

**U. PORTO**

 INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR  
UNIVERSIDADE DO PORTO



Dissertação  
Mestrado Integrado em Medicina



# Probióticos

---

Autor: Pedro Miguel Soares de Matos

Orientador: Prof. Dr. José Manuel de Carvalho Tojal Monteiro

Porto, Junho de 2010

Largo Prof. Abel Salazar, 2. 4099-003 Porto

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Exmo. Prof. Dr. Manuel José de Carvalho Tojal Monteiro, orientador da minha tese, pelo apoio, dedicação e disponibilidade durante a sua elaboração.

Agradeço igualmente todos os conhecimentos que me transmitiu, resultado desta colaboração, com repercussões na minha formação académica.

## RESUMO

**Introdução:** Os probióticos são microrganismos vivos administrados para manter o equilíbrio da microbiota intestinal, sob a forma de suplementos dietéticos ou preparados farmacológicos. Actualmente emergem como agentes profilácticos e terapêuticos em determinadas patologias.

**Objectivo:** Este trabalho pretende efectuar uma revisão bibliográfica da literatura científica actual sobre o papel dos probióticos na saúde do hospedeiro.

**Desenvolvimento:** Os probióticos promovem o equilíbrio da microbiota intestinal, pela produção de substâncias bacteriostáticas e através da competição com os patógenos e suas toxinas pela adesão ao epitélio intestinal. Os seus efeitos fisiológicos, imunológicos e anti-patogénicos no hospedeiro, obtidos por mecanismos de acção variados mas não consensuais, parecem ter benefício na prevenção e tratamento de alguma patologia gastrointestinal e extra-intestinal, de carácter inflamatório, infeccioso e neoplásico.

**Conclusão:** Os probióticos demonstraram eficácia, sobretudo, no tratamento da diarreia aguda por rotavírus e "pouchite". Devido às limitações dos estudos realizados, sobretudo impostas pela qualidade e quantidade da amostra e da selecção probiótica, os resultados para outras patologias como diarreia associada a antibioterapia, diarreia do viajante, infecção por *Clostridium difficile*, Síndrome do intestino irritável, colite ulcerosa, doença de Crohn, carcinoma do cólon e candidíase vulvovaginal não permitem, actualmente, a recomendação do seu uso como solução profiláctica ou terapêutica.

**Palavras-chave:** Probióticos, microbiota intestinal, hospedeiro, mecanismo de acção, patologia gastrointestinal e extra-intestinal, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Saccharomyces boulardii*.

## I - INTRODUÇÃO

Os probióticos são microrganismos vivos que, quando integrados na alimentação, são classificados de alimentos funcionais por beneficiarem a saúde do hospedeiro com risco reduzido de causar doença no consumidor [Badaró *et al.* (2009)]. As culturas probióticas podem ser usadas com fins preventivos e terapêuticos porque, ao competirem pela colonização da mucosa intestinal e produzirem substâncias bacteriostáticas,

estimulam a proliferação de bactérias benéficas em detrimento de outras potencialmente prejudiciais ao hospedeiro, reforçando os seus mecanismos de defesa.

A segurança, especificidade, resistência e compatibilidade dos probióticos são factores essenciais para poderem ser administrados como suplementos dietéticos ou preparados farmacológicos, em quantidade intra-específica e variedade inter-específica capazes de aumentar a probabilidade de colonização intestinal.

De entre os probióticos mais usados estão as bactérias lactoacidófilas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, e uma levedura não patogénica, a *Saccharomyces boulardii* [Williams (2010)].

Um número crescente de ensaios clínicos tem documentado o potencial dos probióticos na prevenção e/ou tratamento de doenças infecciosas - particularmente gastrointestinais e relacionadas com o rotavírus, mas também urogenitais-, de diarreia secundária ao uso de antibióticos, da intolerância à lactose, de doenças inflamatórias intestinais, do carcinoma do cólon, de doenças atópicas, de patologia da cavidade oral e no reforço do sistema imunológico.

Este trabalho pretende elaborar uma revisão sobre os diversos mecanismos de acção dos probióticos e os benefícios/limitações da sua aplicação na saúde humana.

## II - DESENVOLVIMENTO

### 1- Definição e evolução histórica

Nos últimos anos, o interesse pelo consumo e investigação dos probióticos aumentou substancialmente, sendo acompanhado por uma crescente evidência clínica a suportar alguns dos benefícios atribuídos ao uso destes agentes. O seu amplo consumo e potencial terapêutico têm uma longa história, sustentada por dados científicos suficientemente sólidos, mas que não evitaram serem vistos durante muito tempo como alternativas terapêuticas e usados no anedotário científico.

Elie Metchnikoff propôs, posteriormente aos revolucionários ensinamentos

microbiológicos de Louis Pasteur, que, para além do seu papel fundamental como agentes causadores de doença, determinadas bactérias, nomeadamente as produtoras de ácido láctico presentes no leite fermentado, poderiam ter efeitos benéficos na saúde humana. O primeiro microrganismo usado com esse objectivo, e descoberto por este microbiólogo russo em 1905, foi o *Lactobacillus bulgaricus* [Rautava e Walker (2009)].

Desde esta descoberta e depois de várias estirpes serem usadas em ensaios clínicos, decorreram três décadas até surgir, no ano de 1935, o primeiro produto probiótico comercialmente disponível, um leite fermentado contendo *Lactobacillus casei* [Rautava e Walker (2009)].

Derivado do grego e significando pró-vida, o termo probiótico foi proposto em 1965 por Lilley para se referir a qualquer organismo ou substância produzida por um micróbio com um efeito positivo no balanço microbiano intestinal. Era uma definição denunciadora dos efeitos benéficos destes agentes por modulação microecológica intestinal. Há mais de duas décadas, Fuller definiu probiótico como suplemento alimentar à base de microrganismos vivos, com efeitos benéficos no equilíbrio intestinal [Fuller (1989)].

Variadas definições de probióticos foram publicadas nos últimos anos. Embora sem referência aos microrganismos intestinais, mas em conformidade com a medicina baseada na evidência, a Organização Mundial de Saúde definiu probióticos como microrganismos vivos que ingeridos em quantidades suficientes promovem efeitos benéficos no hospedeiro [Sanders (2003)],

definição actualmente aceite internacionalmente.

## 2 - Microbiota intestinal

O ser humano vive num meio contaminado por bactérias e em simbiose com estes microrganismos para conseguir sobreviver.

Uma microbiota saudável conserva e promove a ausência de doença, sobretudo do tracto gastrointestinal [Saad (2006)]. É o resultado de uma mistura dinâmica micror-gânica, única para cada indivíduo, variável ao longo do tracto e mesmo entre a mucosa e o lúmen intestinal, resultado da interacção entre factores genéticos, ambientais e dietéticos [Bedani e Rossi (2009)].

Ao nascer o intestino é estéril. A colonização resulta da exposição a diferentes espécies de microrganismos das regiões vaginal e perineal materna e do meio ambiente [Vanderhoof e Young (2004)]. Se o parto resultar de cesariana, a colonização intestinal é retardada e da exposição à microbiota ambiental, resulta uma composição mais rica em bactérias anaeróbias e bacteróides, diferenças que podem persistir pelo menos nos primeiros seis meses de vida [Vaarala (2003)].

Depois do tipo de parto e da exposição ao meio ambiente, a alimentação é o factor que mais influencia a colonização e o equilíbrio entre as bactérias benéficas e patogénicas do hospedeiro. Outros factores, como prematuridade, baixo peso ao nascer, introdução precoce da alimentação, carga genética e uso de antibióticos orais, são também importantes no estabelecimento desta microbiota [Vaarala (2003)]. Altera-

ções peristálticas, doença neoplásica e imunodeficiência são exemplos de enfermidades sistémicas capazes de alterar o padrão da microbiota intestinal [Mitsuoka (1997)].

O leite materno cria um ambiente favorável para o crescimento das espécies de *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. longum infantis*, *B. breve*), típicas do lactente e raramente encontradas no adulto. O aleitamento artificial faz com que o predomínio das bifidobactérias seja dissipado dando lugar a um ecossistema complexo de bactérias anaeróbias e anaeróbias facultativas. A idade influencia a capacidade de aderência das bifidobactérias e o seu número diminui ao longo da vida. O envelhecimento das paredes intestinais, com a consequente diminuição da motilidade gástrica e estagnação do conteúdo intestinal, leva ao aumento das bactérias putrefactivas [Chierici *et al.* (2003)].

A microbiota intestinal, predominantemente anaeróbica estrita e localizada no cólon, compõe-se de cerca de  $10^{14}$  microrganismos, pertencentes a mais de 1000 espécies bacterianas diferentes, que mantêm uma relação de simbiose, comensalismo ou patogenicidade com o hospedeiro [Williams (2010)]. Espécies bacterianas anaeróbias estritas correspondem a 97% do conteúdo bacteriano gastrointestinal normal. Os géneros anaeróbios mais comuns são os *Bacteróides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* e *Lactobacillus*. No que diz respeito aos aeróbios, encontramos as bactérias entéricas gram-negativas (*E.coli* e *Salmonella spp*) e os cocos gram-positivos (*Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*). Fungos como a espécie *Candida albicans* fazem também parte da

microbiota normal. Géneros como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são benéficos para o hospedeiro [Bedani e Rossi (2009)] e colonizam preferencialmente o cólon e o íleo terminal, respectivamente [Charteris *et al.* (1998)].

O estabelecimento da microbiota intestinal normal durante o período neonatal é de crucial importância no desenvolvimento do tecido linfóide intestinal, do sistema imunológico e da função de barreira do intestino, com consequências nos processos infecciosos, agudos ou crônicos, e nas patologias atópicas, contribuindo para a saúde desde os primeiros anos de vida até a velhice [Yamashiro *et al.* (2004)].

A microbiota simples, instável e mutável da infância, adquire complexidade e estabilidade na idade adulta, para regressar, por razões ainda não explicadas, às características iniciais. Estas mudanças, lentas e sequenciais, respeitam uma ordem biológica característica e influenciada por três grandes vectores: genéticos, ambientais e sociais [Chierici *et al.* (2003)].

A comunidade bacteriológica complexa que compõe a microbiota intestinal, a qual inclui espécies autóctones (adquiridas sobretudo no primeiro ano de vida e colonizadoras em permanência) e outras espécies alóctones (com origem exógena, em trânsito temporário pelo tracto gastrointestinal), exerce fundamentalmente funções metabólicas, tróficas e de protecção [Cucchiara e Aloï (2009)], além de um papel nutricional no aproveitamento de elementos da dieta que poderiam ser perdidos pela excreção [Cumings e Macfarlane (1997)]. Alterar a sua composição pode ser uma nova forma de abordar tratar e prevenir determinadas

enfermidades com impacto na saúde e bem-estar do indivíduo [Vanderhoof e Young (2004)].

### 3 - Propriedades dos probióticos

Para serem bem sucedidos nas suas funções, os probióticos devem possuir determinadas características que resultem em efeitos benéficos mensuráveis na saúde do hospedeiro.

Para tal desidrato, devem ser específicos e compatíveis com o hospedeiro, com um histórico de não patogenicidade e segurança para uso humano; devem ser capazes de resistir ao meio físico aquando da passagem pelo tubo digestivo, nomeadamente ao pH ácido e à acção biliar; devem estar aptos a aderir e colonizar a mucosa intestinal rapidamente, interagindo com outras espécies; devem ser metabolicamente activos no intestino, capazes de estimular o sistema imune e produzir substâncias anti-microbianas, ao mesmo tempo que primam pela ausência de genes determinantes na resistência aos antibióticos [Saad (2006)].

Devido à diferente sensibilidade inter-hospedeiro, duas ou mais espécies diferentes na composição de um mesmo produto aumentam não só a probabilidade de colonização, como também a possibilidade de uma acção sinérgica na supressão de espécies patogénicas.

Para beneficiar o hospedeiro, tem enorme relevância o processo de fabrico dos probióticos, o seu armazenamento e a sua incorporação nos produtos alimentares, para que as suas propriedades se mantenham ao longo do tempo, sem perda de viabilidade e funcionalidade. Assim, são importantes os

probióticos com boas propriedades tecnológicas, com boa capacidade de multiplicação e apropriados a produção em larga escala. Boas propriedades sensoriais, tais como textura e aroma adequados, são pré-requisitos para veiculação do produto até ao hospedeiro [Saad (2006)].

A selecção da estirpe probiótica óptima ou combinação de diferentes estirpes, a selecção do hospedeiro susceptível de beneficiar com o seu uso, a dose do tratamento e sua duração são factores de enorme relevo para atingir populações suficientemente elevadas e de importância fisiológica para o consumidor [Charteris *et al.* (1998)].

Os probióticos mais usados são as bactérias lactoacidófilas, especialmente *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, e uma levedura não patogénica, a *Saccharomyces boulardii* [Williams (2010)].

#### 4 - Mecanismos de acção

Os probióticos são largamente usados como suplementos dietéticos para um aporte nutritivo adicional, ao melhorar a digestão e absorção de alguns nutrientes por parte das células intestinais do hospedeiro. Em contraponto, um estudo de Bartram *et al.* sugere que a microbiota intestinal é relativamente estável e, como tal, geralmente não é afectada pela administração de probióticos [Bedani e Rossi (2009)]. Mesmo perante tal cenário e apesar de não ser conhecido com exactidão, diversas explicações para o mecanismo de acção dos probióticos têm sido propostas.

A interrupção no circuito microbiótico-hospedeiro do tracto gastrointestinal pode levar ao sobrecrescimento de bactérias pato-

génicas com consequentes alterações patológicas. Pelo menos dois mecanismos mediados pelos probióticos mantêm o balanço microbiótico intestinal e evidenciam o seu potencial preventivo e terapêutico: a produção de substâncias bacteriostáticas, como bacteriocinas, ácido e peróxido de hidrogénio [Servin (2004)] e a inibição competitiva da adesão epitelial do intestino. Em alguns casos, os probióticos podem mesmo desalojar bactérias patogénicas e suas toxinas, previamente aderidas ao epitélio [Candela *et al.* (2005)].

As bacteriocinas, pequenos péptidos antimicrobianos produzidos por *Lactobacillus spp.*, têm um estreito espectro de acção e são sobretudo tóxicas para as bactérias gram-positivas, ao criar poros na sua membrana plasmática ou intervir nas vias enzimáticas de algumas espécies. Algumas estirpes de *Bifidobacterium spp.* são produtoras de uma bacteriocina semelhante, capaz de actuar quer nas bactérias gram-positivas, quer nas gram-negativas [Collado (2005)]. A levedura *Saccharomyces boulardii* produz uma protease que diminui a acção das toxinas A e B do *Clostridium difficile* [Castagliuolo (1999)].

Estirpes de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* produzem ácido láctico, acético e propiónico, o que reduz localmente o pH e inibe o crescimento de uma grande variedade de patógenos gram-negativos, com o consequente equilíbrio da microbiota intestinal. Existe um estudo que relata a sinergia de mecanismos: a diminuição do pH do meio pelo ácido láctico permeabiliza a membrana das bactérias gram-negativas, permitindo a acção de outras substâncias anti-microbianas [Rautava e Walker (2009)].

Os probióticos competem tanto pelos nutrientes, como pela adesão ao epitélio intestinal, modulando a microbiota intestinal no sentido de diminuir as bactérias patogênicas e suas toxinas [Bedani e Rossi (2009)]. A adesão, ao promover a resistência ao trânsito intestinal e consequente interação duradoura com o epitélio, prolonga a actividade metabólica e o contacto com o tecido linfóide intestinal, mediando efeitos imunes locais e sistémicos [Badaró *et al.* (2009)]. A integridade do epitélio intestinal é fundamental para a manutenção das suas funções de barreira e respostas cito-protectoras. Da estimulação probiótica sobre os mecanismos biológicos intracelulares epiteliais resultam respostas protectoras, nomeadamente a restituição da barreira epitelial danificada, com estabilização das junções celulares e diminuição da sua permeabilidade, a produção de substâncias bactericidas (por exemplo, a angiogenina 4) e proteínas protectoras (como a  $\beta$ -defensina, um péptido que previne a aderência e invasão bacteriana) e o bloqueio da apoptose celular induzida pelas citocinas (factor *major* na resposta inflamatória intestinal) [Sartor (2002)].

Outra área potencial para a aplicação clínica de probióticos é no alívio sintomático abdominal relacionado com o trânsito e motilidade colónica anormal e com o síndrome do intestino irritável [Camilleri (2006)]. Isto, porque alguns probióticos intervêm na regulação dos receptores  $\mu$ -opioides e canabinóides das células epiteliais intestinais, modulando e restaurando a normal percepção da dor visceral [Rousseaux (2007)].

Canche-Pool *et al.* em 2008 sugeriram uma associação entre probióticos e

auto-imunidade. As doenças alérgicas estão associadas a um desequilíbrio na relação entre as linhagens de linfócitos T *helper* (Th1/Th2) a favor de Th2, com a produção de interleucinas (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) favorecedoras dos mecanismos de atopia [Christine *et al.* (2004)], seguida pela secreção de imunoglobulinas (IgE e IgA) e recrutamento dos mastócitos e eosinófilos que medeiam a maioria dos sintomas alérgicos [Winkler *et al.* (2007)]. Ora, os probióticos, ao actuarem sobre os receptores TLR2, TLR3 e NOD, podem modelar a resposta imunológica e reduzir a actividade alérgica e auto-imune. Dessa forma estimulam as células mononucleares a produzir citocinas, como INF- $\gamma$ , IL-2 e IL-12, com o consequente aumento da activação dos macrófagos e das células B e produção de IgG anti-génio-específica [Christine *et al.* (2004)]. De destacar a acção dos probióticos sobre o sistema imunológico sem desencadear uma resposta inflamatória prejudicial. Como nem todas as estirpes lactoacidófilas são igualmente eficazes, o consumo concomitante e actuação sinérgica de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* podem aumentar a resposta imune [Saad (2006)].

## 5 - Uso e benefício dos probióticos

Numerosas vantagens para a saúde são associadas ao uso de probióticos, nomeadamente relacionadas com patologia gastrointestinal, urogenital e atópica. Apesar de uns benefícios se encontrarem, no momento, mais bem documentados do que outros, nem sempre a relação uso-benefício é tida em conta na hora de usar estes produtos. Os efeitos descritos devem ser limitados



às estirpes analisadas em cada estudo e não extrapoladas e generalizadas para a espécie ou para outros probióticos [Badaró *et al.* (2009)].

## 5.1 - Patologia gastrointestinal

### 5.1.1. - Doença inflamatória intestinal

As doenças inflamatórias do tracto digestivo potencialmente beneficiadas pelo uso de probióticos incluem colite ulcerosa, doença de Crohn e "pouchite". Actualmente, cresce a evidência que o estado inflamatório intestinal coexiste com uma microbiota comensal diferente da normal e cuja mudança pode estar implicada na patogénese da doença. Contudo, é difícil concluir se a alteração da microbiota conduz ao estado inflamatório ou se este se apresenta primariamente e predispõe o hospedeiro a essa alteração. Mais especificamente, um aumento populacional de *Escherichia coli* enteroadesivas e entero-hemorrágicas, no caso da colite ulcerosa, e uma redução de *Bifidobacterium spp.*, no caso da doença de Crohn, contribuem para o estado inflamatório destas doenças [Williams (2010)].

Diversos estudos demonstraram haver benefício da terapêutica probiótica na doença inflamatória intestinal [Quigley (2007)], nomeadamente na colite ulcerosa e "pouchite". A terapêutica com uma estirpe não patogénica da espécie *Escherichia coli*, com a levedura *Saccharomyces boulardii* ou com o complexo probiótico VSL#3, por si só ou como adjuvante de outro tratamento, pode ser uma alternativa efectiva na colite ulcerosa, nomeadamente em pacientes intolerantes ou refractários à terapia corticoesteróide ou formulações 5-ASA (por exemplo,

mesalazina) [Williams (2010)]. Guarner *et al.* em 2008 referiram que a *Escherichia coli* Nissle pode ser o equivalente a mesalazina para manter a remissão da colite ulcerosa. Para além de prolongar os períodos remissivos, esta terapêutica é bem tolerada, não interfere com outros tratamentos farmacológicos nem exacerba a sintomatologia. Na indução e manutenção da remissão da doença de Crohn ou na prevenção da sua recorrência pós-operatória, os resultados não são consensuais [Lamousé-Smith e Bousvaros (2009)]. Guslandi *et al.* em 2000 sugeriram que *Saccharomyces boulardii* pode ser benéfica na manutenção da remissão da doença. Também para Marteau *et al.* em 2006, o uso de outra espécie como *Lactobacillus johnsonii* não se revelou eficaz para o mesmo objectivo. Segundo Guarner *et al.* em 2008, não existe evidência que sugira benefício dos probióticos na manutenção da remissão na doença de Crohn.

"Pouchite" é uma inflamação inespecífica do reservatório ileal, construído cirurgicamente por anastomose ileo-anal, após proctocolectomia. Este quadro de etiologia desconhecida, caracterizado pelo aumento da frequência de evacuações e espasmos abdominais, pode estar associado à diminuição de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* em detrimento de outros géneros bacterianos e tem sido alvo de investigação na tentativa de comprovar o papel dos probióticos, nomeadamente a mistura complexa de probióticos VSL#3, na manutenção dos períodos de remissão e diminuição das recaídas. Os probióticos, quando presentes em altas concentrações e de espécies diferentes, mostraram eficácia tanto na prevenção da instalação da "pouchite", como na

abordagem terapêutica da recaída e recorrência desta enfermidade [Guarner *et al.* (2008)]. Diversos estudos revelam que o uso de VSL#3 tem um papel significativo na manutenção do período de remissão [Gionchetti *et al.* (2000); Mimura *et al.* (2004)]. Em contraste com estes resultados encorajadores, um ensaio clínico envolvendo *Lactobacillus GG* não revela qualquer benefício deste probiótico como terapia primária da "pouchite" [Kuisma *et al.* (2003)].

Outro dado importante reside na relação próxima entre a terapêutica probiótica e a motilidade gastrointestinal. O padrão desta motilidade regula a composição microbiológica do tracto, que por sua vez, em sentido inverso e indirectamente por modulação do sistema nervoso entérico, influencia a primeira.

Alguns estudos em adultos revelaram eficácia dos probióticos no alívio da sintomatologia álgica na doença inflamatória intestinal, como mostra um estudo recente que atribui a estirpes específicas de *Lactobacillus spp.* a capacidade de induzir a expressão de receptores  $\mu$ -opióides e canabinóides no intestino, provocando o efeito analgésico similar à morfina [Rousseaux (2007)].

No que diz respeito à própria nutrição do hospedeiro, a enzima lactase, produzida por microorganismos probióticos como o *Streptococcus thermophilus* e a subespécie *Lactobacillus elbrueckii bulgaricus*, permite ao hospedeiro degradar a lactose no estômago e no intestino e assim evitar os sintomas de intolerância [Guarner *et al.* (2008)].

Como se torna evidente que a microbiota intestinal está implicada na doença intestinal inflamatória, os probióti-

cos podem desempenhar um papel fundamental na abordagem desta patologia, proporcionando uma alternativa interessante ao uso de antibióticos.

### 5.1.2. - Diarreia

Por mais de um século, pesquisas sugeriam que culturas bacteriológicas vivas, como as encontradas no iogurte, podiam ajudar a tratar e prevenir a diarreia. No entanto, a re-hidratação e re-alimentação não deixaram de ser as pedras basulares no tratamento da gastroenterite infecciosa aguda.

Os probióticos, sobretudo estirpes de *Bifidobacterium spp.* ou *Lactobacillus spp.*, cujas propriedades anti-diarreicas são investigadas sensivelmente desde 1960, administrados como suplementos medicamentosos, parecem diminuir a duração destes episódios em cerca de 24 horas, mas com efeito profilático modesto na diarreia adquirida na comunidade. Os resultados revelam a sua eficácia ao diminuir a frequência e duração destes episódios, sobretudo em crianças infectadas por *Rotavirus* [Van Niel *et al.* (2002)]. Para Canani *et al.* em 2007, outros probióticos como *Saccharomyces boulardii* não afectaram significativamente a duração e gravidade da diarreia aguda na criança, embora parecessem prevenir, apesar da inconsistência dos resultados, o sobrecrecimento do *Clostridium difficile* e a recorrência da infecção por este agente. Em contraponto e segundo Guarner *et al.* em 2008, existe evidência sugestiva que *Lactobacillus GG* e *Saccharomyces boulardii* previnem a diarreia aguda no adulto e na criança. Uma meta-análise revelou que esta diminuição se verifica quando esta levedura é administrada concomitantemente com vancomicina,

metronidazol ou ambos. A mesma meta-análise revela que *Lactobacillus GG* e *Saccharomyces boulardii* reduzem significativamente a frequência da diarreia aguda após antibioterapia [McFarland (2006)].

Na diarreia associada a antibioterapia existe evidência significativa da eficácia de *Saccharomyces boulardii*, tanto em adultos como em crianças. Outro estudo revela a eficácia de *Lactobacillus casei* na diarreia por *Clostridium difficile* [Guarner *et al.* (2008)].

De qualquer modo, e porque os estudos têm sido muito direccionados para diarreias causadas pelo *Rotavírus*, em populações relativamente estáveis e saudáveis (em contraponto com o contexto da prevenção de diarreia aguda não relacionada com antibioterapia nos países em desenvolvimento) e sem grande ênfase na dosagem dos probióticos, torna-se difícil a avaliação da eficácia dos probióticos nas enfermidades diarreicas, nomeadamente ao nível do tratamento.

Na prevenção da diarreia do viajante, os resultados dos estudos efectuados sobre o uso e benefício dos probióticos são inconclusivos, possivelmente devido à variabilidade de destinos e às estirpes seleccionadas para investigação [Williams (2010)].

### 5.1.3 - Carcinoma do cólon

Diversos metabolitos bacterianos são carcinogénicos, como por exemplo os fecapentanos, as nitrosaminas, as aminas, a amónia, entre outros. Por esta razão, surge o possível interesse pelos probióticos que, ao modularem a microbiota intestinal, podem diminuir as bactérias associadas a doença colónica. Neste processo surge a discussão sobre a etapa da carcinogénese na qual os

probióticos podem actuar. Dentro da complexa microbiota intestinal, as bactérias lactoacidófilas são capazes de beneficiar este quadro, por mecanismos pouco elucidados até ao momento, mas que podem incluir alterações metabólicas da microbiota intestinal, alterações químico-fisiológicas do cólon e ligação/degradação de potenciais carcinogénios [Bedani e Rossi (2009)].

O efeito carcinogénico é provavelmente influenciado pela actividade das enzimas  $\beta$ -glucuronidase, nitrorredutase e azorredutase. *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.* têm baixa actividade enzimática conversora de pré-carcinogénios em carcinogénios, ao contrário dos *Bacteróides spp.* e *Clostridium spp.*. Desta forma, a redução de microrganismos produtores de enzimas pró-carcinogénicas podem beneficiar o hospedeiro [Bedani e Rossi (2009)].

Goldin e Gorbach estudaram os efeitos da ingestão de *Lactobacillus acidophilus* sobre as enzimas acima referidas. Este estudo mostrou um declínio significativo na actividade das mesmas, embora sugerindo a necessidade de consumo contínuo do probiótico de forma a evitar um efeito reverso. Estas bactérias diminuem igualmente a contagem de outras espécies putrefactivas, tais como coliformes, possivelmente envolvidas na produção de promotores tumorais e pré-carcinogénios. Similarmente, a ingestão de *Bifidobacterium longum* e de *Lactobacillus casei* revelaram reduzir significativamente a actividade da  $\beta$ -glucuronidase [Bedani e Rossi (2009)].

Embora com resultados promissores sobre os efeitos anti-carcinogénicos dos probióticos, o número limitado de ensaios em humanos torna prematura a sua reco-

mendação para prevenção do carcinoma do cólon.

#### **5.1.4. - Erradicação de *H. pylori***

Uma meta-análise sugere que a terapia coadjuvante com antibióticos e probióticos na erradicação da infecção por *Helicobacter pylori* pode ser eficaz. A acção do probiótico isoladamente não tem evidência científica de suporte [Guarner *et al.* (2008)].

### **5.2. - Patologia extra-intestinal**

#### **5.2.1. - Doenças alérgicas**

A composição da microbiota intestinal difere entre indivíduos atópicos e não atópicos e entre indivíduos oriundos de países industrializados ou em desenvolvimento, por exemplo. Apesar de não ser consensual, diversos estudos relacionaram esta composição com o desenvolvimento de doenças alérgicas por desequilíbrio na relação dos linfócitos Th1/Th2 em favor da linhagem Th2 - favorecedora dos mecanismos de atopia e auto-imunidade. Os probióticos inibem a resposta da linhagem Th2, estimulam a produção de citocinas como por exemplo IFN- $\gamma$  e IL-2, aumentam a activação de macrófagos e estimulam as células B a produzir IgG. Nas crianças com doença atópicas ou alergias alimentares, a ingestão de probióticos provoca um aumento na produção de INF- $\gamma$  e supressão de IgE, IL-5 e IL-10 [Folster-Holst *et al.* 2009].

Os probióticos reduzem a frequência do eczema ectópico, a sua extensão e severidade, efeito esse que se prolonga para além da infância nas crianças de alto risco [Folster-Holst *et al.* (2009)].

No tratamento da asma, os probióticos não têm revelado a mesma eficácia. Nesta enfermidade, e através do equilíbrio supracitado entre as linhagens das células T *helper*, a utilidade destes agentes poderá confinar-se à sua prevenção. A confirmar-se este papel, e tendo em conta a fácil acessibilidade aos probióticos e a possibilidade de introdução na dieta em idades precoces, os probióticos podem ser factores interessantes num método passivo de prevenção primária, com potencial benefício para a saúde pública [Cabana (2009)].

Aproveitando o facto da microbiota intestinal ser menos estável na infância, os probióticos podem adquirir um papel importante na modelação do seu perfil e consequentemente interferir no desenvolvimento das doenças alérgicas. Como resultado, estes agentes podem conduzir a um fenótipo Th não associado a condições atópicas.

#### **5.2.2. - Saúde oral**

Os primeiros ensaios clínicos, randomizados e controlados, revelaram que os probióticos podem controlar a cárie dentária em crianças devido à sua acção inibitória contra estreptococos cariogénicos [Stamatova e Meurman (2009)].

Em relação à doença periodontal foi detectado num estudo recente que, a prevalência de *Lactobacillus spp.* na cavidade oral, particularmente *Lactobacillus gasseri* e *Lactobacillus fermentum*, era maior entre os participantes saudáveis do que entre os pacientes com periodontite crónica. Vários estudos têm demonstrado a capacidade do *Lactobacillus spp.* de inibir o crescimento de patógenos periodontais, incluindo *P. gingi-*

*valis*, *Prevotella intermedia* e *A. actinomycescomitans* [Koll-Klais *et al.* (2005)].

Por outro lado, o *Streptococcus salivarius*, considerado um probiótico comensal da cavidade oral, foi detectado com maior frequência entre as pessoas sem halitose. Esta espécie produz bacteriocinas que, ao diminuir o número de bactérias produtoras de componentes voláteis de enxofre, têm uma acção preventiva ou terapêutica na halitose [Bonifait *et al.* (2009)].

No que diz respeito ao desempenho probiótico em relação às infecções fúngicas orais não há evidência científica suficiente.

Probióticos em gomas e pastilhas foram estudados de forma a tentar encontrar um veículo mais eficaz que os produtos lácteos para aplicação oral. Apesar de actualmente não ser ainda possível recomendar directamente o seu uso, a evidência científica indica que a terapia com probiótico pode ser uma realidade na medicina oral do futuro [Stamatova e Meurman (2009)].

### **5.2.3. - Doença cardiovascular**

A ingestão de probióticos parece influenciar a concentração lipídica sérica, reduzindo os níveis de colesterol total, de colesterol LDL e de triglicéridos [Saad (2006)]. No entanto, os poucos estudos clínicos e de curta duração existentes não permitem assegurar o efeitos destes agentes na diminuição do risco e prevenção da doença cardiovascular [Guarner *et al.* (2008)].

### **5.2.4. - Infecções genito-urinárias**

Na mulher saudável em pré-menopausa, o microrganismo predominante da microbiota vaginal é o *Lactobacillus spp.*, especialmente *Lactobacillus crispatus* e

*Lactobacillus iners*. Uma alteração na microbiota normal em sequência, por exemplo, de antibioterapia de largo espectro com consequente sobrecrecimento de *Candida albicans*, pode causar infecções sintomáticas, incluindo candidíase vulvovaginal. Uma revisão bibliográfica agrupa três estudos sobre o uso de probióticos, mormente os *Lactobacillus spp.*, na restauração da microbiota prévia e tratamento da infecção ou prevenção da recorrência. As limitações metodológicas dos estudos, designadamente amostras pequenas, controlos inadequados e não duplamente cegos, não permitem concluir sobre a eficácia destes agentes nestes quadros patológicos [Williams (2010)].

## **6 - Doses e produtos**

Os probióticos estão disponíveis como suplementos dietéticos e produtos fermentados de uso diário como leite e iogurtes, por exemplo. A quantidade, qualidade e pureza destes produtos é variável em razão da dificuldade no controlo de qualidade de microrganismos vivos. Dessa forma, apenas os produtos avaliados em estudos humanos controlados devem ser recomendados [Kligler e Cohrssen (2008)].

A sua eficácia depende da capacidade intrínseca para resistir à passagem pelo tracto gastrointestinal e colonizar a mucosa intestinal, a partir de uma ingestão regular que permita manter concentrações eficazes de organismos vivos e viáveis. Este número mínimo de microrganismos a ingerir para obter efeito benéfico não é consensual, mas a probabilidade de colonização intestinal é directamente proporcional à quantidade ingerida destes microrganismos. Segundo

Charteris *et al.* em 1998, o consumo diário de probióticos com cerca de  $10^9$ - $10^{10}$  UFC por cada 100 gramas de bioproduto permite atingir concentrações fisiologicamente ativas a nível intestinal de  $10^6$ - $10^7$  UFC/g. Com a evolução da investigação novos conceitos foram surgindo. Para Guarner *et al.* em 2008, a dose varia com a estirpe e o produto. Além disso, a eficácia de uma estirpe numa determinada dose não constitui evidência para extrapolar seus efeitos para a saúde em dose mais baixa. A mesma estirpe probiótica não é eficaz para todos os indivíduos ou até para um mesmo indivíduo em diferentes fases da doença. A selecção do probiótico dependerá sempre da indicação clínica [Saad (2006)].

A tabela 1, adaptada de [Williams (2010)], relaciona o probiótico e a sua dosagem com algumas indicações clínicas tratadas no capítulo "Uso e benefício dos probióticos".

## 7 - Efeitos adversos, contra-indicações e limites

Partindo da própria definição, a presença de microrganismos vivos nas preparações probióticas levanta a possibilidade de infecção ou colonização patogénica. Quando ingeridos por via oral, os probióticos são geralmente seguros e bem tolerados, tendo um risco muito baixo de causar infecções [Kligler e Cohn (2008)] e de propiciar a geração de patógenos mais agressivos e resistentes [Badaró *et al.* (2009)], especialmente se usados por indivíduos saudáveis. O uso concomitante de probióticos e antibióticos retira eficácia aos primeiros, devendo os pacientes ser alertados para respeitar um

intervalo de 2 horas entre as tomas destas substâncias [Williams (2010)].

Os efeitos adversos mais comuns são a distensão e flatulência. Aumento da sede e obstipação foram pontualmente associados a *Saccharomyces boulardii* [Williams (2010)].

Infecções sistémicas incluindo sépsis, endocardite por *Lactobacillus spp.* e abscessos hepáticos por *Lactobacillus GG*, foram descritas e relacionadas com o uso destes probióticos. Segundo Williams em 2010, uma bacteriemia provocada por *Lactobacillus spp.* tem um risco estimado inferior a 1/1000000, mas estados de imunossupressão, pré-hospitalização, algumas co-morbilidades e pré-antibioterapia aumentam a predisposição [Salminen (2004)]. O risco de se desenvolver uma fungemia, tendo como agente etiológico a levedura *Saccharomyces boulardii*, é cerca de 1/5600000, risco esse potenciado em doentes críticos e estados de imunossupressão, segundo Williams em 2010. Foi igualmente referida, por Munoz *et al.* em 2005, como agente etiológico de fungemia em pacientes com cateter venoso central.

Até à data não há relato de sépsis por *Bifidobacterium spp.*, facto suportado pela baixa patogenicidade destes probióticos, nem contra-indicações descritas [Boyle (2006); Kligler (2008)].

A maioria destas bacteriemias e fungemias respondem bem à antibioterapia e terapêutica anti-fúngica [Williams (2010)], mas o *Saccharomyces boulardii* perde eficácia ao interagir com os anti-fúngicos administrados simultaneamente [Munoz *et al.* (2005)]. Segundo Saarela *et al.* em 2000, apesar de muitas estirpes lactoacidófilas, sobretudo as de *Lactobacillus spp.*, serem

resistentes a determinados antibióticos, essa resistência normalmente não é mediada por plasmídeos e como tal não é transmissível.

Dada a possibilidade das estirpes probióticas com plasmídeos de resistência transferirem estes factores para bactérias patogénicas,

Relação entre a indicação clínica e o probiótico de escolha com a respectiva dosagem		
Indicação	Probiótico	Dose e regime recomendado
<b>Diarreia infecciosa aguda na criança</b>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG)	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> UFC 2x/dia durante 2-5 dias
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> UFC, 1x/dia durante 5 dias
<b>Diarreia associada a antibioterapia</b>	<i>Saccharomyces boulardii</i>	4x10 <sup>9</sup> -2x10 <sup>10</sup> UFC 1x/Dia durante 1-4 semanas
	LGG	6x10 <sup>9</sup> -4x10 <sup>10</sup> UFC 1x/dia durante 1-2 semanas 2x10 <sup>9</sup> UFC 1x/Dia durante 5-10 dias
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	5x10 <sup>9</sup> UFC 1x/Dia durante 7 dias
	<i>L. acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium longum</i>	10 <sup>11</sup> UFC 1x/Dia durante 21 dias
	<i>L. acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium lactis</i>	
<b>Infecção por <i>Clostridium difficile</i></b>	<i>S. boulardii</i>	2x10 <sup>10</sup> UFC (1g) 1x/dia durante 4 semanas associado a vancomicina e/ou metronidazole
<b>Diarreia do viajante</b>	LGG	2x10 <sup>9</sup> UFC 1X/dia a iniciar 2 dias antes da partida e manter durante a viagem
	<i>S. boulardii</i>	5x10 <sup>9</sup> -2x10 <sup>10</sup> UFC 1X/dia a iniciar 5 dias antes da partida e manter durante a
<b>Síndrome do intestino irritável</b>	VSL#3	9x10 <sup>11</sup> UFC 1x/Dia durante 8 semanas
	<i>Bifidobacterium infantis</i> 35624	10 <sup>6</sup> -10 <sup>10</sup> UFC 1x/Dia durante 4 semanas
<b>Colite ulcerosa activa</b>	LGG	8-9x10 <sup>9</sup> UFC 1x/Dia durante 6 semanas
	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	5x10 <sup>10</sup> 2x/dia até remissão (máximo 12 semanas)
	<i>S. boulardii</i>	250 mg 3x/dia durante 4 semanas + mesalazina
<b>Doença de Crohn</b>	VSL#3	1.8x10 <sup>12</sup> UFC 2x/dia durante 6 semanas + terapia convencional
	<i>S. boulardii</i>	Terapia de manutenção: 1g 1X/dia durante 6 meses + mesalazina
<b>"Pouchite"</b>	VSL#3	Terapia de manutenção: 1.8x10 <sup>12</sup> UFC 1Xdia durante 9-12 meses
<b>Prevenção de doença atópica</b>	LGG	10 <sup>10</sup> UFC 1Xdia durante 2-4 semanas
<b>Candidíase vulvovaginal</b>	LGG	10 <sup>9</sup> UFC 2X/dia durante 7 dias
	<i>L. rhamnosus</i> GR-1 e <i>Lactobacillus fermentum</i> RC-14	10 <sup>9</sup> UFC 2x/dia durante 14 dias
	<i>L. acidophilus</i>	10 <sup>8</sup> UFC 1x/dia durante 6 meses

Tabela 1, adaptada de "Williams (2010)".

não devem ser usadas como probióticos.

O carácter de suplemento dietético atribuído aos probióticos subtrai, se compa-

rados com fármacos, rigor à regulamentação no seu uso e fabrico. Em contraponto com os estudos actualmente existentes, heterogé-

neos e metodologicamente limitados (variabilidade nas estirpes seleccionadas, na dose e na duração do tratamento probiótico), estudos futuros, envolvendo o controlo de qualidade de microrganismos vivos, requerem ensaios clínicos com amostras ajustadas e com duração superior, proporcionadoras de melhor avaliação da eficácia destes agentes [Williams (2010)].

Durante anos catalogados de produtos alternativos, os probióticos foram alvo de uma recente e rápida investigação e aplicação clínica. Compreender os mecanismos que estão na origem destes efeitos adversos permitirá um uso mais adequado destes agentes. No futuro poderemos ser confrontados com a era farmacobiótica, enriquecida com microrganismos geneticamente modificados, componentes celulares e ainda moléculas biologicamente activas e produzidas pelos próprios microrganismos [Quigley (2009)].

### III - CONCLUSÃO

Um século após ser introduzida a noção de que as bactérias, a nível intestinal, podem promover a saúde, os probióticos começam a abandonar um carácter alternativo, emergindo como uma abordagem preventiva e terapêutica fundamental em determinadas patologias. A racionalidade do seu uso baseia-se na capacidade destes agentes para corrigir desequilíbrios na microbiota autóctone.

Com efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos para o hospedeiro, vários mecanismos de acção, não consensuais, têm sido propostos para os probióticos. Respeitando determinadas características intrínse-

cas necessárias para actuarem em benefício do hospedeiro, estes agentes demonstraram eficácia na prevenção e no tratamento de diversas condições médicas, particularmente no tratamento da "pouchite" e diarreia aguda, mais comumente devida a rotavírus. Os probióticos reduzem a frequência, extensão e severidade do eczema ectópico mas no tratamento da asma, os resultados foram decepcionantes. É necessária mais investigação para esclarecer o papel dos probióticos na prevenção ou tratamento da diarreia associada a antibioterapia, da diarreia do viajante, da infecção por *Clostridium difficile*, do síndrome do intestino irritável, da colite ulcerosa, da doença de Crohn e da candidíase vulvovaginal. O mesmo se passa com a prevenção do carcinoma do cólon, apesar dos resultados promissores.

Estes estudos são muitas vezes limitados metodologicamente, sobretudo no que concerne à qualidade e quantidade da amostra, à selecção probiótica e também à duração de investigação, advindo desses factos resultados insuficientes e/ou não consensuais.

A microbiota intestinal é uma fonte de imunomodulação a explorar no futuro para fins terapêuticos e preventivos de várias enfermidades. É previsível um papel importante da genética e da engenharia molecular numa futura era farmacobiótica.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Badaró ACL; Guttierres APM; Rezende ACV; Stringheta PC (2009) Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana Parte 2. Revista Nutrir Gerais, v. 3, p. 2.



- Bedani R, Rossi EA (2009) Microbiota Intestinal e Probióticos: Implicações sobre o câncer de cólon. *GE J Port Gastroenterol*. 15: 19-28.
- Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML (2006) Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr*.; 83:1256-64.
- Cabana MD (2009) The Role of Probiotics in the Treatment and Prevention of Asthma In: *Nutrition and Health: Probiotics in Pediatric Medicine* (Michail S and Sherman PM, ed), pp269-282. Humana Press.
- Camilleri M (2006) Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, putative mechanisms, and evidence of clinical efficacy . *J Clin Gastroenterol*; 40 : 264 – 9.
- Canani RB, Cirillo P, Terrin G et al. (2007) Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *BMJ*. 335:340-2.
- Canche-Pool, EB; Cortéz-Gómez R; Flores-Mejía R; González-Serrano ME et al. (2008) Probiotics and autoimmunity: An evolutionary perspective. *Medical Hypotheses*, v. 70, n. 3, p. 657-660.
- Candela M , Seibold G , Vitali B , Lachenmaier S , Eikmanns BJ , Brigidi P (2005) Real-time PCR quantification of bacterial adhesion to Caco-2 cells: competition between bifidobacteria and enteropathogens . *ResMicrobiol*; 156 : 887 – 95.
- Castagliuolo I, Riegler MF, Valenick L et al. (1999) *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun*.; 67:302-7.
- Chierici R, Fanaro S, Sacconandi D et al. (2003) Advances in the modulation of the microbial ecology of the gut in early infancy. *Acta Paediatr Suppl.*, 441: 56-63.
- Collado MC , Hernandez M , Sanz Y . (2005) Production of bacteriocin-like inhibitory compounds by human fecal Bifidobacterium strains . *J Food Prot*; 68 : 1034 – 40.
- Cucchiara S, Aloï M (2009) Role of Microflora in Disease In: *Nutrition and Health: Probiotics in Pediatric Medicine* (Michail S and Sherman PM, ed), pp29-40. Humana Press.
- Cummings JH, Macfarlane GT (1997) Colonic microflora: nutrition and health. *Nutrition*; 13: 476-478.
- Fölster-Holst R, Offick B, Proksch E, Schrezenmeir J (2009) Probiotics in Treatment and/or Prevention of Allergies In: *Nutrition and Health: Probiotics in Pediatric Medicine* (Michail S and Sherman PM, ed), pp243-268. Humana Press.
- Fuller R (1989) Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, Oxford, v.66, p.365-378.
- Gionchetti P , Rizzello F , Venturi A , et al. (2000) Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial . *Gastroenterology*; 119 (2) : 305 – 9.
- Guarner, F et al. (2008) Probióticos e prebióticos. Guias práticas da Organização Mundial de Gastroenterologia (OMGE).
- Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M et al. (2000) *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci*.; 45:1462-4.
- Kligler B, Cohn A (2008) Probiotics. *Am Fam Physician*. 78:1073-8.
- Koll-Klais P, Mändar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarström L, Mikelsaar M (2005) Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol*.; 20(6):354-61.
- Kuisma J, Mentula S, Jarvinen H et al. (2003) Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG on ileal pouch inflammation and microbial flora. *Aliment Pharmacol Ther*.17:509-15.

- Laetitia B, Fatiha C, Daniel G (2009) Probiotics for Oral Health: Myth or Reality? JCDA October, Vol. 75, No. 8.
- Lamousé-Smith E, Bousvaros A (2009) Probiotics in Crohn's Disease In: Nutrition and Health: Probiotics in Pediatric Medicine (Michail S and Sherman PM, ed), pp165-180. Humana Press.
- Marteau P, Lemann M, Seksik P et al. (2006) Ineffectiveness of *Lactobacillus johnsonii* LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: a randomised, double blind, placebo controlled GETAID trial. Gut.; 55:842-7.
- McFarland LV (2006) Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. Am J Gastroenterol. 101:812-22.
- Mimura T, Rizzello F, Helwig U et al. (2004) Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. Gut.; 53:108-14.
- Munoz P, Bouza E, Cuenca-Estrella M et al. (2005) *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. Clin Infect Dis.; 40:1625-34.
- Quigley E (2009) The Future of Probiotics In: Nutrition and Health: Probiotics in Pediatric Medicine (Michail S and Sherman PM, ed), pp323-332. Humana Press.
- Quigley E, Flourie B (2007) Probiotics and irritable bowel syndrome: a rationale for their use and an assessment of the evidence to date. Neurogastroenterol Motil; 19 (3) : 166 – 72.
- Rousseaux C , Thuru X , Gelot A , et al. (2007) *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. Nat Med; 13 : 35 – 7.
- Rutava S, Walker W (2009) Probiotics. In: Nutrition and Health: Probiotics in Pediatric Medicine (Michail S and Sherman PM, ed), pp41-52. Humana Press.
- Salminen MK, Rautelin H, Tynkkynen S et al. (2004) Lactobacillus bacteremia, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic *L. rhamnosus* GG. Clin Infect Dis.; 38:62-9.
- Sanders ME (2003) Probiotics: considerations for human health. Nutr. Rev., New York, v.61, n.3, p.91-99.
- Sartor RB (2002) Mucosal immunology and mechanisms of gastrointestinal inflammation. Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management. Saunders: 21 – 51.
- Servin AL (2004) Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. FEMS Microbiol Rev ; 28 : 405 – 40.
- Stamatova I, Meurman JH (2009) Probiotics: health benefits in the mouth. Am J Dent. 22(6):329-38.
- Saad S (2006) Probióticos e prebióticos: o estado da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas; vol. 42, n. 1, jan./mar.
- Vaarala O (2003) Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli. Clin Exp Allergy. 33: 1634-40.
- Vanderhoof JA, Young RJ (2004) Current and potential uses of probiotics. Ann Allergy Asthma Immunol. 93 (Suppl 3): S33-S37.
- Van Niel CW, Feudtner C, Garrison MM et al. (2002) Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a metaanalysis. Pediatrics. 109:678-84.
- Williams NT (2010) Probiotics. Am J Health Syst Pharm. Mar 15;67(6):449-58.
- Winkler P, Ghadimi D, Schrezenmeir J and Kraehenbuhl JP (2007) Molecular and cellular basis of microflora-host interactions. J. Nutr. 137 : 755S – 771S.
- Yamashiro Y, Castaneda C, Davidson G et al. (2004) Biotherapeutic and nutraceutical agents: working group report of the second world congress of pedia-

tric gastroenterology, hepatology and nutrition. J  
Pediatr Gastroenterol Nutr.

Health: Probiotics in Pediatric Medicine (Michail S  
and Sherman PM, ed), pp53-68. Humana Press.

Yan F, Brent D (2009) Polk Mechanisms of Probiotic  
Regulation of Host Homeostasis. In: Nutrition and