humanos para que possam ser totalmente estabelecidos como prebióticos. Esses prebióticos candidatos incluem o dissacarídeo lactulose, outros oligossacarídeos e dextrinas resistentes, polissacarídeos como polidextrose, arabinoxilanos e amidos resistentes, bem como alguns polióis como lactilol e isomalte.

Alguns prebióticos ocorrem naturalmente em alimentos como chicória, cereais, agave e leite. Entretanto, a maior parte dos alimentos contém apenas indícios, e por isso adotou-se a iniciativa de refinar os ingredientes ativos desses cultivares ou produzi-los sinteticamente (ex.: por processos enzimáticos, químicos ou térmicos), para que se atinjam os níveis em que os prebióticos podem exercer seus efeitos.

Muitos prebióticos e candidatos a prebióticos se enquadram atualmente na definição nutricional e regulatória de fibra alimentar e são rotulados como nutrientes dessa categoria. Eles compartilham com as fibras alimentares as propriedades de resistência à digestão e (para algumas fibras) fermentabilidade, mas os prebióticos estabelecidos diferenciam-se das fibras alimentares devido à seletividade em sua fermentação. Observe que os mono e dissacarídeos normalmente não são considerados fibras alimentares, de acordo com as definições da UE e do CODEX.

Critérios para seleção de prebióticos

Os prebióticos apresentam uma ação complementar, embora distinta, em relação aos probióticos. Probióticos são micro-organismos exógenos ingeridos para promover um efeito específico sobre a saúde. Por outro lado, o conceito de prebióticos baseia-se na estimulação seletiva da própria microbiota benéfica do hospedeiro, com o

prebiótico atuando como substrato de fermentação (seletiva), estimulando o crescimento e a atividade do micro-organismo ou do grupo de micro-organismos específico de interesse e, conseqüentemente, levando ao efeito desejado sobre a saúde.

É essencial que se meça o efeito do prebiótico candidato sobre o crescimento bacteriano; a simples constatação de que a fermentação ocorreu não é suficiente. Embora os testes *in vitro* possam ser usados para triagem de possíveis candidatos, o crescimento dos micro-organismos-alvo deve ser quantificado em estudos clínicos, após um curto período de alimentação com níveis aceitáveis de consumo, para que o *status* de prebiótico seja estabelecido. Além disso, estudos de alimentação humana são indispensáveis para se demonstrarem benefícios à saúde.

O principal local de ação dos prebióticos é no cólon. Portanto, os prebióticos precisam resistir aos efeitos da acidez gástrica e das enzimas digestivas para chegarem intactos ao cólon. Ao chegarem, os prebióticos conferem seus supostos benefícios, estimulando o crescimento e/ou as atividades metabólicas das bactérias que os fermentam. Os principais gêneros alvejados pela ação dos prebióticos são as bifidobactérias e os lactobacilos, embora isso possa mudar à medida que se expande nosso conhecimento da diversidade e da funcionalidade microbiana. No entanto, deve-se considerar a hipótese de que os prebióticos exercem efeitos diretos sobre a saúde, influenciando, por exemplo, o sistema imunológico ou a ligação dos micro-organismos aos receptores.

Os prebióticos e probióticos podem ser combinados em "simbióticos". Nesse caso, os efeitos dos dois componentes devem ser sinérgicos. O crescimento do probiótico no intestino pode ser estimulado pela fermentação do prebiótico, e/ou o prebiótico pode

ajudar a criar um ambiente intestinal mais favorável, no qual o probiótico se torna mais competitivo.

Aplicação de prebióticos nos alimentos

Conforme observado anteriormente, alguns prebióticos ou probióticos candidatos ocorrem naturalmente e são amplamente consumidos em baixos níveis em uma dieta normal. Os ingredientes prebióticos comerciais, GOS e frutanos, são usados em alimentos para bebês, mediante comprovação de sua segurança e eficácia; em alguns países, pode ser necessária uma aprovação pré-comercialização. Em alimentos para consumo geral, o nível desejável de ingestão de prebióticos varia entre 2 e 20 g por dia, dependente do ingrediente e do efeito pretendido.

Essas quantidades podem ser rapidamente incorporadas em uma gama de alimentos como cereais, pães, confeitaria, biscoitos, iogurtes, patês, molhos e bebidas. Semelhantemente ao caso dos probióticos, os benefícios à saúde dos prebióticos candidatos precisam ser demonstrados em estudos clínicos.

EFEITOS DOS PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS NA SAÚDE

Desafios de pesquisa

Para se demonstrar que probióticos e prebióticos têm efeitos benéficos para a saúde humana, devem-se fornecer evidências provenientes de estudos de intervenção nutricional em humanos. Evidências de suporte podem ser reunidas a partir de estudos com ração animal (estudos *in vivo*) e estudos laboratoriais que examinem sangue ou amostras de tecidos coletadas de humanos ou animais (estudos *ex vivo*), ou ainda da análise de células isoladas e cultivadas em laboratório, submetidas a diversas condições experimentais (estudos *in vitro*). Esses estudos não-humanos podem fornecer informações sobre mecanismos de ação, mas sozinhos não são adequados para comprovar benefícios para a saúde humana.

Um dos fatores que tem atrapalhado o progresso das pesquisas que contemplam o impacto dos alimentos funcionais, incluindo probióticos e prebióticos, na saúde, é a falta de biomarcadores de saúde gastrointestinal e de função imunológica que sejam universalmente aceitos. Nesse contexto, os biomarcadores servem como marcadores substitutos dos desfechos de saúde; por exemplo, o nível sanguíneo de colesterol é bem aceito como um indicador do risco de doenças. Os marcadores aceitos para a função gastrointestinal incluem a formação de bolo fecal e o tempo de trânsito pelo trato gastrointestinal, e estes podem ser usados para demonstrar os benefícios dos prebióticos e probióticos. Há diversos marcadores usados que se referem ao sistema imunológico, mas falta conhecimento sobre o valor preditivo de marcadores isolados de função, como função de células imunológicas, níveis de citocinas ou produção de anticorpos, em relação à saúde imunológica

geral. A relevância desses marcadores imunológicos ainda não foi estabelecida, mesmo quando se utiliza mais de um marcador. A ausência de marcadores estabelecidos significa que desfechos clínicos, como a redução da suscetibilidade a infecções, a melhora da resposta a vacinas, ou a redução da duração de sintomas validados, ainda são mais bem aceitos como evidências de benefícios do que alterações nos biomarcadores.

Outro desafio comum a todas as pesquisas em humanos é a variação interindividual, ou seja, a variabilidade dos resultados observados para um desfecho específico nos diferentes sujeitos. A variabilidade interindividual depende de uma gama de fatores, como genética, dieta, microbiota, idade, status nutricional e outros fatores relativos ao estilo de vida do hospedeiro. Os pesquisadores tentam controlar essas diferenças, mas precisam incluir um número suficiente de sujeitos para compensar essa variação. Além disso, os efeitos de uma intervenção podem ficar mais evidentes em pessoas com alto risco, ou diagnosticadas com uma doença, do que em indivíduos saudáveis. Frequentemente se questiona se os mesmos efeitos seriam observados em indivíduos sãos.

Em todos os casos, fica claro que os prebióticos e probióticos devem ser consumidos com regularidade para conferir benefícios.

Impacto dos prebióticos e probióticos no trato gastrointestinal

Microbiota intestinal

Acredita-se que uma maior proporção de bifidobactérias e lactobacilos indicaria uma composição microbiana mais "saudável". Em partes, isso se baseia em evidências obtidas de bebês, que serão discutidas posteriormente nesta seção e na seção sobre mecanismos. Essas bactérias têm maior chance de fermentar carboidratos e produzir

ácidos, e normalmente não apresentam potencial de toxicidade.

Há vastas evidências em humanos, inclusive bebês, assim como em estudos animais e *in vitro*, de que os prebióticos estabelecidos aumentam a proporção de bifidobactérias e, às vezes, de lactobacilos presentes na microbiota intestinal, enquanto não apresentam efeitos mensuráveis sobre outros grupos de bactérias.

No caso dos probióticos, o consumo de doses adequadas de estirpes de *Lactobacillus* frequentemente resulta em aumento mensurável dos lactobacilos nas fezes e, em alguns casos, pode haver até uma redução dos organismos indesejáveis, como estafilococos. Para bebês prematuros, que normalmente carregam quantidades reduzidas de bifidobactérias, há evidências substanciais de que a ingestão de bifidobactérias não apenas aumenta o número desses organismos, mas também pode reduzir a quantidade de clostrídios. Na prática, o efeito dos prebióticos e probióticos na microbiota é um tanto quanto variável, além de ser difícil de medir, devido aos fatores discutidos na seção "Técnicas de exploração da microbiota gastrointestinal".

Além do aumento em número ou proporção de determinados micro-organismos, também é importante considerar a capacidade funcional destes, que pode ser alterada pelo consumo de prebióticos ou probióticos, mesmo quando não ocorrem alterações em número ou proporção. Dados recentes sobre o uso de probióticos em humanos, obtidos com novas técnicas, permitiram a mensuração de componentes representativos dos genes que estão sendo ativamente expressos em um determinado momento. O elo entre a expressão gênica e os desfechos de saúde certamente será o objeto de futuras pesquisas.

Tempo de trânsito e formação de bolo fecal

Há fortes evidências de que os prebióticos e probióticos podem influenciar a função intestinal. Acredita-se que

esse efeito dos prebióticos seja devido à fermentação dessas substâncias no cólon, resultando no aumento da massa bacteriana e da capacidade de ligação osmótica da água, contribuindo para o aumento em peso das fezes, maior frequência de evacuação e fezes mais macias. Há também algumas evidências de que os ácidos graxos de cadeia curta, principalmente o butirato, têm efeito positivo no endotélio e no peristaltismo, melhorando o trânsito intestinal. Como há uma relação inversa entre a massa fecal e o tempo de trânsito, os prebióticos também podem reduzir este último. Em alguns estudos, relatou-se que os prebióticos reduzem os sintomas de desconforto intestinal, como empachamento, dor abdominal e flatulência. Estudos de algumas estirpes de bactérias probióticas demonstraram impacto na função intestinal, conforme revelado pela normalização do tempo de trânsito e redução de sintomas menores de desconforto intestinal relatados pelos próprios sujeitos. A melhora no tempo de trânsito pode reduzir a atividade putrefativa no cólon esquerdo, conforme indicado em alguns estudos, que detectaram níveis reduzidos de poliaminas e metabólitos como cresol e indóis.

Esses efeitos reguladores das fezes são considerados benéficos para a saúde intestinal, reduzindo o risco de constipação. É provável que a melhora na função fecal tenha importância em relação à população geral, já que a ingestão de fibras alimentares em países desenvolvidos é quase universalmente mais baixa do que a recomendada, e o número de pessoas com queixas de problemas digestivos é extremamente alto (mais de 80% em algumas pesquisas com mulheres). Como ocorre com todas as fibras alimentares, a ingestão de níveis muito altos de prebióticos talvez precise ser evitada por alguns indivíduos, já que o consumo excessivo poderia resultar em empachamento e, em casos mais graves, fezes aquosas. No entanto, esses sintomas desaparecem com a redução ou cessação do consumo.

Quadros inflamatórios intestinais crônicos

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são quadros sérios, cuja causa ainda é desconhecida. Incluem-se nesse grupo a Doença de Crohn (DC), que pode envolver todo o intestino, embora afete principalmente o intestino delgado, e a colite ulcerativa (CU), que normalmente fica restrita ao intestino grosso. As doenças inflamatórias do intestino estão associadas à quebra da função normal de barreira exercida pelo revestimento epitelial do intestino e o muco a ele associado. Ainda não está claro se é a inflamação que causa a quebra da barreira, ou se é quebra da barreira que permite que a inflamação se instale. Estudos comparando animais em condições livres de germes e animais em condições normais demonstraram que os animais criados em ambientes estéreis são menos suscetíveis à DII experimental, e que a presença de bactérias comensais pode desencadear e/ou exacerbar quadros inflamatórios intestinais. Portanto, a resposta imunológica inadequada da mucosa em relação à microbiota gastrointestinal pode resultar em Doença de Crohn e colite ulcerativa em indivíduos suscetíveis. Há também evidências de estudos clínicos mostrando que o equilíbrio de diferentes grupos de bactérias comensais possivelmente se encontra alterado em pacientes com doenças inflamatórias do intestino.

Muitos estudos em modelos animais, tanto de probióticos quanto de prebióticos, demonstraram um impacto positivo na prevenção ou tratamento de DII. Estudos clínicos com pacientes de DC não comprovaram eficácia no prolongamento da remissão da DC, mas há dados promissores, que indicam que alguns probióticos são úteis para a manutenção desta. Em outro quadro inflamatório intestinal conhecido como bolsite, que pode ocorrer após a cirurgia para tratamento de CU, uma mistura de estirpes de probióticos aparentemente demonstrou ser eficaz, auxiliando na manutenção da remissão. O potencial de utilidade dos probióticos e simbióticos no manejo de DII já foi demonstrado em

vários pequenos estudos com frutanos, principalmente na redução de marcadores inflamatórios; no entanto, os dados obtidos até o momento não permitem que se chegue a uma conclusão definitiva. Embora os dados ainda sejam insuficientes para que se possam determinar com certeza os efeitos dos prebióticos e probióticos na DII, é importante lembrar que nenhum dos estudos conduzidos até hoje levantou nenhum tipo de preocupação em relação à segurança desses elementos em pacientes com DII, nos níveis de consumo testados.

Síndrome do intestino irritável

A síndrome do intestino irritável (SII) é um quadro muito incômodo, caracterizado por uma série de sintomas, como dor abdominal, empachamento e alteração dos hábitos intestinais, que muitas vezes podem alternar entre constipação e diarreia. Considerando-se que sintomas parecidos com esses podem ocasionalmente ser observados na população em geral, um grupo de critérios específicos (conhecidos como critérios de Roma) foi desenvolvido para uniformizar o diagnóstico da SII. Em países industrializados, a SII acomete de 5% a 20% da população adulta, com índices mais altos entre mulheres e indivíduos de mais idade. Recentemente, observou-se um aumento do interesse no papel dos processos inflamatórios como possível causa da SII. Além disso, em um determinado subgrupo de pacientes, infecções intestinais prévias parecem ter participação no desencadeamento da SII (SII pós-infecciosa). Também, em alguns estudos, níveis mais baixos de bifidobactérias foram observados em pacientes com DII, comparados a indivíduos saudáveis.

Devido à inexistência de bons tratamentos para DII e à identificação de uma microbiota anormal em pacientes de DII, tanto os probióticos quanto os prebióticos têm sido investigados quanto a sua capacidade de auxiliar no manejo desse quadro. Demonstrou-se que algumas preparações probióticas promovem diminuição do escore global de

sintomas (soma dos escores de diferentes sintomas) e redução da dor abdominal; porém não foram confirmadas alterações em diarreia, constipação ou empachamento. Em outros estudos, algumas estirpes não tiveram nenhum efeito, ou resultaram na piora dos sintomas. Para alguns prebióticos, estudos demonstraram que baixas doses levavam à melhora no quadro, mas cargas mais altas levavam ao aumento da percepção dos sintomas. Portanto, serão necessárias mais pesquisas para determinar se são observados benefícios invariáveis nos indivíduos com DII quando se utilizam prebióticos e probióticos.

Impacto específico dos prebióticos no trato gastrointestinal

Câncer de cólon

O câncer de cólon já foi associado a dietas com baixos níveis de fibras e, portanto, também se investigou o potencial dos prebióticos na redução do risco de câncer de cólon, utilizando-se principalmente técnicas *in vitro* e modelos animais. Resultados de estudos animais com desfechos como danos ao DNA, focos de criptas aberrantes e tumores no cólon indicam que os probióticos talvez reduzam o risco de câncer de cólon. Isso é respaldado por vastas evidências *in vitro*. Os simbióticos foram investigados em alguns estudos animais e descobriu-se que são mais eficazes do que prebióticos ou probióticos isolados. Um estudo com simbióticos (projeto SYNCAN) em humanos detectou uma redução nos danos ao DNA e na proliferação celular em biópsias de cólon. Possíveis mecanismos do efeito de prebióticos no risco de câncer de cólon foram identificados em estudos animais, e incluem alteração das atividades de enzimas bacterianas intestinais, que modificam produtos de fermentação, e supra-regulação da apoptose (morte celular programada – nesse caso, das células pré-cancerosas). Entretanto, ainda faltam evidências definitivas de que determinados prebióticos podem reduzir o risco de câncer de cólon,

e são necessários mais estudos humanos prospectivos e multicêntricos, com dados mais robustos.

Prebióticos e nutrição no início da vida

No leite materno humano, são encontradas estruturas fucosílicas, galactosílicas e sialílicas, que supostamente contribuem para uma microbiota saudável. Estudos de intervenção mostram que fórmulas infantis suplementadas com GOS e frutanos, isolados ou combinados, ajudam a estimular as bifidobactérias características de bebês em amamentação, de modo dose-dependente. Além disso, bebês alimentados com oligossacarídeos apresentam microbiota, pH das fezes e padrão de AGCC semelhantes aos de bebês em amamentação. A consistência e a frequência das fezes de bebês alimentados com prebióticos (mais macias e mais frequentes) também são mais próximas às aquelas observadas em bebês amamentados do que em bebês alimentados com fórmulas comuns. O uso de prebióticos específicos contendo GOS e frutanos nas fórmulas infantis é uma prática disseminada e aceita como segura. O alcance dos benefícios resultantes desses probióticos, bem como de outros prebióticos candidatos, ainda é um campo de pesquisa ativa para especialistas nessa área.

Absorção mineral

Um dos efeitos específicos e bem estabelecidos dos prebióticos é sobre a absorção mineral. Há uma vasta quantidade de dados mostrando que os prebióticos aumentam a absorção de cálcio, bem como índice de crescimento e a massa esquelética em ratos. Além disso, há alguns estudos mostrando um aumento na absorção de magnésio e ferro. Há mais evidências de melhoras na absorção mineral provenientes de estudos com suínos, que são considerados um modelo melhor para os humanos que os roedores. Vários estudos de intervenção em humanos demonstraram invariavelmente um aumento

na absorção de cálcio. Até o momento, há um único estudo de intervenção de longo prazo em humanos que avalia os efeitos dos prebióticos na saúde óssea. O estudo foi feito em adolescentes e utilizou uma combinação de FOS e inulina de cadeia longa (50/50). Após um ano, a densidade mineral óssea e o conteúdo mineral ósseo aumentaram significativamente em determinados sítios ósseos do grupo suplementado. Ainda são necessárias mais pesquisas específicas de cada substância para determinar se esse efeito é comum a todos os prebióticos ou exclusivo da formulação particularmente estudada.

Hormônios intestinais e consumo de alimentos

Diversos estudos em roedores, principalmente com frutanos, demonstram que as fibras prebióticas na alimentação geram invariavelmente efeitos sobre a ingestão de alimentos e a diminuição da massa gordurosa, embora não haja necessariamente redução de peso. Dados adicionais desses estudos indicam que o mecanismo por trás disso é provavelmente a secreção (estimulada por AGCCs) de peptídeos intestinais, como o peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1), peptídeo YY (PYY) e oxitomodulina, e a redução na secreção de grelina, sendo que todos estes são secretados por células do tipo endócrinas existentes na mucosa. Sabe-se que esses peptídeos afetam a quantidade ingerida de alimentos em animais e humanos. No geral, evidências de um número cada vez maior de estudos em humanos, principalmente com frutanos, dão suporte à existência de um efeito do consumo diário de prebióticos na redução do apetite, diminuição do peso corporal ou da massa gordurosa, alteração dos níveis de peptídeos intestinais no sangue e melhora da tolerância à glicose. Alguns desses estudos, mas não todos, examinaram a composição da microbiota intestinal; foram comprovadas alterações dessa microbiota quando examinada. É possível que o impacto dos AGCC no metabolismo da glicose e dos lipídeos também seja importante.

Impacto específico dos probióticos no trato gastrointestinal

Má absorção de lactose

Conforme discutido na seção “Fermentação e metabolismo bacteriano”, muitos micro-organismos fermentam a lactose, açúcar encontrado no leite e em laticínios. Embora os bebês utilizem a lactose, que corresponde a até 10% da energia contida no leite, muitas populações em todo o mundo contêm uma alta proporção de adultos incapazes de digerir esse açúcar. Em humanos e, na verdade, em todos os mamíferos, a expressão da enzima lactase é infrarregulada em adultos, com a exceção de alguns grupos populacionais, particularmente os de origem europeia. A intolerância à lactose é uma condição em que a fermentação colônica da lactose não digerida resulta em efeitos gastrointestinais como dor abdominal, empachamento, borborismo e laxação. Há evidências de que as bactérias vivas do iogurte, por digerirem lactose, são capazes de compensar a falta de lactases endógenas no intestino delgado. A medida típica de melhora na digestão de lactose é a redução na excreção de hidrogênio na respiração (o hidrogênio respiratório geralmente se eleva quando carboidratos não digeridos chegam ao cólon e são fermentados). Essa melhora na digestibilidade reduz os sintomas relacionados à intolerância à lactose em alguns indivíduos com má absorção.

Impacto nas respostas imunológicas

Os animais criados em condições livres de germes, conforme mencionado, apresentam um sistema imune subdesenvolvido, o que resulta em menor resistência a infecções em comparação aos animais criados de modo convencional. Presume-se, portanto, que os organismos comensais são vitais para a maturação do sistema imunológico. O potencial dos probióticos e prebióticos de impactar respostas imunológicas e reduzir o risco de infecções tem sido objeto de diversos estudos

em humanos (discutidos a seguir). Esses resultados, combinados a evidências de estudos mecanísticos que demonstraram alterações em alguns parâmetros imunológicos, dão suporte à ideia de que o efeito dos probióticos e prebióticos no sistema imunológico traduz-se em benefícios de saúde mensuráveis; no entanto, ainda são necessárias evidências definitivas.

Infecção gastrointestinal

O intestino delgado é o principal alvo de muitas infecções gastrointestinais, como as por rotavírus, *S. typhimurium* e alguns tipos de *E. coli*. Já em 1916, foi relatado que o *S. typhimurium* teria desaparecido do trato gastrointestinal de portadores saudáveis desse organismo, após a introdução de membros da microbiota intestinal normal. Os probióticos já são há muito tempo associados a uma suposta habilidade de neutralizar bactérias patogênicas e, recentemente, várias estirpes potencialmente benéficas foram testadas em estudos controlados.

A primeira linha de tratamento para sintomas de diarreia é a reidratação oral – e essa medida não deve ser trocada por nenhum outro tratamento nutricional, principalmente em bebês. Porém, em quadros estabelecidos, alguns probióticos podem ser usados como adjuntos, com supervisão médica, sempre que apropriado. Alguns probióticos parecem ser mais eficazes na melhora dos sintomas quando a diarreia resulta de infecção viral (e não bacteriana), caso sejam usados no início da infecção e em quantidades suficientes. Em termos de redução da suscetibilidade a infecções, alguns estudos mostraram diminuição do risco de infecção em bebês (principalmente em países desenvolvidos) e em idosos institucionalizados ou hospitalizados. A eficácia está é claramente dependente da estirpe, ou seja, algumas estirpes são eficazes e outras não. Além disso, há algumas evidências de que estirpes específicas de probióticos, assim como alguns prebióticos, podem reduzir o risco de diarreia dos viajantes.

Alguns antibióticos podem perturbar significativamente as bactérias comensais, resultando em efeitos colaterais, como diarreia associada a antibióticos (DAA). A incidência estimada de DAA chega a 25% para alguns antibióticos e isso pode fazer com que os pacientes não concluam o tratamento. Há evidências de que probióticos específicos podem reduzir o risco de DAA e, na verdade, diversas meta-análises concluíram que o risco de DAA pode até cair pela metade em adultos ou idosos, embora esses efeitos sejam mais irregulares em crianças. Os efeitos observados foram associados a um número limitado de estirpes específicas de probióticos. No caso de prebióticos, demonstrou-se que a administração de FOS após tratamento com antibióticos reduziu a recorrência de DAA: de mais de 30% no grupo controle para menos de 10% no grupo de prebióticos. Como isso não foi associado a uma diminuição dos indivíduos com resultado positivo para *C. difficile*, tudo indica que o prebiótico teve efeito estabilizante na microbiota, promovendo a restauração da eubiose.

Infecções por *Clostridium difficile* são causas frequentes de diarreia em populações institucionalizadas, por exemplo, nos hospitais e casas de repouso. Essas infecções são normalmente associadas ao uso de antibióticos, mas podem aparecer em decorrência de outros fatores de risco, como idade acima de 65 anos ou sistema imune comprometido devido a alguma doença. Até o momento, os resultados de pesquisas que investigam se os probióticos são capazes de reduzir o risco de infecção por *C. difficile*, ou reduzir a gravidade ou duração dos sintomas em adultos, são promissores, mas ainda são necessários mais estudos com teste de hipóteses.

Uma bactéria conhecida como *Helicobacter pylori* está presente no estômago de uma pequena proporção de jovens adultos, mas a incidência pode chegar a 50% a partir dos 60 anos. Ela coloniza a camada mucosa próxima ao epitélio gástrico e, em algumas pessoas, pode causar gastrite aguda (ou seja, dor, empachamento, náusea e vômitos) e pode levar a gastrite crônica e úlceras pépticas. O tratamento

envolve a administração de longo prazo de antibióticos fortes e, embora os probióticos não acelerem a erradicação da *H. pylori*, demonstrou-se em diversos estudos que eles reduzem os efeitos colaterais do tratamento e podem gerar menos perturbações para a microbiota.

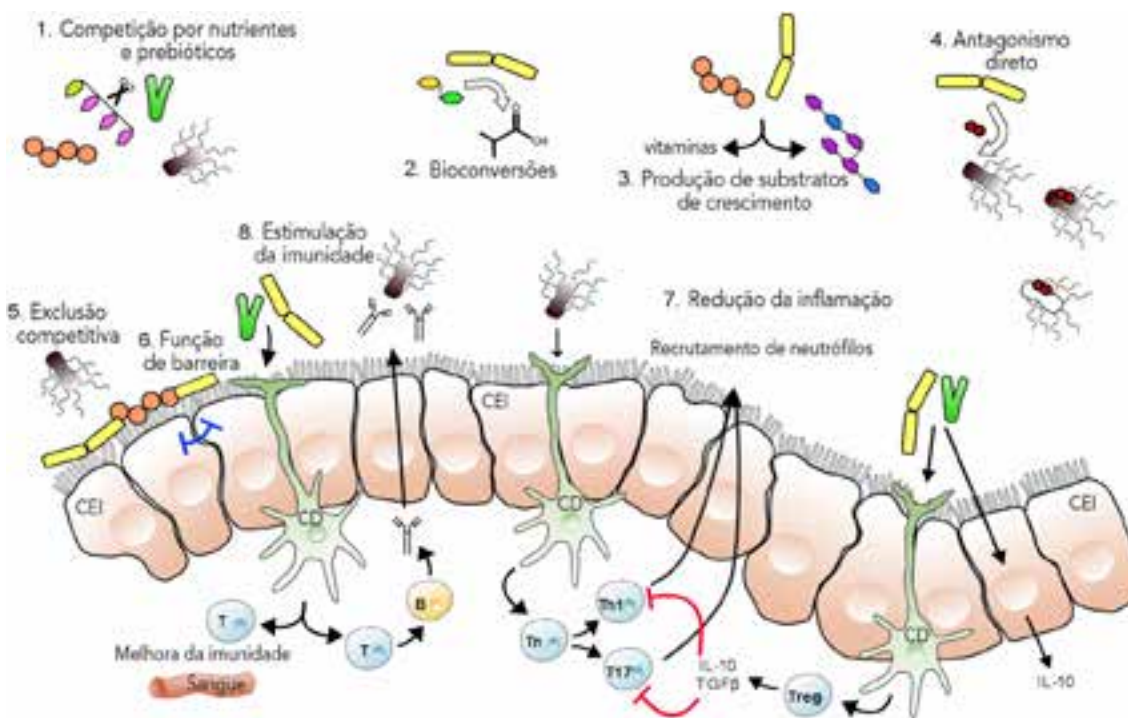
A microbiota em bebês prematuros é restrita e tem composição diferente se comparada à de bebês saudáveis a termo. Bifidobactérias potencialmente benéficas, em particular, não se encontram bem estabelecidas no intestino de prematuros recém-nascidos. A microbiota ainda enfrenta o desafio de bactérias ambientais do meio hospitalar e uso frequente de antibióticos em prematuros, o que confere a essa população um risco elevado de enterocolite necrosante (ECN). Embora o uso de probióticos ainda não tenha se estabelecido na prática clínica, diversos estudos demonstraram que estirpes específicas de probióticos podem reduzir o risco de enterocolite necrosante. São necessários mais estudos para esclarecer quais são as estirpes preferenciais e as recomendações de dose. Além disso, para se utilizarem micro-organismos vivos em uma população tão vulnerável, a confirmação da segurança dessa aplicação torna-se um objetivo primordial.

Outras infecções

Uma série de estudos em diferentes faixas etárias investigou o potencial dos probióticos de impactar a suscetibilidade a infecções do trato respiratório superior (ITRS), bem como a duração e os sintomas do quadro. Esses estudos envolveram diversas estirpes diferentes; algumas reduziram a incidência, outras reduziram a duração, e a maioria exerceu seus efeitos sobre os sintomas. As evidências são promissoras, mas a gama de estirpes, a variação de faixas etárias e o desenho dos estudos dificultam as conclusões. As evidências do efeito dos probióticos limitam-se a um estudo de longo prazo recente, de grande escala, no qual bebês que consumiram uma fórmula suplementada com uma combinação específica de GOS/FOS de cadeia longa tiveram menos propensão a ITRS e febre associada, em comparação a bebês alimentados com fórmula sem prebióticos.

FIGURA 6.

Diagrama ilustrando mecanismos de ação potenciais ou conhecidos dos probióticos



Esses mecanismos incluem (1) competição por ingredientes alimentares usados como substratos de crescimento, (2) bioconversão de, por exemplo, açúcares em produtos de fermentação com propriedades inibitórias, (3) produção de substratos de crescimento, por exemplo, EPS ou vitaminas, para outras bactérias, (4) antagonismo direto por bacteriocinas, (5) exclusão competitiva para sítios de ligação, (6) melhora na função de barreira, (7) redução da inflamação, alterando, portanto, as propriedades intestinais para facilitar a colonização e permanência, e (8) estimulação da resposta imunológica inata (mecanismos subjacentes desconhecidos). CEI, células epiteliais; CD, células dendríticas; T, células-T. Fonte: O'Toole; Cooney (2008).

Há também interesse no uso de probióticos na medicina urogenital. Demonstrou-se que algumas estirpes de probióticos melhoram a resolução da vaginose bacteriana durante tratamento com antibióticos. Possíveis mecanismos por trás desse efeito incluem antagonismo antimicrobiano, restauração de microbiota balanceada e melhora na resposta imune.

Vacinas

Estudos em animais já demonstraram de forma convincente que determinadas estirpes de probióticos podem melhorar a resposta imunológica às vacinas e reduzir o risco de infecções subsequentes. Os estudos em humanos são muito menos frequentes, mas cada vez mais estudos clínicos bem controlados estão sendo

conduzidos. Evidências preliminares indicam que a resposta a vacinas contra *influenza*, cólera ou doenças da infância pode ser melhorada por probióticos selecionados, conforme mensurado pelo número de indivíduos que respondem às vacinas ou pelo aumento do nível sérico de imunoglobulinas. Em relação à eficácia dos probióticos, os efeitos são específicos de cada estirpe e, no caso de *influenza*, variam com diferentes estirpes do patógeno. Um estudo demonstrou evidências limitadas de redução no risco de infecções subsequentes com vírus *influenza*. No caso de prebióticos, embora os resultados em animais pareçam promissores, os estudos clínicos ainda não são suficientes para respaldar qualquer efeito.

Quadros alérgicos

A alergia pode ser definida, em termos simplificados, como uma reação imunológica inadequada ou exagerada a antígenos estranhos que, em qualquer outro caso, não representariam risco (principalmente proteínas ou peptídeos). Em termos médicos, a alergia é descrita como uma reação de hipersensibilidade mediada por anticorpos específicos (IgE) ou mecanismos celulares. Alergias comuns incluem reações a determinadas proteínas alimentares (por exemplo, leite, ovos, amendoim, castanhas, soja, glúten, peixes, moluscos e crustáceos) ou a alergênicos ambientais, como pólen (febre do feno), ácaros e pelos de animais. As alergias alimentares são mais comuns em bebês e crianças do que em adultos. As alergias mais sérias, que resultam em reação anafilática (que pode ser fatal, quando a garganta e o trato respiratório edemaciam e impedem a respiração), são raras, embora sempre tenham sido motivo de preocupação. Os sintomas menos graves de alergia são mais comuns (prevalência de cerca de 2% para alergias alimentares e 30% para alergias respiratórias) e podem reduzir substancialmente a qualidade de vida para indivíduos alérgicos.

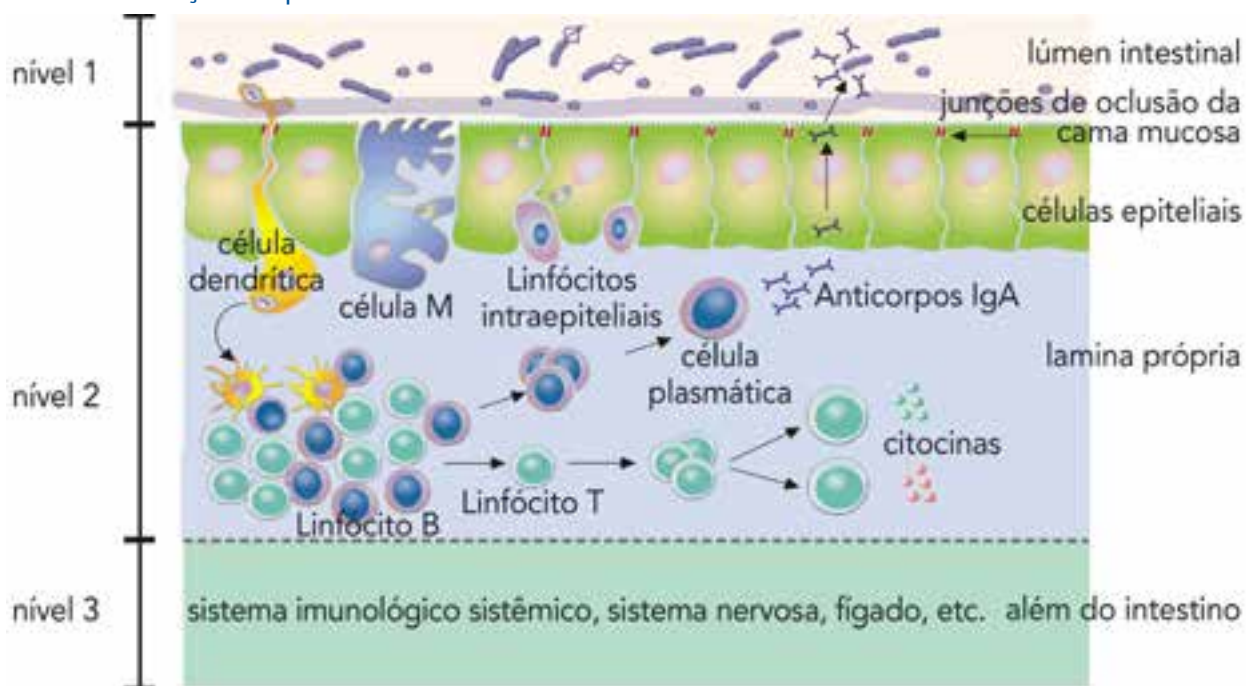
Conforme mencionado anteriormente, a prevalência de alergias tem aumentado nas sociedades ocidentais.

Há cada vez mais evidências de que a natureza da microbiota adquirida pelos bebês no período pós-parto tem papel importante na maturação do sistema imunológico. Há indicações de que crianças atópicas tendem a apresentar certo grau de disbiose, com mais clostrídios e menos bifidobactérias que indivíduos não atópicos. Além disso, os dados sugerem que bebês amamentados são menos predispostos a quadros alérgicos. Sugeriu-se, portanto, que os prebióticos podem ajudar a reduzir o risco de desenvolvimento de atopia ou reduzir os sintomas associados de eczema atópico ou rinite alérgica. Há evidências promissoras, com base no acompanhamento de uma intervenção, não apenas de que as fórmulas suplementadas com prebióticos reduzem a suscetibilidade à atopia, mas também de que os benefícios podem persistir até os 2 anos de idade. Além disso, em estudos em bebês com alto risco de alergia, alimentados com fórmulas suplementadas por 6 meses, houve redução dos níveis de IgE e de alguns tipos de IgG.

Foram conduzidos diversos estudos sobre o impacto dos probióticos no desenvolvimento de sintomas alérgicos em bebês com alto risco de doença atópica. Na maioria deles, as mães consumiram probióticos antes do parto, e os bebês receberam probióticos após o nascimento. Os resultados mostraram uma redução no risco de eczema a partir dos 2 anos de idade. No geral, os resultados apontam para a especificidade das estirpes e também para a existência de duas janelas de oportunidade separadas: em primeiro lugar, o consumo de probióticos pelas mães no período perinatal e, em segundo lugar, o uso de probióticos durante o desmame. Estudos já concluídos ou em andamento também abordaram o manejo ou redução de sintomas alérgicos, incluindo aqueles relacionados a eczema atópico ou rinite alérgica; os resultados são promissores, mas ainda não são conclusivos. Isso provavelmente reflete a complexidade de espectro das doenças alérgicas e o fato de que foram usados vários desenhos de estudos diferentes.

FIGURA 7.

Os três níveis de ação dos probióticos



As bactérias probióticas podem interferir no crescimento ou sobrevivência de micro-organismos patogênicos no lúmen intestinal (nível 1). As bactérias probióticas podem aumentar a função de barreira e o sistema imunológico da mucosa (nível 2) e, para além do intestino, exercem efeito no sistema imunológico sistêmico, bem como em outras células e sistemas de órgãos, como o fígado e o cérebro (nível 3). Fonte: Rijkers (2010).

PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS: MECANISMOS DE AÇÃO

Mecanismo geral

Acredita-se que tanto os probióticos quanto os prebióticos atuem principalmente com base em efeitos diretos ou

indiretos sobre a microbiota e o ambiente intestinal e/ou sobre as funções do hospedeiro. No caso dos probióticos, consomem-se micro-organismos vivos, em doses que variam de $\sim 10^8$ a 10^{12} células/dia, dependendo do produto. Esse alto número de micro-organismos pode ter impacto maior no trato gastrointestinal superior, onde as densidades de micro-organismos existentes são mais baixas, mas acredita-se que esse impacto ocorra também no cólon. Os prebióticos melhoram o crescimento da microbiota endógena ou, possivelmente, estimulam

o crescimento de probióticos quando administrados simultaneamente. Portanto, probióticos e prebióticos compartilham muitos mecanismos de ação comuns, mediados pelo impacto dos micro-organismos sobre o hospedeiro, que serão discutidos a seguir. No caso de efeitos relacionados somente aos prebióticos ou apenas aos probióticos, os mecanismos são menos conhecidos e foram mencionados na seção de efeitos na saúde.

Probióticos e prebióticos (por meio da estimulação de organismos comensais) têm efeito e interação com o hospedeiro com base em dois modos de ação principais, ou uma combinação de ações (Figura 6):

- Impacto dos micro-organismos ou seus respectivos metabólitos/enzimas no trato gastrointestinal e microbiota do hospedeiro.
- Interação com as células e o sistema imunológico do hospedeiro.

Trato gastrointestinal e sua microbiota

Conforme observado, as bifidobactérias e os lactobacilos no cólon fermentam preferencialmente os carboidratos que escapam da digestão no trato gastrointestinal superior, o que resulta em um pH reduzido no cólon. As bifidobactérias podem fermentar frutanos porque possuem uma enzima, a α -frutofuranosidase, que, em outras bactérias, não existe ou apresenta atividade mais baixa; isso confere vantagens competitivas às bifidobactérias quando expostas a frutanos no intestino humano. Da mesma forma, a presença da β -galactosidase nos lactobacilos ou estreptococos confere vantagens competitivas na fermentação de GOS. A metabolização de frutanos prebióticos por bifidobactérias produz principalmente os componentes ácidos acetato e lactato. A alimentação cruzada desses produtos de fermentação com outras espécies dá origem ao butirato e ao propionato. O butirato e o propionato também são

formados pela fermentação direta de outros carboidratos alimentares.

Os benefícios de um pH mais baixo no cólon estimulam a multiplicação e a sobrevivência dos organismos comensais, que preferem condições mais ácidas, e inibem a capacidade de alguns patógenos de se aderirem, crescerem, translocarem-se no epitélio ou colonizarem o trato gastrointestinal. Além disso, há muito tempo já se sabe, com base em estudos *in vitro* de fibras alimentares fermentáveis, que o butirato melhora a diferenciação celular da mucosa e isso possivelmente promove a função de barreira do epitélio.

A fermentação sacarolítica, ao mesmo tempo, reduz o potencial de efeitos adversos da fermentação de proteínas e outros processos, que dão origem a compostos nitrogenosos e sulfurosos, como a amônia, compostos N-nitrosos e azoicos, bem como sulfetos.

Muitas bactérias produzem bacteriocinas, que são peptídeos ou proteínas destinadas a reduzir a chance de sobrevivência de organismos concorrentes. Observou-se em estudos *in vitro* que as bacteriocinas produzidas por bactérias probióticas reduzem a capacidade de patógenos, como a *E. coli* O157:H7, de se aderirem e invadirem células intestinais cultivadas em laboratório. Também já foi relatada produção de bacteriocina após a administração de antibióticos. Esse pode ser um dos mecanismos pelos quais os probióticos e prebióticos reduzem a ocorrência de infecções em humanos e animais, e aumentam a sobrevivência de camundongos nos estudos em que se impõem desafios letais com patógenos. Evidências adicionais de suporte para esse mecanismo provêm de estudos que utilizaram bactérias modificadas para deixar de produzir bacteriocinas. Nesse caso, esses organismos perdem sua capacidade de impedir a aderência e translocação de patógenos em estudos *in vitro* e/ou de reduzir a ocorrência de infecção/aumentar a sobrevivência em animais infectados. Além

disso, demonstrou-se *in vitro* que os probióticos alteram a expressão gênica de alguns patógenos, reduzindo, portanto, a respectiva virulência.

Alguns probióticos podem melhorar a função de barreira da camada mucosa ou das células epiteliais. Evidências de estudos com culturas de células indicam que um aumento na produção de mucinas pode ser obtido com a melhora da expressão gênica nas células caliciformes produtoras de muco, que revestem o trato gastrointestinal. O aumento da camada mucosa ajuda a proteger as células epiteliais da potencial translocação de patógenos e pode melhorar a eliminação de patógenos do trato gastrointestinal.

Os probióticos podem também melhorar a capacidade das células especializadas de Paneth de produzir peptídeos antibacterianos conhecidos como defensinas. Essa hipótese é respaldada por estudos *in vitro* que utilizaram células epiteliais intestinais (ex: Caco-2), cultivadas em tecido, demonstrando que determinados probióticos podem estimular a expressão do mRNA da β -defensina e a secreção de peptídeos em humanos.

Estudos *in vitro* indicam que probióticos e prebióticos podem afetar a função de barreira do próprio epitélio, melhorando a resistência das junções de oclusão, possivelmente porque exercem efeito sobre as proteínas ali existentes (ex.: ocludinas e claudinas). O aumento da expressão de genes que codificam proteínas da junção de oclusão foi recentemente demonstrado em um estudo realizado em voluntários humanos, que consumiram uma estirpe específica de *Lactobacillus*.

Estudos animais e *in vitro* detectaram que probióticos específicos podem competir com patógenos por receptores nas células epiteliais ou na camada mucosa, evitando, portanto, a adesão e translocação de patógenos. Ao mesmo tempo, outros probióticos podem se ligar diretamente aos patógenos, reduzindo a capacidade destes de colonizar o intestino. Há evidências substanciais

de estudos em camundongos, mostrando que a alimentação com determinadas estirpes de probióticos reduz intensamente a capacidade de patógenos, como *S. typhimurium* e *E. coli* patogênica, de se translocar e invadir o fígado e o baço. Estudos *in vitro* demonstraram que as mesmas estirpes competem com patógenos para aderir às células. A influência na translocação de patógenos em modelos de animais infectados também já foi demonstrada para alguns prebióticos.

Interação com o hospedeiro

O mais complexo dos mecanismos propostos para explicar como atuam os probióticos e micro-organismos endógenos estimulados é a interação com as células imunológicas e o tecido linfóide gastrointestinal, com modulação das respostas imunológica e inflamatória do hospedeiro, possibilitando um potencial de impacto além do intestino (Figura 7).

Considera-se geralmente que o sistema imunológico dos mamíferos é formado por duas partes principais: a resposta imunológica inata (ou imediata e não específica) e a resposta imunológica adquirida (ou adaptativa e específica). Ambas são extremamente complexas e envolvem células (imunidade celular) e outros componentes secretados no sangue (ex.: anticorpos e citocinas). Os dois braços trabalham juntos para proteger o hospedeiro de patógenos (bactérias, vírus, fungos), outros materiais estranhos (antígenos) e células tumorais que possam aparecer no hospedeiro. Para mais informações, consulte a Monografia Concisa do ILSI Europe sobre Nutrição e Imunidade em Humanos (ILSI, 2011).

Devido ao “diálogo” entre bactérias e células epiteliais, micro-organismos ingeridos e endógenos parecem impactar tanto a resposta inata quanto a adaptativa do sistema imunológico do hospedeiro. A interação entre as células microbianas (comensais, probióticas ou patogênicas) e as células do hospedeiro é mediada

por receptores específicos, como os receptores do tipo *toll-like* (RTL), associados às células que revestem o trato gastrointestinal dos mamíferos. A ativação desses receptores inicia uma cascata de sinais imunes coordenados, que levam a diferentes respostas. Essas respostas podem, por exemplo, assegurar uma maturação balanceada das células-T (TH1 e TH2) e células-T regulatórias, permitindo uma reação adequada a possíveis patógenos e antígenos alimentares. Acredita-se que a reação inadequada das células-T é uma das características dos quadros alérgicos, conforme mencionado anteriormente. Além disso, a ativação das vias imunológicas também pode resultar na diferenciação das células-B e produção de anticorpos protetores, como IgA, secretados no lúmen intestinal. Da mesma forma, observou-se em estudos humanos e animais que a ingestão de estirpes específicas de probióticos ou de prebióticos estimula o aumento de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF- β , e a redução na expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IFN- γ . Sugeriu-se que essas alterações no equilíbrio de citocinas poderia ser um dos mecanismos pelos quais prebióticos e probióticos são capazes de mitigar a inflamação intestinal crônica.

A atividade das células fagocíticas (neutrófilos e macrófagos) e células *natural killer* (NK) (linfócitos não-T e não-B), que fazem parte da resposta imunológica inata, também é modulada em animais e humanos pelos diferentes probióticos e, até certo ponto, por prebióticos e simbióticos. Além disso, estudos animais sugerem que os receptores acoplados à proteína G, existentes em determinados linfócitos, possivelmente atuam como receptores de AGCC, e os níveis desses receptores aumentam com o consumo de prebióticos, abrindo possibilidades para a existência de mecanismos alternativos de impacto sobre o sistema imunológico.

Embora estudos em humanos tenham detectado alterações em biomarcadores, como níveis de citocinas, bem como

no número e na atividade de células imunológicas, é extremamente importante que sejam realizados estudos que também avaliem resultados clínicos. Medidas clínicas, como redução na incidência de infecções ou melhora na resposta imunológica a vacinas, podem então ser relacionados às medidas de biomarcadores imunológicos humorais ou celulares. Embora resultados de estudos animais não necessariamente possam ser extrapolados para humanos, estudos *in vivo* em modelos animais representam um modo valioso de compreender a cascata de sinalização complexa envolvida na resposta imunológica de proteção.

ABREVIÇÕES

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
CU	Colite Ulcerativa/ulcerativa
DAA	Diarreia associada a antibióticos
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória do intestino
ECN	Enterocolite necrosante
FOS	Fruto-oligossacarídeos – normalmente aplicados a misturas de DP3–DP9
GI	Gastrointestinal
GOS	Galacto-oligossacarídeos – normalmente aplicados a misturas de DP3–DP9
GP	Grau de polimerização, ou seja, número de monômeros em uma molécula
IL	Interleucina
ITRS	Infecção do trato respiratório superior
QPS	Suposição de segurança qualificada
RTL	Receptores do tipo <i>toll-like</i>
SII	Síndrome do intestino irritável
TLAI	Tecido linfóide associado ao intestino
UFC	Unidades formadoras de colônias

CONCLUSÕES GERAIS

A ciência em torno do conceito de probióticos e prebióticos continua a se desenvolver. Iniciativas globais de pesquisa têm contribuído para o entendimento da importância dos organismos comensais gastrointestinais e sua extraordinária relação simbiótica com seres humanos. A continuidade das pesquisas a respeito da microbiota certamente ajudará a esclarecer melhor o impacto de probióticos e prebióticos na saúde humana.

Os probióticos surgiram para proporcionar funções adicionais, que podem compensar, substituir ou ser acrescentadas às funções da microbiota intestinal e, portanto, impactar direta ou indiretamente o hospedeiro por meio de um “diálogo” com a microbiota intestinal ou o próprio hospedeiro. Além disso, os efeitos podem ser locais (no trato gastrointestinal) ou sistêmicos. Os prebióticos servem para melhorar a microbiota intrínseca, pela estimulação seletiva dos grupos considerados importantes para a eubiose.

Nas últimas décadas, pesquisas demonstraram possíveis benefícios de probióticos e prebióticos alimentares sobre a saúde e contribuíram para nossa compreensão dos mecanismos que possibilitam esses efeitos. O impacto mais frequentemente relatado dos probióticos e prebióticos é sobre a função intestinal, incluindo o tempo de trânsito, DAA e diarreia infecciosa. Continuam surgindo evidências de que probióticos e prebióticos têm influência no sistema imunológico e, portanto, podem melhorar a resistência a infecções, principalmente dos tratos gastrointestinal e respiratório, e ajudar a mitigar alergias, particularmente em bebês e crianças pequenas. Há cada vez mais dados sobre o potencial de probióticos e prebióticos de impactar outros quadros do trato gastrointestinal, como DII, SII e câncer de cólon. No caso dos prebióticos, espera-se que seja comprovado como um benefício para a saúde

óssea o papel bem estabelecido dessas substâncias na melhora da absorção de cálcio.

Pode-se esperar também que se estabeleça um papel importante dos prebióticos e probióticos no controle do apetite e do peso. Uma área de interesse em expansão, tanto para prebióticos quanto para probióticos, é a investigação do potencial anti-inflamatório desses elementos em quadros que vão além do intestino, como doença cardiovascular, obesidade e síndrome metabólica.

É extremamente importante lembrar que os benefícios relatados para probióticos devem ser considerados específicos de cada estirpe, exceto quando diferentemente demonstrado. É provável que os efeitos dos prebióticos também sejam específicos de cada substância. Portanto, é indispensável que isso seja considerado, tanto para probióticos quanto para prebióticos, em futuros estudos com humanos. Esses estudos, além de estabelecer os efeitos de cada ingrediente, também devem ter como objetivo melhorar nosso entendimento dos mecanismos de ação e, se possível, levar à validação de marcadores biológicos.

Em relação aos estudos com prebióticos, deve-se lembrar que, atualmente, existem apenas alguns prebióticos estabelecidos. Da mesma forma, apenas um número limitado de micro-organismos já foi documentado como probiótico. Em todos os casos, fica claro que os prebióticos e probióticos devem ser consumidos com regularidade para conferir benefícios.

Esta monografia pretende resumir a ciência e os princípios válidos atualmente para probióticos e prebióticos. É importante observar que esses ingredientes podem ser facilmente incorporados a uma dieta balanceada e que há cada vez mais evidências dos possíveis benefícios à saúde a eles associados.

GLOSSÁRIO

Anticorpo: proteína específica produzida no sangue ou nos tecidos como parte da resposta imunológica a um antígeno estranho, como uma bactéria, toxina ou proteína alimentar. O anticorpo interage com o antígeno, desativando-o e, assim, formando a base do conceito de imunidade.

Antígeno: substância que o corpo reconhece como estranha e que pode gerar resposta imunológica. Os antígenos são predominantemente peptídeos ou proteínas (ex.: antígeno bacteriano, antígeno ou toxina alimentar).

Atopia: suscetibilidade genética à ocorrência de reações de hipersensibilidade (respostas imunológicas exageradas) a antígenos comuns, como um eczema atópico em resposta a um alimento comum.

Comensal: do latim, "mesa comum". Significa dois organismos vivendo juntos de modo que seja benéfico para os ambos ou, no mínimo, não seja nocivo para nenhum deles. Portanto, há bactérias comensais que habitam no intestino humano e que podem ser neutras ou benéficas.

Citocinas: proteínas de baixo peso molecular (que não são anticorpos), produzidas por vários tipos de células, e envolvidas na comunicação intercelular e no controle da resposta inflamatória e imunológica. As citocinas incluem os interferons, as interleucinas e as linfocinas.

Disbiose: condição da microbiota intestinal em que um ou alguns micro-organismos potencialmente nocivos estão presentes em grandes quantidades, criando, portanto, uma situação propensa a doenças, ou resultando em outras perturbações perceptíveis da microbiota, como fezes líquidas, infecções gastrointestinais ou inflamações.

Eubiose: anteriormente denominada "normobiose", trata-se da composição de uma microbiota estável ou balanceada em um indivíduo saudável. Ainda não se sabe como se constitui exatamente a eubiose e, portanto, não há uma definição geral em relação à composição ou função bacteriana.

Fermentação: oxidação anaeróbica de compostos orgânicos para gerar energia metabólica na ausência do oxigênio como coletor de elétrons. Equivalentes de redução são liberados na forma de hidrogênio, amônia, sulfeto de hidrogênio, metano, ácidos orgânicos ou álcoois. Por exemplo, a oxidação de carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), etanol, ácido láctico e/ou gases para produzir energia em forma de ATP.

Micróbio/micro-organismo: pequenos organismos, muitas vezes unicelulares, incluindo bactérias, arqueas, leveduras, bolores, fungos, algas e plâncton (os fungos também podem ser multicelulares). Embora as definições possam variar, pressupõe-se que micro-organismos não incluem os vírus.

Microbiota: todos os micro-organismos encontrados em uma região ou hábitat particular; portanto, a microbiota intestinal descreve toda a população de micro-organismos intestinais encontrados no intestino ou no trato gastrointestinal. O termo "microflora" não é mais utilizado.

Oligossacarídeos: carboidrato composto por 3-9 unidades monossacarídicas unidas por ligações glicosídicas. Alguns são prebióticos.

Polissacarídeos: carboidratos compostos por 10 ou mais unidades monossacarídicas. Alguns são prebióticos.

Taxonomia: ciência que identifica espécies e as enquadra em uma classificação.

MATERIAIS DE REFERÊNCIA E LEITURAS RELACIONADAS

Blaut M; Clavel T. Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *Journal of Nutrition* 2007;137(3 Suppl 2):751S-755S.

Braegger C et al. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2011;52:238-250.

Cani PD; Delzenne NM. The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacology & Therapeutics* 2011;130:202-212.

EFSA. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); guidance on the scientific requirements for health claims related to gut and immune function. *EFSA Journal* 2011;9:1984.

EFSA. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); general guidance for stakeholders on the evaluation of Article 13.1, 13.5 and 14 health claims. *EFSA Journal* 2011;9:2135.

FAO/WHO. Joint FAO/WHO Working Group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf>.

FAO/WHO. Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, October, 2001. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf>.

Gibson, G.R., et al. Dietary prebiotics: current status and new definition. *IFIS Functional Foods Bulletin* 2011;7:1-19.

HMP - Human Microbiome Project. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, 2012.

ILSI Europe. Guidance for assessing the probiotics beneficial effects: how to fill the GAP. *Journal of Nutrition* 2010;140 (Suppl 3S-I):671S-721S. Series of papers presented at a workshop "Guidance for assessing the probiotics beneficial effects: how to fill the GAP" organised by the ILSI Europe Probiotics Task Force in association with the International Dairy Federation, Montreux, Switzerland, 22-24 May 2008.

ILSI Europe. ILSI Europe Concise Monograph on Nutrition and Immunity in Man, 2nd Edition. ILSI Europe, Brussels, 2011. Disponível em: <<http://www.ilsi.org/Europe/Publications/Nutrition%20and%20Immunity.pdf>>.

MetaHIT. Metagenomics of the human intestinal tract, 2008. Disponível em: <<http://www.metahit.eu/>>.

Metchnikoff, I. I. The prolongation of life: Optimistic studies (reprinted edition 1907). New York, NY, USA: Springer. Metchnikoff, I. I. (2004). The prolongation of life: Optimistic studies (reprinted edition 1907). New York, NY, USA: Springer. 2004.

O'Toole PW; Cooney JC. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2008:175285.

Rijkers GT et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: current status and recommendations for future research. *Journal of Nutrition* 2010;140:6715-6765.

Roberfroid M et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. Commissioned by the ILSI Europe Prebiotics Task Force. *British Journal of Nutrition* 2010;104(Suppl. S2):S1-63.

Salminen A et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function.

British Journal of Nutrition 1998;80 (Suppl. 1):S147-S171.

Sanders ME et al. Probiotics: their potential to impact human health. Council for Agricultural Science and Technology (CAST), Issue Paper 36. 2007. CAST, Ames, Iowa.

Sanders ME. How do we know when something called "probiotic" is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals. *Functional Food Reviews* 2009;1:3-12.

Sanders ME. Impact of probiotics on colonizing microbiota of the gut. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2011;45(Suppl. 3):S115-S119.

Spahn TW; Kucharzik T. Modulating the intestinal immune system: the role of lymphotoxin and GALT organs. *Gut* 2004;53:456-465.

World Gastroenterology Organisation. Practice guideline: probiotics and prebiotics, October 2011. Disponível em: <<http://www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics>>.

Salminen et al., (1998) Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition* 80(Suppl. 1):S147-S171.

Sanders, M.E., et al. (2007). Probiotics: their potential to impact human health. Council for Agricultural Science and Technology (CAST), Issue Paper 36. CAST, Ames, Iowa.

Sanders, M.E. (2009). How do we know when something called "probiotic" is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals. *Functional Food Reviews*, 1:3-12.

Sanders, M.E. (2011). Impact of probiotics on colonizing microbiota of the gut. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 45(Suppl. 3): S115-S119.

Spahn, T.W. and Kucharzik, T. (2004) Modulating the intestinal immune system: the role of lymphotoxin and GALT organs. *Gut*, 53:456-465.

World Gastroenterology Organisation (2011) Practice guideline: probiotics and prebiotics, October 2011. <http://www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics>

Other ILSI Europe Publications

Concise Monographs

- Alcohol – Health Issues Related to Alcohol Consumption
- A Simple Guide to Understanding and Applying the Hazard Analysis Critical Control Point Concept
- Calcium in Nutrition
- Carbohydrates: Nutritional and Health Aspects
- Caries Preventive Strategies
- Concepts of Functional Foods
- Dietary Fibre
- Food Allergy
- Food Biotechnology – An Introduction
- Food, Glycaemic Response and Health
- Functional Foods – From Science to Health and Claims
- Genetic Modification Technology and Food – Consumer Health and Safety
- Healthy Lifestyles – Nutrition and Physical Activity
- Microwave Ovens
- Nutrition and Genetics – Mapping Individual Health
- Nutrition and Immunity in Man
- Nutritional and Health Aspects of Sugars – Evaluation of New Findings
- Nutritional Epidemiology, Possibilities and Limitations
- Oral and Dental Health – Prevention of Dental Caries, Erosion, Gingivitis and Periodontitis
- Oxidants, Antioxidants, and Disease Prevention
- Principles of Risk Assessment of Food and Drinking Water Related to Human Health
- The Acceptable Daily Intake – A Tool for Ensuring Food Safety
- Threshold of Toxicological Concern (TTC)
- Type 2 Diabetes – Prevention and Management

Reports

- Addition of Nutrients to Food: Nutritional and Safety Considerations
- An Evaluation of the Budget Method for Screening Food Additive Intake
- Animal-Borne Viruses of Relevance to the Food Industry
- Antioxidants: Scientific Basis, Regulatory Aspects and Industry Perspectives
- Applicability of the ADI to Infants and Children
- Application of the Margin of Exposure Approach to Compounds in Food which are both Genotoxic and Carcinogenic
- Approach to the Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)
- Assessing and Controlling Industrial Impacts on the Aquatic Environment with Reference to Food processing

- Assessing Health Risks from Environmental Exposure to Chemicals: The Example of Drinking Water
- Beyond PASSCLAIM – Guidance to Substantiate Health Claims on Foods
- Campylobacters as Zoonotic Pathogens: A Food Production Perspective
- Considering Water Quality for Use in the Food Industry
- Consumer Understanding of Health Claims
- Detection Methods for Novel Foods Derived from Genetically Modified Organisms
- Emerging Technologies for Efficacy Demonstration
- Evaluation of Agronomic Practices for Mitigation of Natural Toxins
- Evaluation of the Risks Posed in Europe by Unintended Mixing of Food Crops and Food Crops Developed for Non-Food Uses
- Exposure from Food Contact Materials
- Foodborne Protozoan Parasites
- Foodborne Viruses: An Emerging Problem
- Food Consumption and Packaging Usage Factors
- Food Safety Management Tools
- Food Safety Objectives – Role in Microbiological Food Safety Management
- Frontiers in Food Allergen Risk Assessment
- Functional Foods in Europe – International Developments in Science and Health Claims
- Functional Foods – Scientific and Global Perspectives
- Guidance for the Safety Assessment of Botanicals and Botanical Preparations for Use in Food and Food Supplements
- Impact of Microbial Distributions on Food Safety
- Markers of Oxidative Damage and Antioxidant Protection: Current status and relevance to disease
- 3-MCPD Esters in Food Products
- Method Development in Relation to Regulatory Requirements for the Detection of GMOs in the Food Chain
- Micronutrient Landscape of Europe: Comparison of Intakes and Methodologies with Particular Regard to Higher Consumption
- *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) and the Food Chain
- Nutrition in Children and Adolescents in Europe: What is the Scientific Basis?
- Overview of the Health Issues Related to Alcohol Consumption
- Overweight and Obesity in European Children and Adolescents: Causes and consequences – prevention and treatment

- Packaging Materials: 1. Polyethylene Terephthalate (PET) for Food Packaging Applications
- Packaging Materials: 2. Polystyrene for Food Packaging Applications
- Packaging Materials: 3. Polypropylene as a Packaging Material for Foods and Beverages
- Packaging Materials: 4. Polyethylene for Food Packaging Applications
- Packaging Materials: 5. Polyvinyl Chloride (PVC) for Food Packaging Applications
- Packaging Materials: 6. Paper and Board for Food Packaging Applications
- Packaging Materials: 7. Metal Packaging for Foodstuffs
- Packaging Materials: 9. Multilayer Packaging for Food and Beverages
- Practical Guidance for the Safety Assessment of Nanomaterials in Food
- Recontamination as a Source of Pathogens in Processed Foods – A Literature Review
- Recycling of Plastics for Food Contact Use
- Risk Assessment Approaches to Setting Thermal Processes in Food Manufacture
- Safety Assessment of Viable Genetically Modified Micro-organisms Used in Food
- Safety Considerations of DNA in Foods
- *Salmonella* Typhimurium definitive type (DT) 104: A multi-resistant *Salmonella*
- Significance of Excursions of Intake above the Acceptable Daily Intake (ADI)
- The Safety Assessment of Novel Foods and Concepts to Determine their Safety in use
- Threshold of Toxicological Concern for Chemical Substances Present in the Diet
- Tools for Microbiological Risk Assessment
- Transmissible Spongiform Encephalopathy as a Zoonotic Disease
- Trichothecenes with a Special Focus on DON
- Using Microbiological Risk Assessment (MRA) in Food Safety Management
- Validation and Verification of HACCP
- Water Use of Oil Crops: Current Water Use and Future Outlooks

To order

ILSI Europe a.i.s.b.l.
83 Avenue E. Mounier, Box 6
B-1200 Brussels, Belgium
Phone (+32) 2 771 00 14 • Fax (+32) 2 762 00 44
E-mail: publications@ilsieurope.be

ILSI Europe's Concise Monographs and Report Series can be downloaded from www.ilsieurope.be

Monografias Concisas ILSI Europe

- Alcohol – Health Issues Related to Alcohol Consumption
- A Simple Guide to Understanding and Applying the Hazard Analysis Critical Control Point Concept
- Calcium in Nutrition
- Carbohydrates: Nutritional and Health Aspects
- Caries Preventive Strategies
- Concepts of Functional Foods
- Dietary Fibre
- Food Allergy
- Food Biotechnology – An Introduction
- Food, Glycaemic Response and Health
- Functional Foods – From Science to Health and Claims
- Genetic Modification Technology and Food – Consumer Health and Safety
- Healthy Lifestyles – Diet, Physical Activity and Health
- Microwave Ovens
- Nutrition and Genetics – Mapping Individual Health
- Nutrition and Immunity in Man
- Nutritional and Health Aspects of Sugars – Evaluation of New Findings
- Nutritional Epidemiology, Possibilities and Limitations
- Oral and Dental Health - Prevention of Dental Caries, Erosion, Gingivitis and Periodontitis
- Oxidants, Antioxidants, and Disease Prevention
- Principles of Risk Assessment of Food and Drinking Water Related to Human Health
- The Acceptable Daily Intake – A Tool for Ensuring Food Safety
- Threshold of Toxicological Concern (TTC)
- Type 2 Diabetes – Prevention and Management

As Monografias Concisas do ILSI Europe podem ser baixadas em: www.ilsi.org/Europe/Pages/ConciseMonographSeries.aspx

O ILSI Europe também publica relatórios em sua Série Relatórios. Os Relatórios do ILSI Europe podem ser baixados em: www.ilsi.org/Europe/Pages/ReportSeries.aspx

O ILSI Europe também publica artigos e protocolos em revistas com revisão por pares. Alguns deles podem ser baixados em: www.ilsi.org/Europe/Pages/Proceedings.aspx

Para solicitar cópias:

ILSI Europe a.i.s.b.l.
Avenue E. Mounier 83, Box 6
B-1200 Bruxelas, Bélgica
Fone: (+32) 2 771 00 14
E-mail: publications@ilsieurope.be
www.ilsi.eu

ISBN - 978-85-86126-46-8



9 788586 126468