

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

ARTIGO REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Microflora intestinal: uma barreira imunológica desconhecida

Gut microbiota: an unknown immunologic barrier

AUTOR: Ana Margarida Dias Santos de Azevedo Andrade¹ (margueritta@portugalmail.pt)

ORIENTADOR: José Manuel Carvalho Tojal Monteiro^{1,2}

1- Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Portugal

2- Centro Hospitalar do Porto, Portugal

2009/2010

ÍNDICE

Resumo.....	3
Palavras-Chave.....	3
Abstract	4
Key words	4
I - Introdução	5
II - Desenvolvimento.....	6
1 – Origem, desenvolvimento e estabelecimento da flora intestinal.....	6
2 – Efeitos fisiológicos benéficos.....	10
3 – Consequências das alterações.....	11
4 – Horizonte da modulação.....	14
III - Conclusão.....	17
Referências	17
Lista de abreviaturas.....	24

RESUMO

Introdução: A importância da microflora intestinal tem vindo a ser cada vez mais reconhecida pela sua implicação em várias doenças. Sendo o intestino um dos mais importantes elementos da capacidade imunológica e dado que muitos microrganismos têm efeito na modulação imunológica específica, não específica e na barreira intestinal, estranho parece ser o facto de tal não ter sido reconhecido há mais tempo.

Objectivo: Revisão bibliográfica sobre a microflora intestinal: origem, efeitos benéficos, alterações nocivas e actualização de conhecimentos científicos quanto à sua modulação.

Desenvolvimento: A flora intestinal vive em simbiose connosco e dela dependem vários factores essenciais para a manutenção da nossa saúde, sendo um deles a correcta estimulação imunitária. Um desequilíbrio na flora intestinal causa vários distúrbios na resposta imunitária, que vão desde uma menor capacidade de defesa face aos microrganismos causadores de infecções correntes, como as do trato respiratório e urinário, até à facilitação do aparecimento ou incremento de doenças auto-imunes e alérgicas. O recente aumento destas últimas doenças encontra suporte na teoria conhecida pela hipótese da higiene, segundo a qual a crescente prevalência é devida à redução da infecção ou do estado infeccioso. A modulação da colonização intestinal aparece assim como uma janela de intervenção para conter estes dados epidemiológicos. Têm-se elaborado estratégias para manipular as populações bacterianas, procurando assim medidas de tratamento e prevenção de doenças baseadas na restauração da flora intestinal ideal.

Conclusão: Há uma sustentada verificação de que a manipulação da flora intestinal, no sentido de a aproximar o mais possível do fisiológico, tem efeitos positivos na redução da prevalência das doenças alérgicas e auto-imunes.

Palavras-Chave: microflora intestinal; barreira imunológica; imunomodulação; probióticos.

ABSTRACT

Introduction: The importance of gut microbiota has been increasingly recognized for its involvement in various diseases. As the gut is one of the most important elements of the immunological capacity and because many microorganisms are effective in modulating specific immune non-specific and intestinal barrier, it seems weird to be that such was not earlier recognized.

Objective: A literature review on the gut microbiota: origin, beneficial effects, harmful changes and updating of scientific knowledge as to its modulation.

Development: The gut microbiota living in symbiosis with us and depend on several factors crucial to maintaining our health, one being the correct immune stimulation. An imbalance in the gut causes various disturbances in the immune response, ranging from a reduced ability to defend against the microorganisms that cause infections chains, such as respiratory and urinary tract, to facilitate the onset or increase of autoimmune diseases and allergic . The recent rise of the latter diseases is known in theory support as the hygiene hypothesis that this growing prevalence is due to reduced infection or infection status. Modulation of intestinal colonization appears as a window for action to contain these epidemiological data. There have been developed strategies to manipulate bacterial populations, thus seeking treatment measures and prevention of diseases based on the restoration of optimal gut microbiota.

Conclusion: There is a sustained finding that manipulation of gut microbiota, towards the close as possible to physiological levels, has positive effects in reducing the prevalence of allergic diseases and autoimmune diseases.

Key words: gut microbiota; immunologic barrier; immune-modulation; probiotics.

I - INTRODUÇÃO

Há muito que são conhecidos os microorganismos intestinais nos seres humanos. Em 1885, Pasteur expressou a sua visão sobre a importância das bactérias, acreditando que a vida na ausência de micróbios seria impossível ⁽¹⁾. Isto não se confirmou na experiência com animais *germfree* (isentos de bactérias). Estes sobrevivem, mas com prejuízos significativos para o desenvolvimento imunitário ⁽²⁾.

O trato gastrointestinal alberga o maior número e diversidade de espécies de bactérias das que colonizam o corpo humano. Nos indivíduos saudáveis, as bactérias são encontradas em todo trato gastrointestinal, porém com uma distribuição heterogênea. No estômago e no intestino delgado o ambiente é desfavorável à colonização e proliferação bacteriana, que é reduzida por ação bactericida do suco gástrico, da bÍlis e secreção pancreática, assim como pelo peristaltismo intenso do delgado. O íleo é um sítio de transição bacteriológica, entre a escassa população bacteriana do jejuno e a densa flora do cólon. No cólon, principalmente no proximal, as bactérias encontram condições favoráveis para a sua proliferação devido ao peristaltismo lento, à ausência de secreções intestinais e ao abundante suprimento nutricional. A população microbiana do cólon alcança cerca de 10^{12} microorganismos por grama de fezes, e supera em número o total das células eucarióticas presentes no corpo humano ^{(3), (4)}. Esta enorme população bacteriana é composta predominantemente por poucos gêneros bacterianos (30 a 40) mas altamente diversos quanto às espécies (400 a 1000), variando segundo o indivíduo. Uma vez instalada, por volta dos 18 aos 24 meses, a microbiota do indivíduo tende a ser estável durante toda a vida. Cerca de 97% das espécies são anaeróbias e 3% são anaeróbias facultativas. O gênero *Bacteroides* é o mais frequente no cólon, mas os *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, família *Enterobacteriaceae* (*E. coli* e outras *Enterobacter*), *Streptococcus* e *Clostridium* também estão presentes. Considera-se saudável a microbiota intestinal onde exista grande participação de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* ^{(3), (5), (6)}.

II - DESENVOLVIMENTO

II.1 – Origem, desenvolvimento e estabelecimento da flora intestinal

O intestino do feto, banhado apenas pelo líquido amniótico, é estéril. A colonização bacteriana intestinal inicia-se ao nascimento, quando o recém-nascido (RN) é exposto a diferentes espécies de microorganismos presentes na mãe (canal vaginal, região perineal) e no meio ambiente ⁽⁷⁾. Há uma selecção da flora com persistência de algumas populações bacterianas e eliminação de outras. Por volta dos dois anos de idade, a composição da microflora torna-se estável, sendo alcançada a comunidade clímax ou flora tipo adulto ⁽⁸⁾. A partir deste período, embora a microflora intestinal permaneça em interacção permanente com microorganismos do meio ambiente, a sua composição mantém-se estável ao longo da vida adulta ^{(9), (10)}. O estabelecimento da microflora normal no RN é um processo progressivo, lento (pode durar alguns anos) e não é ao acaso: depende do equilíbrio entre bactérias benéficas e patogénicas. Factores intrínsecos (saúde do RN, estado imunológico, tempo de trânsito intestinal, descamação das células intestinais, proteínas do sangue, uréia e outros compostos) e factores extrínsecos (dieta da mãe ou consumo de probióticos ainda na gestação, prematuridade, tipo de parto, tipo de aleitamento - natural *versus* artificial -, introdução precoce da nutrição, condições de higiene/contaminação ambiental) e ainda outros, como herança genética e utilização de antibióticos orais, influenciam o processo de colonização e o tipo de organismos que se estabelece ^{(11), (12)}. Estes factores são simultâneos e interagem influenciando-se entre si. No habitat intestinal existem mecanismos para estabilizar a comunidade bacteriana, de forma a manter a relação harmoniosa das bactérias residentes entre si, e entre estas e o hospedeiro ⁽⁵⁾.

As **bactérias** têm sítios de adesão específicos, determinados geneticamente, que podem sofrer adaptações e/ou induzir a alterações nos receptores celulares da mucosa ⁽⁴⁾. As espécies com estas características tendem a colonizar de forma permanente o intestino, sem necessidade de

reintrodução periódica, e constituem a denominada flora autóctone. Esta tende a ser estável quanto às espécies bacterianas e número de colónias ao longo do tempo, acompanhando o indivíduo durante toda a vida. Por outro lado, espécies alóctones são aquelas externas ao ecossistema intestinal, sem a adequada capacidade de aderir à mucosa, e são transitórias ⁽¹³⁾.

A **idade** também influencia a capacidade de aderência das bifidobactérias na mucosa intestinal. No período neonatal elas aderem firmemente à mucosa, enquanto na velhice essa propriedade é enfraquecida e o seu número total diminui drasticamente ⁽¹⁴⁾.

Foi demonstrada a capacidade de interacção entre as bactérias e as células do hospedeiro, em que a microflora modificou a expressão ou a actividade dos sítios de adesão das células da mucosa, através de mediadores moleculares ⁽¹⁵⁾. Este processo de indução bacteriana é denominado de *quorum sensing* e decorre de sinais moleculares libertados no meio ambiente pela bactéria. Quando este sinal molecular atinge o sistema regulador genético da célula do hospedeiro (ou de outra bactéria), pode activar ou reprimir um gene. Esta acção bacteriana, em geral, é benéfica para a bactéria que produz o sinal e desfavorável para outras populações bacterianas ⁽¹⁶⁾.

A microflora da criança nascida por **parto** vaginal é composta, inicialmente, da flora materna que contamina o canal de parto. Na criança que nasce de cesariana, não há participação da flora materna e o meio ambiente torna-se a fonte inicial de contaminação. Nestas crianças o estabelecimento de uma flora estável ocorre mais tardiamente, a frequência de colonização por lactobacilos e bifidobactérias é menor do que nas nascidas de parto vaginal, sendo mais comum a presença de bactérias anaeróbias (Bacteroides e Clostridium). Estas diferenças ainda puderam ser observadas após seis meses de vida ^{(13),(17)}.

Após o nascimento e exposição ao meio ambiente, a **alimentação** é o factor que mais influencia o desenvolvimento da microflora intestinal. No primeiro dia de vida as primeiras bactérias que colonizam o intestino do RN são enterobactérias aeróbias e anaeróbias

facultativas (*E. coli*), que aproveitam a pequena quantidade de oxigênio proveniente da sucção⁽⁴⁾. Na flora do RN com aleitamento materno há grande predomínio das bifidobactérias e lactobacilos (> 90%), havendo pequena quantidade de espécies bacterianas potencialmente patogênicas. O leite materno cria um ambiente favorável para o crescimento das bifidobactérias (*B. bifidum*, *B. longum infantis*, *B. breve*) típicas dos lactentes e raramente encontradas em adultos. Em contraste, os RN amamentados com fórmulas artificiais desenvolvem flora mais diversa, composta sem predomínio de bifidobactérias (40 a 60%, maioria *B. adolescentis*, *B. longum* típicas dos adolescentes e adultos), assim como bactérias anaeróbias (Bacteroides e Clostridium) e anaeróbias facultativas (enterobactérias, estafilococos e enterococos)^{(18), (19)}. Estas diferenças são explicadas por vários mecanismos: factores imunológicos do leite materno (IgA secretória, lisozima, lactoferrina e nucleotídeos) inibem a flora patogénica; o pH baixo intestinal dos bebés amamentados à mama favorece o crescimento das bifidobactérias, que são mais tolerantes ao ácido; e a baixa concentração de ferro no leite materno, alta biodisponibilidade e absorção favorecida pela lactoferrina, fazem com que reste pouco ferro no lúmen intestinal para as bactérias, havendo predomínio das bifidobactérias, que tal como as bacteróides e enterobactérias, não necessitam do ferro para proliferar. Os factores *bifidi* somente presentes e em quantidade elevada no leite humano, são uma família de oligossacarídeos que só podem ser metabolizados pelas bifidobactérias, sendo prebióticos para a microflora de humanos^{(20), (21)}. Durante o desmame, quando são introduzidos alimentos sólidos, ocorre uma readaptação da microflora e começam a predominar as bactérias anaeróbias. No final do primeiro ano de vida o número de bifidobactérias assemelha-se em ambos os tipos de aleitamento e entre os dois a três anos, a microflora intestinal assemelha-se à dos adultos em número e composição⁽⁷⁾.

Existem evidências de que a selecção bacteriana inicial dentro do trato gastrointestinal seja em parte determinada **geneticamente**. Num estudo em que gémeos adultos monozigóticos

viviam separados, encontrou-se maior semelhança na composição da flora do que entre indivíduos não relacionados ⁽²²⁾. Segundo uma hipótese, o padrão de colonização é determinado através dos sítios de adesão na mucosa intestinal. A permanência das bactérias no intestino depende da ligação específica a um sítio de adesão e quando isto não ocorre é eliminada pelo peristaltismo. O controlo da colonização estaria assim relacionado com a disponibilidade e qualidade desses sítios na mucosa intestinal ⁽²³⁾.

A acção do **sistema imunitário** na definição da diversidade e supressão de populações bacterianas indesejáveis está em estudo, havendo evidência experimental de que a IgA secretória agiria como mediador desta selecção bacteriana ⁽²⁴⁾.

O uso de **antibióticos** pode alterar transitoriamente o padrão de colonização intestinal, principalmente a supressão relevante das bactérias anaeróbias, com excepção do Clostridium que permanece em níveis detectáveis ⁽⁴⁾.

O padrão de colonização dos RN varia conforme a carga microbiana do **meio ambiente** ⁽¹³⁾. Nas últimas décadas, esta carga foi reduzida nos países desenvolvidos, que passaram a empregar rigorosas práticas de higiene ao nascimento e nas condições habituais de vida da população ⁽²⁵⁾. Por outro lado, crianças nascidas em países pobres estão mais expostas à contaminação ambiental e aos riscos desta exposição excessiva e não seleccionada ⁽²⁶⁾. Um estudo brasileiro verificou variação do número de colónias de lactobacilos e bifidobactérias presentes na flora gastrointestinal consoante o nível socioeconómico. Foi sugerida uma relação entre o nível nutricional e a flora gastrointestinal, já que um baixo número de lactobacilos e bifidobactérias mostrou-se associado a um baixo índice de massa corporal ⁽²⁷⁾. A qualidade da colonização inicial do intestino pode ter um papel importante no processo de selecção entre os diferentes géneros bacterianos, trazendo consequências para toda a vida ⁽³⁾.

II.2 – Efeitos fisiológicos benéficos

Antes pensava-se que o cólon desempenhava uma função pouco importante na nutrição humana. No entanto, estudos mais recentes têm indicado que a microflora colónica apresenta um papel vital na saúde ⁽⁸⁾. Na sua maior parte, a microflora bacteriana intestinal é benéfica ao hospedeiro (bifidobactérias e lactobacilos), com funções positivas - metabólicas/nutricionais, antibacterianas, imunomoduladoras e protectoras da mucosa intestinal. Mas parte da microflora possui factores de virulência e tanto podem causar danos à célula intestinal como terem comportamento comensal, como ocorre com o *Clostridium*, que em condições propícias produz toxinas, tornando-se patogénico ^{(2), (28), (29)}.

Metabólico/nutricional. A acção das bactérias intestinais sobre determinados nutrientes permite um melhor aproveitamento intestinal. Isto ocorre com substratos que chegam não digeridos ao lúmen do cólon, principalmente carboidratos, que são fermentados e formam ácidos absorvíveis pela mucosa. O processo é denominado salvamento energético e forma os ácidos gordos de cadeia curta, que constituem a principal fonte de energia dos colonócitos e têm efeito trófico no epitélio intestinal. Os microorganismos colónicos desempenham ainda um papel na síntese da vitamina K ⁽³⁾. Há outras actividades metabólicas da microflora cujo benefício para o organismo humano ainda é pouco compreendido, como a conversão de colesterol em coprostanol, de bilirrubina em urobilina e a inativação da tripsina ⁽³⁰⁾.

Antibacteriano. As bactérias autóctones exercem protecção ecológica intestinal, impedindo o estabelecimento das patogénicas. O mecanismo principal desempenhado pela microflora é conhecido como resistência à colonização pelo efeito barreira mecânica, que ocorre pela ocupação dos sítios de adesão celulares da mucosa, pela flora autóctone. Há outros mecanismos de protecção adicionais como a competição pelos nutrientes disponíveis no meio, a produção de substâncias restritivas ao crescimento de bactérias alóctones (ácidos e metabólitos tóxicos) e a produção *in vivo* de substâncias com acção antimicrobiana ^{(8), (31)}.

Imunomodulador. O estabelecimento da microflora normal no período neonatal tem importância crucial no desenvolvimento do tecido linfóide intestinal. Por sua vez, o bom desenvolvimento do sistema imunológico local e sistêmico com o estímulo da microflora, matura o sistema imune, o que terá consequências nos processos infecciosos agudos e crônicos e no impedimento e estruturação de resposta alérgica ^{(12), (25)}. O tecido linfóide intestinal «aprende» a reconhecer as espécies de bactérias e antígenos que são desejáveis para subsequente resposta de tolerância imunológica ^{(7), (32)}.

II.3 – Consequências das alterações

São reconhecidas doenças que decorrem do desequilíbrio da flora intestinal, como a diarreia. Evidências sugerem que possíveis desequilíbrios na composição da flora ou da relação desta com o hospedeiro podem estar implicados na origem da enterocolite necrosante (EN) ^{(33), (34)}. É desta forma que, agudamente, ocorrem as gastroenterites e a enterite pseudomembranosa. A longo prazo, distúrbios na instalação e composição da flora, tanto pela depleção das bactérias benéficas como pela maior concentração das potencialmente patogênicas, poderão estar implicados na origem da doença inflamatória intestinal (DII) ^{(29), (35)} e da atopia ^{(25), (36)}, como detalhado adiante.

A EN afecta predominantemente RN prematuros, principalmente os internados na unidade de cuidados intensivos (UCI). Tem origem multifactorial (imaturidade intestinal e imunológica, infecção, hipóxia, alimentação hiperosmolar - entérica ou leite de vaca - e composição alterada da microflora intestinal), tendo cada factor um impacto variado. O atraso na instalação da flora normal favorece a enterite pela falta de bactérias protectoras e pelo reduzido desenvolvimento do sistema imunitário. No fim, existe pouca resistência à colonização intestinal pelos patógenos, o que possibilita a ocorrência de necrose. A ausência da microflora comensal no prematuro possibilita às muitas bactérias patogênicas presentes na

UCI causarem a EN, especialmente se favorecidas pelo uso de antibióticos de amplo espectro⁽³⁴⁾.

A patogênese da **DII** não está ainda esclarecida, mas a teoria mais aceita relaciona-a a uma resposta imune exacerbada às bactérias da flora entérica em indivíduos geneticamente predispostos⁽³⁷⁾. Esta hipótese recebe suporte de estudos realizados em modelos animais geneticamente modificados para desenvolverem DII que não desenvolvem a doença enquanto permanecem isentos de bactérias. A DII tem início simultâneo à colonização bacteriana intestinal⁽³⁸⁾,⁽³⁹⁾ e apesar de não existir um agente microbiano específico causador, as evidências sugerem uma relação da doença com um desequilíbrio entre bactérias patogênicas e benéficas. Diversos estudos mostram diferenças entre a flora dos pacientes portadores de DII (redução de *Lactobacillus* e *Bacteroides* e aumento na concentração de *E. coli* e *Clostridium*) e os controles⁽⁴⁰⁾,⁽⁴¹⁾. A redução de *Lactobacillus* também foi observada em estudos experimentais, e sugere um papel protector destas bactérias para prevenir ou atenuar a DII. Ratos geneticamente modificados para desenvolver DII têm uma queda na concentração dos *Lactobacillus* previamente à instalação da lesão inflamatória da mucosa, e um aumento das outras bactérias aderidas à mesma⁽⁴²⁾.

Talvez a **atopia** seja uma das entidades em que se tenha maior comprovação clínica e experimental do impacto da flora no desenrolar de uma doença. Existem evidências de que a microflora comensal seria um dos elementos impeditivos e fundamental para o desenvolvimento da tolerância imunológica.⁽⁴³⁾ Crianças que não desenvolveram atopia tinham, quando RN, maior frequência de *Clostridium* e menos *Bifidobacterium*⁽³⁶⁾. Dois outros estudos também demonstraram que números menores de lactobacilos e bifidobactérias predis põem à doença atópica⁽⁴⁴⁾,⁽⁴⁵⁾. Um estudo epidemiológico relacionou o uso precoce de antibióticos e o conseqüente desequilíbrio na flora intestinal, a um aumento de frequência da doença atópica⁽⁴⁶⁾. Nos lactentes não alérgicos e saudáveis predominam as *B. bifidum*, *B.*

infantis e *B. breve*, enquanto nos lactentes alérgicos predominam os *B. adolescentis*, semelhantes às crianças maiores ⁽⁴⁷⁾. Um estudo que avaliou a composição da flora de crianças nascidas no Gana, Nova Zelândia e Inglaterra, especificamente quanto à população de bifidobactérias, ressalta que o padrão de colonização intestinal pode variar segundo as condições socioeconómicas, e sugere uma ligação entre esses achados e a prevalência das doenças atópicas em diferentes países ⁽⁴⁸⁾. Baixa contaminação ambiental repercute-se no padrão da colonização intestinal dos RN, com consequências ainda incompletamente esclarecidas. Cogita-se que haja uma alteração na regulação do sistema imunitário, a partir da observação de grande aumento da prevalência das doenças atópicas nos países desenvolvidos ⁽²⁵⁾. Mediante a constatação de que em áreas rurais a prevalência da atopia é menor, propôs-se uma teoria para explicar estas diferenças epidemiológicas, ficando conhecida como a hipótese da higiene que relaciona inversamente infecção e atopia ⁽⁴⁹⁾. Esta teoria encontra suporte científico no desequilíbrio das linhas imunitárias linfocitárias T helper (Th) 1 e 2 ^{(50), (51)}. A linha Th1 (resposta celular) encarrega-se da defesa das infecções e do desenvolvimento da auto-imunidade, e a linha Th2 (resposta humoral) do desenvolvimento da atopia. A actividade Th1 produz citocinas pró-inflamatórias: interleucina (IL) 2 e interferão gama (INFg). A Th2 produz citocinas que predominam nas respostas alérgicas: IL-4, 5, e 13. O INFg inibe a actividade Th2 e a IL-4 a Th1, equilibrando-se. Mais higiene, melhores condições económicas e ambientais, ingestão de antibióticos e famílias mais reduzidas trazem menor exposição das crianças a infecções e à estimulação microbiana, particularmente no primeiro ano de vida acarretando menor estimulação linfocitária de padrão Th1. Deixa assim de ocorrer o efeito inibidor destes linfócitos sobre as células Th2, e é facilitada a resposta alérgica (Th2) ^{(25), (52)}. Esta hipótese sugere que o estilo de vida ocidental favorece o desenvolvimento de doenças imunomediadas, como diabetes, doença atópica, enteropatia inflamatória e muitas outras, enquanto um maior contacto com endotoxinas protege contra o desenvolvimento de

manifestações atópicas ⁽⁵⁰⁾. A alergia alimentar geralmente tem resolução espontânea a partir dos 3 anos de idade, reforçando a hipótese de que o desenvolvimento do sistema imunológico com a idade favorece a tolerância oral. No período intra uterino e neonatal predominam os linfócitos Th2. Uma microflora intestinal normal parece ser capaz de estimular a diferenciação desses linfócitos em Th1 e Th3 e promover um equilíbrio capaz de reduzir a tendência a reacções alérgicas ⁽⁵³⁾. Além disso, a atopia apresenta-se reduzida em crianças de famílias com estilo de vida antroposófico o que influencia a composição da flora intestinal em crianças, aumentando o número de Lactobacillus ^{(54), (55)}.

II.4 – Horizonte da modulação

A integridade do trato gastrointestinal é o resultado do delicado equilíbrio entre as citocinas inflamatórias (IL 1, 6 e 8 e o FNT - factor de necrose tumoral) e anti-inflamatórias (IL 1RA, 4 e 10). O potencial benefício de se modificar a composição de uma microflora anormal, pode ser uma nova forma de abordar tratar e prevenir processos inflamatórios no período neonatal e na infância ⁽⁷⁾.

Existem duas formas de modificar uma microflora anormal. A primeira é fornecer um suplemento alimentar microbiano vivo, utilizando **probióticos** que contém bactérias comensais (p. e., Lactobacillus e Bifidobacterium) que beneficiam o equilíbrio microbiano intestinal e assim influenciam a saúde. A segunda forma de obter o mesmo efeito é estimular a flora intestinal benéfica já existente utilizando um suplemento com **prebióticos**. Estes são ingredientes alimentares que contém carboidratos não digeríveis nem absorvidos (p. e., inulina e oligossacarídeos) que estimulam selectivamente o crescimento, a actividade, ou ambos, de uma espécie ou de um número limitado de espécies bacterianas que são comensais no cólon ^{(7), (56)}. Quando o produto contém simultaneamente prebióticos e probióticos, é definido como simbiótico ⁽⁵⁷⁾.

A utilização de probióticos tem sido relatada como positiva na prevenção de infecções ⁽²⁹⁾. As principais evidências dos efeitos benéficos dos probióticos na **diarreia aguda**, especialmente por rotavírus são citados por vários autores ⁽⁵⁸⁾, ⁽⁵⁹⁾. Lactentes desnutridos no Peru, que receberam probióticos durante quinze meses, tiveram redução na frequência de diarreia aguda em relação aos que não estavam com aleitamento natural ⁽⁶⁰⁾. Num estudo multicêntrico e randomizado com crianças entre um mês a três anos mostrou-se que o probiótico no soro de hidratação foi seguro, diminuiu a duração da diarreia aguda, a persistência e o tempo de permanência no hospital ⁽⁶¹⁾.

Em prematuros que receberam precocemente probióticos (*L. acidophilus* e *B. infantis*), pesquisadores chineses constataram redução na incidência e gravidade da **EN** ⁽³³⁾.

Existe a hipótese de que a instalação de uma flora benéfica nas crianças poderia tornar o desenrolar da **DII** mais benigna em humanos geneticamente predispostos ⁽⁸⁾, ⁽⁶²⁾. A administração rectal de *Lactobacillus* a um grupo de ratos foi efectiva na prevenção e controle da colite inflamatória ⁽⁴²⁾. Num outro estudo, ratos suplementados com uma combinação de prebióticos (inulina e oligofrutose) durante semanas, apresentaram redução da intensidade da colite tanto na análise histológica quanto no perfil das citocinas de mucosa. Foi ainda constatado um aumento significativo nas populações de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* ⁽⁶³⁾.

Muitos pesquisadores têm tentado descobrir os efeitos dos probióticos na modulação do sistema imunológico intestinal, com o objectivo de reduzir a gravidade das **doenças alérgicas** nas crianças. O fundamento para utilizar probióticos no tratamento destas doenças é baseado nos mecanismos de barreira da mucosa intestinal e no desequilíbrio de Th1 e Th2 a vários antígenos ⁽¹¹⁾. Bactérias probióticas e oligossacarídeos estimulam o desenvolvimento de placas de Peyer e, assim estimulam o desenvolvimento de uma melhor resposta imune ⁽⁶⁴⁾, ⁽⁶⁵⁾. Este efeito imunomodulador positivo da instalação de uma flora benéfica no período neonatal, foi constatado num estudo no qual a administração de probiótico (*Lactobacillus* GG) a RN de

alto risco para desenvolver atopia, reduziu para metade a incidência posterior de eczema atópico, durante os dois primeiros anos de vida ⁽⁶⁶⁾. Noutro trabalho verificou-se que doentes com dermatite atópica têm alterações da barreira mucosa intestinal, o que pode estar relacionado com a gênese da doença, e que a suplementação com probióticos estabiliza a barreira e diminui a sintomatologia intestinal associada ⁽⁶⁷⁾.

A melhoria da microflora intestinal através do uso de pré e probióticos durante o período de colonização intestinal tem sido sugerida, mas a importância ao longo prazo ainda não está estabelecida ⁽⁶⁸⁾. Na faixa etária pediátrica, especialmente quando se pretende utilizar probióticos para a prevenção de determinadas doenças, procura-se interferir no momento da instalação da microbiota intestinal do lactente, fazendo com que os mesmos façam parte da microbiota definitiva do hospedeiro ^{(6), (66)}. A alteração da flora intestinal estabelecida na criança maior e no indivíduo adulto parece ser mais difícil do que inicialmente se supunha. O fornecimento de bactérias probióticas tem esbarrado na estabilidade do ecossistema intestinal. Uma vez ocupados os nichos ecológicos do trato gastrointestinal por comunidades bacterianas, estas auto-regulam-se e é extremamente difícil que uma bactéria alóctone se estabeleça neste sistema. Estudos com probióticos têm mostrado que sua persistência no trato gastrointestinal é observada apenas enquanto a suplementação é mantida ⁽⁶⁹⁾.

Existem assim resultados estimulantes trazidos com a experimentação dos probióticos, mas é preciso levar em consideração que os resultados ainda podem ser considerados inconclusivos. São escassos os relatos de efeitos colaterais, mas em prematuros que fizeram uso de probióticos, foram observadas infecções sistêmicas em algumas crianças gravemente doentes ⁽⁷⁰⁾. Isto reforça a necessidade de avaliação prospectiva, multicêntrica e controlada, para avaliar todos os efeitos do uso de probióticos e prebióticos, especialmente em condições especiais, como nos prematuros ⁽²⁹⁾.

III - CONCLUSÃO

A instalação da flora intestinal é precoce, sofre influências do hospedeiro, bactérias e meio ambiente. Há várias acções bem estabelecidas, tanto as benéficas (protecção anti-infecciosa e metabólica) como algumas prejudiciais (infecções intestinais), e outras possivelmente adversas em avaliação (fisiopatogenia da DII crónica e atopia). Mais recentemente estudos têm sido feitos para descortinar a possível relação entre microflora intestinal e obesidade.

A literatura disponível mostra que os prebióticos e probióticos apresentam fundamentação teórica lógica quanto ao seu mecanismo de acção e ensaios clínicos confirmam a sua eficácia. Atribui-se deste modo um enorme potencial de aplicação dos prebióticos e probióticos em vários campos da saúde humana, incluindo infecções, alergias e inflamações. É ainda assim, importante, uma avaliação cuidadosa quer dos efeitos colaterais em RN prematuros ou crianças imunodeficientes, quer da redução da hospitalização e relação custo-benefício antes de acrescentá-los na dieta diária, para fins profiláticos ou terapêuticos.

REFERÊNCIAS

1. GW, Tannock. New perceptions of the gut microbiota: implications on future research. *Gastroenterol Clin North Am* 2005;34:361-82.
2. Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host. *Am J Clin Nutr* 2002, 2003;78:675-83.
3. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003;361:512-9.
4. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr* 2003;441:48-55.
5. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005;307:1915-20.

6. Chen CC, Walker WA. Probiotics and prebiotics: role in clinical disease states. *Adv Pediatr* 2005;52:77-113.
7. Vanderhoof JA, Young RJ. Current and potential uses of probiotics. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;93 Suppl 3:S33-37.
8. GW, Tannock. Medical importance of normal micro-flora. *Kluwer Academic Publishers* 1999.Vol. The normal microflora: an introduction.1-23.
9. Schiffrin EJ, Blum S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *Eur J Clin Nutr* 2002;56 Suppl 3:S60-64.
10. GW, Tannock. Commentary: remembrance of microbes past. *Int J Epidemiol* 2005;34:13-5.
11. O, Vaarala. Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1634-40.
12. Yamashiro Y, Castaneda C, Davidson G et al. Biotherapeutic and nutraceutical agents: working group report of the second world congress of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;39 S596-600.
13. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999;69 Suppl:1035S-45.
14. SJ, Salminen. Proceedings of an International Symposium. 2002
15. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001;291:881-4.
16. Smith S, Vaughan EE, De Vos WM. Quorum sensing within the gut. *Microbial Ecol Health Dis* 2000;2 Suppl:81-92.
17. Grolund M, Lehtonen O, Erola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;Vol. 28;19-25.

18. Chierici R, Fanaro S, Sacconandi D et al. Advances in the modulation of the microbial ecology of the gut in early infancy . *Acta Paediatr* 2003; Suppl:441:56-63.
19. Coppa GV, Bruni S, Morelli L, Soldi S, Gabrielli O. The first probiotic in humans: human milk oligosaccharides. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:S80-3.
20. Penna FJ, Nicoli JR. Influência do colostro na colonização bacteriana normal do trato digestivo do recém-nascido. *J Pediatr* 2001;77:251-2.
21. Coppa GV, Bruni S, Morelli L, Soldi S, Gabrielli O. The first prebiotics in humans. *J Clin Gastroenterol* 2004;38 Suppl 2:S80-3.
22. Zoetendal EG, Akkermans ADL, Akkermans-van Vliet WM, de Visser JAGM, de Vos WM. The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract. *Microb Ecol Health Dis* 2001;13:129-34.
23. Toivanen P, Vaahtovuori J, Eerola E. Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora. *Infect Immun* 2001;69:2372-7.
24. Susuki K, Meek B, Dóí Y, Muramatsu M, Chiba T, Honjo T, Fagarasan S. Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. USA *Proc Natl Acad Sci* 2004;101:1981-6.
25. Kalliomaki M, Isolauri E. Role of intestinal flora in the development of allergy. *Curr Opin Allergy Immunol* 2003;3:15-20.
26. Alderth I, Jalil F, Carlsson B, Mellander L, Hanson LA, Larsson P, et al. High turnover rate of Escherichia coli strains in the intestinal flora of infants in Pakistan. *Epidemiol Infect* 1998;121:587-98.
27. de Mello RM, de Moraes MB, Tahan S, Melli LC, Rodrigues MS, Mello CS, et al. Lactobacilli and bifidobacteria in the feces of schoolchildren of two different socioeconomic groups: children from a favela and children from a private school. *J Pediatr* 2009;85:307-14.

28. GW, Tannock. A special fondness for lactobacilli. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:3189-94.
29. Brandt, Kátia Galeão, Sampaio, Magda MS Carneiro and Miuki, Cristina Jacob. Importância da microflora intestinal. 2006.
30. Midvedt AC, Carlstedt-Duke B, Norin KE, Saxerholt H, Midtvedt T. Development of five metabolic activities associated with the intestinal microflora of healthy infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988;7:559-67.
31. Liévin V, Peiffer I, Hudault S, Rochat F, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut* 2000;47:646-52.
32. Sakata S, Tonooka T, Ishizeki S et al. Culture-independent analysis of fecal microbiota in infants, with special reference to Bifidobacterium species. *FEMS Microbiol Lett* 2005;243:417-23.
33. Lin HC, Su BH, Chen AC, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth infants. *Pediatrics* 2005;115:1-4.
34. Kleigman RM, Willoughby RE. Prevention of necrotizing enterocolitis with probiotics. *Pediatrics* 2005;115:171-2.
35. Campieri M, Gionchetti P. Bacteria as the cause of ulcerative colitis. *Gut* 2001;48:132-5.
36. Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:129-34.
37. RB, Sartor. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel disease: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004;126:1620-33.

38. Taurog JD, Richardson JA, Croft JT. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Exp Med* 1994;180:2359-64.
39. Sellon RK, Tonkonogy S, Scholtz M. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun* 1998;66:5224-31.
40. Linskens RK, Huijsdens XW, Savelkoul PH, Vanderbroucke-Grauls CM, Meuwissen SG. The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2001;234:29-40.
41. Mylonaki M, Rayment NB, Rampton DS, Hudspith BN, Brostoff J. Molecular characterization of rectal mucosal-associated flora in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11:481-7.
42. Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini MM, Fedorak RN. Lactobacillus species prevents colitis in interleukin-10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 1999;116:1107-14.
43. Sudo N, Sawamura S, Tanaka K. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 1997;159:1739-45.
44. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999.
45. Kalionmäki M, Kirjavainen P, Eerola E et al. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:129-34.
46. Wickens K, Pearce N, Crane J, Beasley R. Antibiotic use in early childhood and the development of asthma. *Clin Exp Allergy* 1999;29:766-71.
47. Ouwehand A, Isolauri E, He F et al. Differences in bifidobacterium flora composition in allergic and health infants. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:144-145.

48. Young SL, Simon MA, Baird MA, Tannock GW, Bibiloni R, Spencely K, et al. Bifidobacterial species differentially affect expression of cell surface markers and cytokines of dendritic cells harvested from cord blood. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:686-90.
49. C, Strachan D. Hay fever, hygiene and household size. *BMJ* 1989;299:1259 -1260.
50. Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002;347:869-77.
51. Elliot L, Yeatts K, Loomis D. Ecological associations between asthma prevalence and potential exposure to farming. *Eur Resp J* 2004;24:938-941.
52. PM, Matricardi. The role of early infections, hygiene and intestinal microflora. *Pediatr Pulmonol Suppl* 2004;26:211-2.
53. Heynam M, Menard S. Probiotic microorganism: how they affect intestinal pathophysiology. *CMLS* 2002;59: 1151-65.
54. Alm JS, Swartz J, Lilja G, Scheynius A, Pershagen G. Atopy in children of families with an anthroposophic lifestyle. *Lancet* 1999;353:1485-8.
55. Alm JS, Swartz J, Björkstén B, Engstrand L, Engström J, Kühn I, et al. An anthroposophic lifestyle and intestinal microflora in infancy. *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13:402-11.
56. Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics and symbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999;69 Suppl:1052-7S.
57. Fooks LJ, Gibson GR. Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr* 2002;88:S39-49.
58. J, Saavedra. Probiotics and infectious diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2000;95:S16-18.
59. M, Pouchapin. The effect of probiotics on *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2000;95:S11-13.

60. Oberhelman RA, Gilman RH, Sheen PBS et al. A placebo-controlled trial of Lactocillus GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* 1999;134:15-20.
61. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA et al. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:54-60.
62. Chadwick VS, Chen W. *The intestinal microflora and inflammatory bowel disease. Medical importance of normal microflora.* Netherlands : Kluwer Academic Publishers; 1999; 1-23.
63. Hoetjen F, Welling GW, Harmsen HJ, Zhang X, Snart J, Tannock GW, et al. Reduction of colitis by prebiotics in HLA-B27 transgenic rats is associated with microflora changes and immunomodulation. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11:977-85.
64. Mannhart N, Spittler A, Bergmeister H, Mittlböck M, Roth E. Influence of fructooligosaccharides on Peyer's patch lymphocyte numbers in healthy and endotoxemic mice. *Nutrition* 2003;19:657-60.
65. Singer E, Mullie C, Odou MF, Romond MB. Influence of a fermented milk on the promotion of Peyer's patches in human flora associated mice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;39:S90.
66. Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H. Probiotics in the primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-9.
67. Rosenfeldt V, Bendeldt E, Henriksen N, Paerregaard A, Michelsen F. Effects of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 2004;145:612-616.
68. Edwards CA, Parret AM. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. *Br J Nutr* 2002;88 Suppl 1:S11-18.

69. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJM, Welling GW, Smart J, Gopal PK. Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. *Appl Environ Microbiol* 2000;66:2578-88.

70. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics* 2005;115:178-81.

LISTA DE ABREVIATURAS

DII	doença inflamatória intestinal
EN	enterocolite necrosante
IFNg	interferão gama
IL	interleucina
RN	recém-nascido
UCI	unidade de cuidados intensivos
Th	T helper