

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DE BIFIDOBACTÉRIAS E *Saccharomyces boulardii* COMO
PROBIÓTICOS ENFANTIZANDO A DIARREIA: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

Danielle Cristina do Carmo

Belo Horizonte

2014

Danielle Cristina do Carmo

AVALIAÇÃO DE BIFIDOBACTÉRIAS E *Saccharomyces boulardii* COMO PROBIÓTICOS ENFANTIZANDO A DIARREIA: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

Orientadora: Dra. Cristina Dutra Vieira

Co-orientadora: Profa. Dra. Simone Gonçalves dos Santos

Belo Horizonte

2014

Ao meu filho e ao meu esposo, aos meus pais e aos meus irmãos.

Os grandes amores da minha vida.

Agradecimentos

Antes de começar a escrever este agradecimento, pensei que seria algo mais fácil, mas eis que me vejo diante de uma enorme dificuldade.

Bom, vamos em frente. Deus, obrigada por mais essa etapa dos meus estudos que concluo; pela oportunidade de conhecer pessoas especiais e pela troca de conhecimento, mais adquirido que doado, é verdade.

Agradeço aos meus pais, base da minha formação humana, pelo incentivo constante, e aos meus irmãos queridos, também grandes incentivadores e apoiadores.

Ao meu esposo, por procurar compreender a ausência nos dias dedicados às aulas da especialização. Ao meu filho, grande amor, que me fez persistir e me fortaleceu com seu sorriso lindo quando eu, ao chegar em casa depois das aulas, sempre ouvia-o dizer “Mamãe chegou!”

À professora e irmã de farda (Major) Cristina Dutra Vieira, pelo carinho e dedicação com que me orientou. Pelo exemplo de pessoa que é, pois mesmo com toda grandeza de conhecimento sempre se mostrou humilde e disposta a ajudar.

Aos amigos da Secretaria do Comando Geral da Polícia Militar de Minas Gerais, que me ajudaram a superar a ansiedade durante a execução deste trabalho. De modo especial, ao Sargento Edson, amigo, conselheiro e símbolo da calma; à Sargento Tatiana, meu dicionário de sinônimos ambulante e companheira; ao Sargento Willian, pelos momentos de descontração que não me deixaram enlouquecer, à Lorena, pelos prazerosos discursos biológicos; e à Major Karla, pela compreensão e apoio. Também o meu obrigado às grandes amigas Sargento Alessandra e Jane pelos conselhos que me fortaleceram no momento em que pensei em desistir.

Aos colegas de curso, especialmente à Magna e ao Vinícius.

Aos professores, grandes mestres.

Obrigada.

“Todos querem o perfume das flores,
mas poucos sujam as suas mãos para cultivá-las.”

Augusto Cury

RESUMO

A microbiota intestinal humana exerce importante papel na saúde constituindo um dos mecanismos de defesa contra a patogênese bacteriana. Apesar de sua relevância, muitos fatores, como o tratamento com antibióticos, podem desafiar a estabilidade funcional das comunidades bacterianas intestinais. A diarreia, uma das principais causas de mortalidade infantil nos países em desenvolvimento, é outro fator comprometedor da estabilidade intestinal bacteriana. Por estes motivos, em muitas situações há necessidade de suplementação da dieta com probióticos a fim de restaurar o equilíbrio entre as comunidades integrantes da microbiota. Entende-se por probiótico uma preparação contendo micro-organismos vivos que, quando administrada em quantidade adequada, produz um efeito benéfico para o hospedeiro. As bifidobactérias e a levedura *Saccharomyces boulardii*, são exemplos de micro-organismos que podem ser utilizados como probióticos. Com o objetivo de levantar dados da literatura a respeito da importância da microbiota intestinal humana; os benefícios do uso dos probióticos, com enfoque nos micro-organismos anteriormente mencionados, e seus efeitos no tratamento de diarreia e em indivíduos sob terapia antimicrobiana, foi proposto o presente trabalho. Várias propriedades benéficas têm sido atribuídas aos micro-organismos probióticos. Dentre elas têm-se a capacidade de adesão e inibição de patógenos, a ação em distúrbios intestinais, a resposta às toxinas de *Clostridium difficile*, o efeito sobre o sistema imune, a ação dos probióticos sobre as doenças cardiovasculares, além de prevenir o câncer. Após a revisão literária foi possível observar que os dois micro-organismos trazem benefícios ao consumidor de forma igualitária, não cabendo comparações quanto à eficiência de uma sobre a outra. Conclui-se, porém, que o custo dos produtos contendo *S. boulardii* é mais acessível que aqueles que contêm bifidobactérias. Apesar disto, o acesso de toda a população a esses produtos ainda é um desafio que pode ser superado quando se avalia seus benefícios e os resultados obtidos com o tratamento, com efeitos colaterais mínimos.

Palavras chaves: Probióticos, Bifidobactéria, *Saccharomyces boulardii*, diarreia, antibiótico.

ABSTRACT

The human intestinal microbiota plays an important role in health. It is one of the defense mechanisms against bacterial pathogenesis. Despite its relevance, many factors, such as treatment with antibiotics, can challenge the functional stability of the intestinal bacterial communities. Diarrhoea, a major cause of infant mortality in developing countries, is another factor that affects bacterial intestinal stability. For these reasons, in many situations it is necessary to supplement the diet with probiotics to restore the balance between the microbiota communities. Probiotic is a preparation containing living microorganisms which, when administered in adequate amounts, produce a beneficial effect on the host. Bifidobactérias and the yeast *Saccharomyces boulardii* are examples of microorganisms that can be used as probiotics. This paper aims collect data from the literature about the importance of the human intestinal microbiota; the benefits of the use of probiotics, with a focus on microorganisms previously mentioned, and its effects in the treatment of individuals with diarrhoea and in antimicrobial therapy. Several beneficial properties have been attributed to probiotics microorganisms. Among them are the ability of adhesion and inhibition of pathogens, action on intestinal disorders, the response to *Clostridium difficile* toxins, the effect on the immune system, action of probiotics on cardiovascular diseases, besides prevent cancer. After the literature review it was observed that the two microorganisms are equally beneficial to the consumer, it is not productive to compare the efficiency of one over the other. However, the cost of products containing *S. boulardii* is more affordable than those containing bifidobactéria. Despite this, the access of the population to these products is still a challenge which can be overcome when assessing the benefits and the results obtained with treatment, with minimal collateral effects.

Key words: Probiotics, Bifidobactéria, *Saccharomyces boulardii*, diarrhoea, antibiotic.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS	09
LISTA DE FIGURAS	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 JUSTIFICATIVA	14
3 OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo geral	15
3.2 Objetivos específicos	15
4 REVISÃO DA LITERATURA	16
4.1 Composição da microbiota intestinal	17
4.2 Fatores relacionados à colonização do trato gastrointestinal	21
4.3 Efeito protetor da microbiota intestinal	22
4.4 Diarreia	25
4.4.1 Conceito e fatores relacionados	25
4.4.2 Classificação.....	29
4.4.3 Causas	33
4.4.4 Diagnóstico, tratamento e prevenção	38
4.5 Probióticos	37
4.5.1 Definição	37
4.4.2 Diretrizes para caracterização e aplicação	43
4.5.3 Mecanismos de ação dos probióticos	47
4.5.4 Efeitos colaterais/contra indicações	50
4.6 O gênero <i>Bifidobacterium</i>	51
4.6.1 Histórico	51
4.6.2 Taxonomia e fisiologia	52
4.6.3 Mecanismos de ação	54
4.6.4 Aplicação na indústria alimentícia	55
4.6.5 Aplicações clínicas	59
4.7 A levedura <i>Saccharomyces boulardii</i>	60
4.7.1 Histórico	60
4.7.2 Taxonomia e fisiologia	61
4.7.3 Mecanismos de ação	63
4.7.4 Uso na indústria farmacêutica brasileira	65
4.7.5 Aplicações clínicas	65
4.7.6 Vantagens e desvantagens da utilização da levedura	68
4.8 Associações de probióticos em pacientes sob terapia com antimicrobianos	69
4.9 Perspectivas futuras	71
5- Conclusão	76
6- Referências bibliográficas	78

LISTA DE SIGLAS

a.C.- Antes de Cristo

ANVISA- Agência Nacional da Vigilância Sanitária

BAL- Bactérias do ácido lático

DAA- Diarreia associada ao uso de antibióticos

DNA- Ácido desoxirribonucléico

EHEC- *Escherichia coli* entero-hemorrágica

EPEC- *Escherichia coli* enteropatogênica

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para alimentação e agricultura)

FDA- Food and Drug Administration (Departamento de Administração de drogas e alimentos)

GALT – Gut-associated lymphoid tissue (Tecido linfóide associado ao intestino)

HIV- Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)

IgA- Imunoglobulina do tipo A

IgE- Imunoglobulina do tipo E

IL-8- Interleucina 8

IL-10- Interleucina 10

LDL- Lipoproteína da baixa densidade

Mercosul- Mercado Comum da América do Sul

NF-kB- Fator nuclear Kappa B

pH- Potencial hidrogeniônico

SII- Síndrome do Intestino Irritável

SOR- Soro oral de reidratação

RDC- Resolução da Diretoria Colegiada

TGF- β - Transforming growth factor β (Fator transformador de crescimento β)

Th-1- CélulasT-helper 1

TGI- Trato Gastrointestinal

UFC- Unidade Formadora de Colônia

WHO- World Health Organization (OMS - Organização Mundial de Saúde)

WGO- World Gastroenterology Organization (Organização Mundial de Gastroenterologia)

LISTA DE QUADROS, TABELAS E FIGURAS

Quadro 01: Grupos de bactérias da microbiota humana predominante em diferentes regiões anatômicas

Quadro 02: Definição dos probióticos com o passar dos anos (1965-2002)

Quadro 03: Critérios para o desenvolvimento de novos probióticos

Tabela 01: Microbiota bacteriana no tubo digestivo humano

Tabela 02: Comparação da epidemiologia de diarreia aguda em países desenvolvidos e em desenvolvimento

Tabela 03: Causas da diarreia aguda

Tabela 04: Causas da diarreia crônica

Tabela 05: Constituintes da solução de reidratação oral

Tabela 06: Principais produtos alimentícios contendo bactérias probióticas comercializados no Brasil

Tabela 07: Alimentos desenvolvidos com bifidobactérias probióticas ao longo dos anos

Tabela 08: Principais probióticos comercializados contendo bifidobactérias

Tabela 09: Preço dos principais produtos contendo bifidobactérias

Tabela 10: Média de valores de medicamentos contendo *S. bouardii* em Minas Gerais/Brasil

Figura 01: Fatores que regulam a colonização e a estabilidade da microbiota intestinal

Figura 02: Agentes causais da diarreia

Figura 03: Diretrizes para caracterização de micro-organismos probióticos para uso em alimentos

Figura 04: Benefícios do consumo de probióticos à saúde humana

Figura 05: *Bifidobacterium* spp

Figura 06: Critérios de seleção de *Bifidobacterium* spp para utilização como aditivos alimentares

Figura 07: A levedura *Saccharomyces bouardii*

Figura 08: Modelo de transplante fecal em casos de diarreia causada por *C. difficile*

1 INTRODUÇÃO

A história dos probióticos foi inicialmente relatada no antigo testamento da Bíblia. No Gênesis (18:8), lê-se que “Abrão atribui a longevidade (da população) ao consumo de leite azedo”. Em 76 a.C. Plínio, um historiador romano, recomendava o uso de leite fermentado para o tratamento de gastroenterites (TEITELBAUM & WALKER, 2002), no entanto, somente no início do século passado seu papel foi estudado racionalmente e pesquisado com bases científicas. Metchnikoff (1907) foi o primeiro microbiologista a sugerir que o uso de bactérias poderia influenciar positivamente na saúde humana. Após observar a longevidade de camponeses búlgaros e atribuir o fato à dieta constituída basicamente de leite fermentado todos os dias.

O termo probiótico foi utilizado pela primeira vez por Lilly e Stillwell em 1965, para designar substâncias secretadas por micro-organismos, capazes de estimular o desenvolvimento de outros micro-organismos (SANTOS *et al.*, 2008). Logo depois, Parker, em 1974, usou o termo para indicar organismo e substância que contribuem para o equilíbrio da microbiota intestinal. Atualmente, nas várias definições disponíveis, nota-se uma ênfase na atividade profilática ou mesmo terapêutica desses micro-organismos (FIORAMONTI *et al.*, 2003). A definição oficial e mais aceita hoje para probióticos é aquela proposta pela Organização Mundial de Saúde e Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (WHO/FAO), em 2002, que seria uma “preparação contendo um micro-organismo vivo que, quando administrado em quantidade adequada, produz um efeito benéfico para o hospedeiro”.

Os benefícios à saúde do hospedeiro relacionados ao uso de probióticos são inúmeros, e podem ser detectados pelos resultados favoráveis como o controle da microbiota intestinal; a estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; a promoção da resistência gastrointestinal à colonização por patógenos e a estimulação do sistema imune; a diminuição da população de patógenos pela produção de ácidos acético e lático, de bacteriocinas e de outros compostos antimicrobianos; a promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes a este açúcar; o alívio da constipação; o aumento da absorção de nutrientes e de minerais como o cálcio e o aumento na produção de vitaminas (SAAD, 2006).

Os probióticos são comercializados como suplementos alimentares ou preparações farmacêuticas contendo um ou vários micro-organismos. Os mais utilizados como probióticos são as bactérias e as leveduras. Nos últimos anos, as bactérias que têm sido mais estudadas e empregadas com esta finalidade pertencem aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, podendo ser agregadas a alimentos, sobretudo iogurtes e leites fermentados. As bactérias incluídas no gênero *Bifidobacterium* são bacilos Gram positivos, anaeróbios estritos e aerotolerantes (MITSUOKA, 1996). A levedura *Saccharomyces boulardii* também vem sendo empregada como probiótico (VARAVALLO, 2011). É uma levedura não patogênica, termotolerante (cresce na temperatura de 37°C) e, atualmente, de uso muito difundido na medicina humana (LOPES e PINTO, 2010).

Quando há um desequilíbrio da microbiota intestinal, fazendo com que as bactérias potencialmente patogênicas aumentem, em número, pode haver sérias consequências como digestão inadequada de nutrientes e combinação de toxinas com proteínas, originando peptídeos perigosos. Este processo é chamado disbiose, um distúrbio cada vez mais relevante no diagnóstico de várias doenças como a Síndrome do Intestino Irritável (SII) em que ocorre um processo inflamatório na mucosa do intestino. Com o tempo, acarreta desnutrição crônica e o desenvolvimento de doenças autoimunes e alérgicas. Caracteriza-se, ainda, como uma disfunção colônica devido à alteração da microbiota intestinal onde observa-se o predomínio de bactérias patogênicas sobre as bactérias benéficas (ALMEIDA, 2009).

Durante o processo de disbiose encontramos, com uma certa frequência, a diminuição de micro-organismos da microbiota indígena (como *Lactobacillus acidophilus* e Bifidobactérias), a presença de parasitas, o desenvolvimento excessivo de bactérias da microbiota transitória e de *Candida albicans*. Pode-se concluir que a disbiose intestinal é o conjunto de desequilíbrio da microbiota intestinal que causa alterações da saúde com contribuição importante no desenvolvimento de processos degenerativos e alterações do sistema imune.

O uso elevado e crescente, indiscriminado e irracional de medicamentos vem se tornando um dos principais inimigos da microbiota intestinal. Como exemplo, cita-se o uso de antiácidos que, em excesso, alteram a acidez estomacal e, conseqüentemente, permitem que muitos micro-organismos patogênicos cheguem

vivos ao intestino, desequilibrando sua microbiota. O mesmo pode-se falar dos antibióticos, uma vez que eliminam tanto micro-organismos benéficos como maléficos. Além deles também temos o uso prolongado de antiinflamatórios e das pílulas anticoncepcionais que podem causar a disbiose.

Dessa forma, o presente trabalho visa realizar uma revisão da literatura, ressaltando a importância do equilíbrio da microbiota intestinal humana e a influência de micro-organismos do gênero *Bifidobacterium* e a espécie *Saccharomyces boulardii*, como probióticos, nesta microbiota. Buscou-se abordar a ecologia dos micro-organismos selecionados e suas interações com o organismo humano, o uso dos probióticos para a restauração da microbiota diante da disfunção intestinal, além da sua indicação no tratamento da diarreia, principalmente, sob terapia com antimicrobianos.

2 JUSTIFICATIVA

Como os probióticos fazem parte de um seguimento alternativo da indústria farmacêutica e a de alimentos, é importante a atualização constante de trabalhos publicados sobre o assunto. Assim, buscou-se esclarecer o papel destes compostos sobre a microbiota intestinal humana, ressaltando seus efeitos e mecanismos de atuação, principalmente aqueles relacionados à disbiose, preocupação sanitária mundial. O uso de probióticos pode ser considerado uma modalidade de terapia nutricional que não promove pressão seletiva. Dessa forma, micro-organismos potencialmente resistentes não são selecionados como pode ocorrer quando do uso indiscriminado de antimicrobianos.

Vários micro-organismos podem ser utilizados como probióticos. Na presente revisão bibliográfica o gênero *Bifidobacterium* e a espécie *Saccharomyces boulardii*, foram selecionados a fim de avaliar as semelhanças e diferenças no processo de atuação desses micro-organismos sobre o organismo humano. Como a maioria dos trabalhos discute as espécies do gênero *Lactobacillus*, procurou-se estudar outro gênero bacteriano menos abordado na literatura, com o intuito de se conhecer e divulgar sua eficácia como probiótico. A espécie leveduriforme foi escolhida por motivo semelhante, pois quando se fala em probióticos há um senso comum em ressaltar o papel das bactérias.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a atuação, como probióticos, de micro-organismos do gênero *Bifidobacterium* e da *Saccharomyces boulardii* no organismo humano, por meio de revisão da literatura.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a importância da microbiota intestinal humana.
- Comparar a eficiência de atuação de *S. boulardii* e de bactérias do gênero *Bifidobacterium* sob a microbiota intestinal humana.
- Verificar os benefícios da indicação e uso dos probióticos na Medicina humana, na atualidade.

4 REVISÃO DA LITERATURA

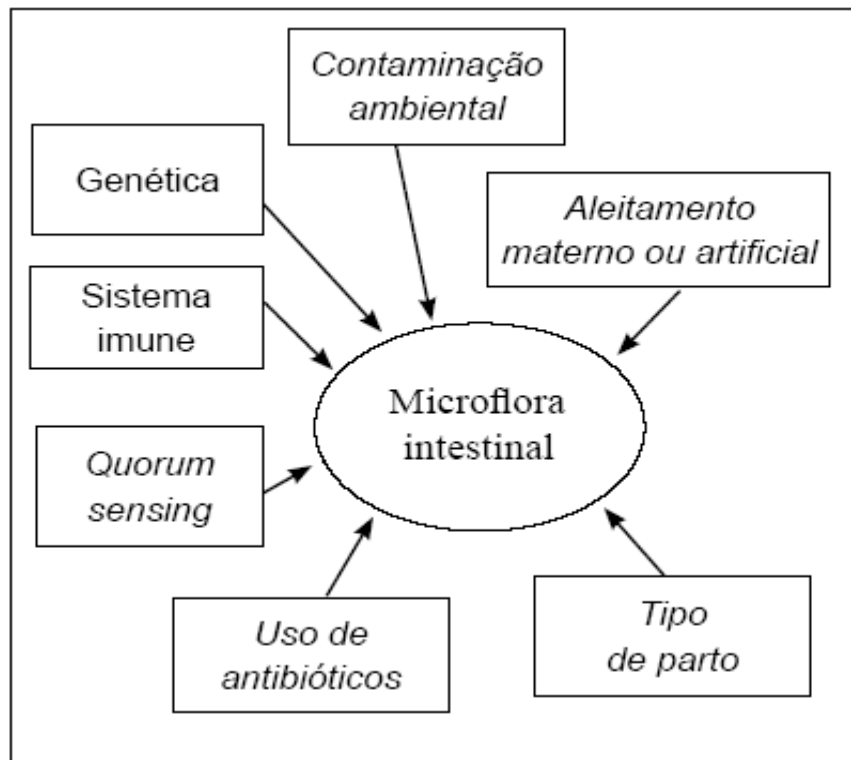
A microbiota humana desenvolve-se por sucessões, desde o nascimento até as diversas fases da vida adulta, resultando em comunidades bacterianas estáveis. Uma criança nasce sem nenhum micro-organismo associado e, utilizando a mãe como doadora, o ambiente e outros seres humanos (médicos, enfermeiras e parentes), adquire, progressivamente, os componentes dos ecossistemas microbianos superficiais (MACHADO, 2008).

A microbiota resultante desses contatos assemelha-se à microbiota de um adulto, em relação ao equilíbrio e funcionalidade, por volta de um a dois anos de vida. Até que isso aconteça, a criança passa por um período denominado crítico, pois possui uma deficiência protetora do ecossistema microbiano e, portanto, propício à entrada de micro-organismos patogênicos. Quando a microbiota indígena consegue instalar-se exerce efeitos de proteção ecológica, imunomodulação e/ou contribuição nutricional muito potentes, porém sujeitos a perturbações.

Entre os fatores mais comuns de perturbação do equilíbrio do ecossistema microbiano estão o uso de substâncias antimicrobianas, mudanças drásticas na alimentação e estresse. Já os fatores que controlam a composição da microbiota em uma dada região do corpo estão relacionados com a natureza do ambiente local, tais como temperatura, pH, água, oxigenação, nutrientes e fatores mais complexos como a ação de componentes do sistema imunológico. Os fatores relacionados à colonização e estabilidade da microbiota intestinal estão apresentados na Figura 01.

A microbiota humana constitui um dos mecanismos de defesa contra a patogênese bacteriana, mas ainda que a maioria dos componentes da microbiota normal seja inofensiva a indivíduos saudáveis, esta pode constituir um reservatório de bactérias potencialmente patogênicas (MACHADO, 2008).

Figura 01. Fatores que regulam a colonização e a estabilidade da microbiota intestinal



Fonte: BRANDT *et al.*, 2006.

4.1 Composição da microbiota intestinal

O termo microbiota pode ser definido como a coleção de bactérias abrigadas nas mucosas de um indivíduo. O termo microbiota intestinal refere-se ao ecossistema essencialmente bacteriano que coloniza o intestino humano (BARBOSA, *et al.*, 2010).

A microbiota relativamente simples de recém-nascidos que se alimentam do leite materno permanece até que a suplementação da dieta se inicie. A microbiota de crianças assemelha-se à de adultos, quando a contagem média de *Bacteroides* spp., *Eubacterium* spp. e *Peptococcus* spp. é maior que a de *Bifidobacterium* spp., e quando a contagem média de *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp. diminui para menos que 10^8 micro-organismos/g de fezes (ATOBE, 2003). Em neonatos predominam bactérias como *E. coli* e as dos gêneros *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* e *Bifidobacterium*, que constituem a maior porção da microbiota fecal enquanto a criança recebe amamentação materna (MACHADO,

2008). Crianças de diferentes regiões geográficas apresentam a composição da microbiota fecal distinta refletindo, em parte, o impacto ambiental (condições sanitárias). No quadro 01 podemos verificar quais bactérias predominam em uma dada região do corpo humano. Já na tabela 01 podem ser observados os gêneros bacterianos predominantes no trato digestivo humano.

Quadro 01: Grupos de bactérias da microbiota humana predominante em diferentes regiões anatômicas

Região anatômica	Gram positivos				Gram negativos			
	Cocos		Bastonetes		Cocos		Bastonetes	
	Anaeróbios facultativos	Anaeróbios estritos	Anaeróbios facultativos	Anaeróbios estritos	Anaeróbios facultativos	Anaeróbios estritos	Anaeróbios facultativos	Anaeróbios estritos
Pele	<i>S. epidermidis</i> <i>S. hominis</i> <i>Micrococcus</i>		<i>Corynebacterium</i>	<i>Propionibacterium</i>			<i>Acinetobacter</i>	
Cavidade oral	<i>Enterococcus</i> <i>Micrococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. sanguis</i> <i>S. mutans</i>	<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>Eubacterium</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Veillonella</i>		<i>Actinobacillus</i> <i>Capnocytophaga</i> <i>Eikenella</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Wolinella</i>
Cavidade nasal	<i>Staphylococcus</i>		<i>Corynebacterium</i>					
Faringe	<i>Streptococcus grupo viridans</i> <i>Staphylococcus</i>		<i>Corynebacterium</i>				<i>Haemophilus</i>	
Intestino delgado	<i>Enterococcus faecalis</i>			<i>Lactobacillus</i>				
Intestino grosso	<i>Enterococcus faecalis</i>			<i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Eubacterium</i>			Enterobactérias (<i>Escherichia coli</i>)	<i>Clostridium</i> <i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium</i>
Vagina (idade reprodutiva)	<i>Estafilococos coagulase-negativo</i> <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus grupo viridans</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Enterococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>			Enterobactérias <i>G. vaginalis</i> *	<i>Bacteroides</i>
Uretra	<i>S. epidermidis</i> <i>Streptococcus grupo viridans</i> <i>Enterococcus</i>		<i>Corynebacterium</i>				Enterobactérias (<i>E. coli</i>)	<i>Bacteroides</i>

Fonte: MOURÃO, MAGALHÃES e MENDES, 2005, pág. 181.

Tabela 01: Microbiota bacteriana no trato digestivo humano

Gêneros bacterianos predominantes (unidades formadoras de colônias/ml ou g)		
Estômago e duodeno 10¹- 10³	Jejuno e íleo 10⁴ - 10⁸	Cólon 10¹⁰- 10¹²
Lactobacilos	Lactobacilos	Bacteróides
Estreptococo	Enterobactérias	Bifidobactérias
Levedura	Estreptococo	Fusobactéria
	Bacteróides	Clostridium
	Bifidobactéria	Veilonella
	Fusobactéria	

Fonte: Adaptado de Probióticos e prebióticos em pediatria de Morais e Jacob, 2006, pág. 192.

A microbiota intestinal desempenha inúmeras funções, muitas das quais somente agora começam a ser desvendadas. Da sua composição calcula-se que pelo menos 40% das espécies ainda não foram cultivadas (BARBOSA *et al.*, 2010).

Os diversos *habitats* do trato gastrointestinal (boca, esôfago, estômago e intestino) são habitados por espécies residentes e um conjunto variável de espécies transitórias que temporariamente preenchem um nicho vazio. A microbiota transitória é formada por micro-organismos provenientes do meio ambiente, que habitam a pele e as mucosas por horas, dias ou semanas, não se estabelecendo de forma permanente (MOURÃO, *et al.*, 2005).

O pH e o tempo de contenção de conteúdo em um dado segmento do trato gastrointestinal, afetam a quantidade de bactérias e o número de espécies presentes nesse local. Quando espaço e nutrientes não são fatores limitantes, as bactérias com as maiores taxas de crescimento predominam. À medida que as populações bacterianas aumentam e diminui a oferta de nutrientes, o trato intestinal torna-se habitado por espécies mais especializadas e a complexidade da microbiota aumenta (MACHADO, 2008).

Diversos fatores desafiam a estabilidade funcional (em oposição a uma estabilidade meramente numérica ou composicional) das comunidades bacterianas intestinais. O epitélio intestinal e a camada de muco renovam-se rápida e

incessantemente. A atividade peristáltica expõe os diversos segmentos do intestino a uma ampla variedade de bactérias alóctones, macromoléculas da dieta e secreções gástricas, pancreáticas e biliares (MACHADO, 2008).

De acordo com Dunne¹ (2001, citado por BARBOSA *et al.*, 2010) O conceito de intestino como o mais complexo ecossistema microbiano conhecido surge do fato de que mais de 75% do peso seco de produtos fecais são compostos por células bacterianas e que cada grama contém, em torno de 1×10^{11} micro-organismos.

As bactérias da microbiota intestinal são encontradas nos intestinos delgado e grosso, sendo este o mais densamente colonizado, provavelmente, por causa da baixa motilidade intestinal encontrada e o baixo potencial de óxido-redução. Interações bactéria-bactéria são um dos fatores mais importantes no controle da microbiota (BARBOSA *et al.*, 2010). A taxa média de trânsito intestinal neste local é de aproximadamente 60-70 h. Essa retenção de conteúdo pelo intestino grosso, associado ao pH relativamente neutro permite o desenvolvimento de comunidades microbianas complexas, compostas por centenas de distintas espécies de bactérias (MACHADO, 2008). O intestino delgado proximal possui rápido fluxo de conteúdo, o que tende a inibir o crescimento de muitas bactérias.

De acordo com Moraes e colaboradores (2014), calcula-se que existam cerca de mil espécies isoladas a partir da microbiota intestinal. Estes micro-organismos estão distribuídos em mais de 50 filos diferentes. Estudos de metagenômica indicam que a microbiota humana é composta por cerca de 3,3 milhões de genes diferentes, valor 150 vezes maior que o genoma humano. Na maioria dos indivíduos, cerca de 90% dos Filos são Firmicutes e Bacteroidetes, sendo o restante composto por Actinobacterias (família Bifidobacteriaceae) e Proteobacterias (família Enterobacteriaceae). A seguir, aparecem os filos Synergistetes, Verrucomicrobia, Fusobacteria e Euryarchaeota, representando percentual pequeno da nossa microbiota. As principais integrantes do Firmicutes são as classes Bacilli, Clostridia e Mollicutes e dos Bacteroidetes são as Bacteroides, Flavobacteria e Sphingobacterias.

¹BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Microbiota indígena do trato gastrointestinal.** 2010.

A concentração de bactérias no intestino delgado proximal é em torno de 10^4 unidades formadoras de colônias por mililitro (u.f.c./mL), sendo as espécies mais representativas pertencentes aos gêneros estafilococos, estreptococos e lactobacilos. Raramente são encontradas bactérias anaeróbias. Já no íleo distal, considerado uma “zona de transição” entre a microbiota de níveis relativamente baixos dos dois terços proximais do intestino delgado e uma microbiota abundante do intestino grosso, o número de bactérias é bem maior (10^8 u.f.c./mL) e a microbiota torna-se bastante diversificada, uma vez que passa a abranger coliformes e várias espécies de bactérias anaeróbias como *Bacteroides*, *Fusobacterium* e *Clostridium* (DUNNE, 2001).

No intestino grosso os níveis populacionais de bactérias atingem cerca de 10^{10} - 10^{11} bactérias/g de conteúdo intestinal. Nessa área do intestino, 99,9% da microbiota indígena são bactérias anaeróbias estritas e a maioria é extremamente sensível ao contato com oxigênio atmosférico (DUNNE, 2001; NICOLI & VIEIRA, 2004; KAPER & SPERANDIO, 2005). Predominam os gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Fusobacterium*. Segundo Tannock¹ (1995, citado por BARBOSA *et al.*, 2010) os *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium* e *Enterobacter* são também bastante frequentes (TANNOCK, 1995).

4.2. Fatores relacionados à colonização do trato gastrointestinal

A colonização microbiana do trato gastrointestinal é um processo complexo e multifatorial, que envolve fatores ambientais, alimentares, associados aos micro-organismos e relacionados ao hospedeiro (MOUNTZOURIS & GIBSON, 2005; BRANDT *et al.*, 2006; KELLY *et al.*, 2007).

Brandt (2006) e Lutgendorff (2008) e seus colaboradores afirmam que:

A colonização do trato gastrointestinal é influenciada também, pela capacidade de ligação das bactérias em receptores denominados sítios de adesão na mucosa intestinal. As espécies com esta característica tendem a colonizar de forma permanente o trato gastrointestinal, sem necessidade de reintrodução periódica, e constituem a denominada microbiota autóctone também denominada normal ou indígena. As espécies alóctones ou transitórias, por sua vez, são aquelas externas ao ecossistema intestinal, sem adequada capacidade de aderir à mucosa, e que transitam no local num determinado instante.

¹BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Microbiota indígena do trato gastrointestinal.** 2010.

Para continuar no intestino, os micro-organismos colonizadores devem ser capazes de sobreviver às condições físico-químicas (fluxo intestinal para a digestão, pH e potencial redox) e competir, de forma bem sucedida, com as espécies já estabelecidas e outras que estejam tentando ocupar os mesmos sítios intestinais (MOUNTZOURIS & GIBSON, 2005).

4.3 Efeito protetor da microbiota intestinal

A microbiota do cólon é um ecossistema complexo com a importante função de controlar populações de muitos micro-organismos patogênicos (MACHADO, 2008). Animais isentos de micro-organismos têm características anatômicas, fisiológicas e imunológicas distintas daquelas dos animais convencionais. Neles, a mucosa do intestino é subdesenvolvida, com pouca ou nenhuma imunoglobulina presente no soro ou secreções, a mobilidade intestinal é reduzida e a taxa de renovação das células da mucosa intestinal era de quatro dias contra dois nos animais convencionais (MACHADO, 2008).

Dessa forma, observa-se que a microbiota intestinal tem considerável importância para o hospedeiro. Além das funções bioquímicas e digestivas a microbiota indígena desempenha outros papéis extremamente importantes. Segundo McFarland¹ (2000, citado por MARTINS, 2008), pela produção de bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e ácidos orgânicos, competição por nutrientes e por sítios de adesão a microbiota exerce a primeira linha de defesa contra a invasão por patógenos alóctones e por autóctones oportunistas (MCFARLAND, 2000. Além disso, também realizam a imunomodulação e a contribuição nutricional resultante das interações locais e dos metabólitos produzidos (BARBOSA *et al.*, 2010).

A resistência à colonização pode ser definida como a “ação limitante” da microbiota na colonização do intestino por micro-organismos potencialmente patogênicos exógenos e indígenas, tais como *E. coli*, *Enterococcus*, e leveduras (NICOLI & VIEIRA, 2004).

¹MARTINS, F.S. **Efeito de dois probióticos, *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG 905, na resposta inflamatória induzida por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar. Typhimurium. 2008.**

Os critérios empregados para definir o efeito barreira são diversos. Quando uma linhagem, chamada “linhagem alvo”, presente no organismo, encontra uma barreira formada por uma ou mais “linhagens inibitórias”, surgem várias consequências (BARBOSA *et al.*, 2010). Essa “linhagem alvo” pode ser introduzida no trato digestivo por alimentos e bebidas ingeridas, ar respirado ou até mesmo contato com secreções e materiais contaminados e pode ser ou não patogênica.

Quando a “linhagem inibitória” elimina todo o inóculo exógeno ela é considerada drástica. Quando a resistência à colonização não elimina totalmente a população exógena de inóculo e esta permanece em níveis populacionais baixos no sistema digestivo, ela é considerada permissiva e passa a ser silenciosa. Este fenômeno, provavelmente, é o responsável pela existência do portador sadio em humanos e animais e pela existência das populações residuais na microbiota autóctone. A resistência à colonização de forma permissiva é uma proteção parcial contra uma bactéria potencialmente patogênica ao hospedeiro e que por outro lado, pode causar infecções ao resto da população e ao próprio hospedeiro, uma vez que o hospedeiro não manifesta sintomas clínicos causados pela bactéria e, dessa forma, ela pode ser espalhada durante muito tempo (BARBOSA, *et al.* 2010). Os autores informam ainda, que o efeito barreira tem caráter curativo quando a linhagem alvo é eliminada ou suprimida pelas inibitórias, indiferentemente da ordem de administração. É denominado preventivo, quando a linhagem alvo é inoculada depois das linhagens inibitórias. Dependendo do tipo de linhagens presentes, o efeito barreira pode ser intra-específico quando as células alvo e aquelas que estão inibidas pertencem à mesma espécie, ou interespecífico, quando elas pertencem a espécies diferentes.

Além do efeito barreira, o sistema digestório desempenha papel imunológico extremamente importante. É considerado o maior órgão linfóide do organismo, sendo sua área de cerca de 300 m² e o tecido linfóide associado ao intestino contém a maior coleção de moléculas imunogênicas provenientes da microbiota e da dieta (GUARNER & MALAGELADA, 2003; NICOLI & VIEIRA, 2004).

A microbiota presente interage com as células do epitélio do hospedeiro provocando modulação contínua do sistema imunológico mantendo-o em um estado constantemente ativado. As células M (células epiteliais membranosas) do tecido linfóide associado ao intestino têm a capacidade de, ativamente, englobar desde

partículas pequenas, como proteínas, a bactérias e protozoários. Uma vez englobado, este material é transportado da superfície apical da célula à porção basolateral, onde é apresentado às células linfóides. A resposta a certos antígenos com estimulação de células repressoras pode ser reduzida devido à presença da microbiota normal. Devido a essa modulação antigênica constante o sistema imune intestinal é mantido sempre pronto para responder rapidamente e de maneira adequada a uma agressão microbiana (ISOLAURI *et al.*, 2004).

Dessa maneira percebe-se que a microbiota pode ser considerada como tendo uma função global de imunomodulação (imunostimulação contra possíveis agressores microbianos e imunotolerância, por exemplo, da própria microbiota indígena). Para um hospedeiro que vive num ambiente onde estão presentes inúmeros micro-organismos patogênicos a função de imunomodulação, juntamente com a resistência à colonização, desenvolvida pela microbiota são essenciais, segundo o abordado por Bottcher *et al.* e Wills-Karp *et al.*¹ (2000 e 2001, citado por BARBOSA *et al.*, 2010).

Como a microbiota determina a maturação do sistema imune, mudanças na sua composição como consequência de um estilo de vida e dieta alteradas, podem ter um importante papel em doenças alérgicas e outras dependentes de respostas imunes efetivas (BOTTCHER *et al.*, 2000). Segundo Walker e Duffy¹ (1998, citado por BARBOSA *et al.*, 2010), a microbiota intestinal tem também um papel considerável no metabolismo de várias substâncias presentes no trato gastrointestinal do hospedeiro, podendo sua atividade metabólica ser potencialmente comparada à do fígado.

A ação das bactérias sob determinados nutrientes permite o estabelecimento de funções bioquímicas e digestivas, destacando-se: recuperação de energia devido à fermentação de carboidratos e proteínas da dieta que alcançam intactas o cólon; e síntese de vitaminas do complexo B e vitamina K (ISOLAURI *et al.*, 2004). Uma ampla variedade de gêneros de bactérias intestinais, incluindo *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Enterobacterium*, *Veillonella*, *Enterococcus* e *Streptococcus*, produz essas vitaminas. Tais vitaminas são sintetizadas no cólon e, por esta razão, é provavelmente mais efetiva em animais coprofágicos (BARBOSA, *et al.*, 2010).

¹BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Microbiota indígena do trato gastrointestinal.** 2010.

A maior fonte de nutrientes para a microbiota provém do trato intestinal inferior e os substratos disponíveis podem incluir fibras da dieta, oligossacarídeos, açúcares, alguns lipídeos e proteínas. Outra fonte de nutrientes está dentro do próprio cólon e inclui mucinas, tecidos epiteliais e enterócitos, ácidos biliares e colesterol (BARBOSA, *et al.*, 2010).

O efeito antimicrobiano pode ser exercido pelos ácidos graxos de cadeia curta, uma vez que diminuem o pH da luz intestinal, facilitando também a absorção de água e sais no colón (MOUNTZOURIS *et al.*, 2002; ISOLAURI *et al.*, 2004).

Conforme descrito por Isolauri *et al.*, 2004, compostos desta classe, como o ácido acético, butírico e propiônico, são os principais produtos do metabolismo bacteriano. O ácido acético e o propiônico são rapidamente absorvidos e são a principal fonte de energia dos tecidos periféricos (acetato) e para o fígado (propionato). O ácido butírico tem várias funções incluindo manutenção da integridade da camada epitelial, como uma fonte de energia para estas células e regulação do crescimento e da diferenciação celular.

Há outras atividades metabólicas da microbiota cuja consequência para o organismo humano ainda é pouco compreendida como a conversão do colesterol em coprostanol, de bilirrubina em urobilina e a inativação da tripsina (BRANDT *et al.*, 2006).

Uma das doenças que levam à perda da estabilidade da microbiota intestinal é a diarreia, uma doença muito comum que consiste na evacuação de fezes líquidas de forma frequente e sem controle. A seguir aborda-se a doença com o objetivo de esclarecer como o organismo humano pode ser afetado, bem como as causas, tratamento e prevenção.

4.4 Diarreia

4.4.1 Conceito e fatores relacionados

A diarreia/disbiose é caracterizada pelo aumento do volume ou fluidez das fezes, mudanças em sua consistência e aumento da frequência da defecação. Para se fazer o diagnóstico, não é prático medir a fluidez das fezes, prefere-se analisar a frequência de defecação. O hábito intestinal varia entre as pessoas, sendo difícil o

estabelecimento de padrões de normalidade. Duas evacuações por dia é o que se considera normal.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde - OMS, diarreia é a ocorrência de fezes líquidas e soltas pelo menos três vezes num período de 24 horas. Fezes com sangue podem indicar uma diarreia aguda, disenteria, independentemente da frequência. (THAPAR, SANDERSON, 2004). A OMS calcula que no ano 2000 as doenças diarréicas causaram óbito de 1.4 a 2.5 milhões de pessoas. A organização considera que elas estão entre as principais causas de mortalidade infantil nos países em desenvolvimento.

A incidência e o risco de mortalidade por patologia diarréica são maiores entre as crianças menores de um ano. Victora, 2009, relata que, todos os anos, aproximadamente 2 milhões de crianças ao redor do mundo morrem de diarreia. Desnutrição, retardo do crescimento e perturbação do desenvolvimento cognitivo também são consequências diretas da diarreia infantil nos países com recursos limitados. Já nos países industrializados, os óbitos por diarreia são relativamente poucos, mas segue sendo uma causa importante de morbidade além de incorrer em custos substanciais para a saúde. A Tabela 02 apresenta dados comparativos da ocorrência de diarreia aguda em países desenvolvidos e os em desenvolvimento.

Tabela 02: Comparação da epidemiologia de diarreia aguda em países desenvolvidos e em desenvolvimento

Local	Episódios de diarreia aguda	Hospitalizações	Óbitos
Estados Unidos	375 milhões – 1.4 episódios\pessoa\ ano	Total: 900.000 Crianças:200.000	Total: 6.000 Crianças: 300
	>1.5 milhões de consultas ambulatoriais de crianças		
Mundo	1.5 bilhões de episódios (países em desenvolvimento) Crianças <3 anos:3 episódios por ano		1.5 – milhões de crianças < 5 anos

Fonte: Adaptado de World Gastroenterology Organization (WGO), 2008.

Segundo Almeida e colaboradores (2009), o uso indiscriminado de antibióticos e de anti-inflamatórios hormonais e não-hormonais; o abuso de laxantes; o consumo excessivo de alimentos processados em detrimento de alimentos crus; a exposição à toxinas ambientais; o câncer e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS); as disfunções hepatopancreáticas; o estresse e a diverticulose, são alguns fatores que podem ser relacionados à Disbiose, sendo atribuídos como causas de alteração da microbiota intestinal e levando à colonização do intestino delgado por bactérias nocivas.

A idade, o tempo de trânsito e o pH intestinal, a disponibilidade de material fermentável e o estado imunológico do hospedeiro também são considerados como fatores que levam ao estado de Disbiose. Um dos fatores que concorrem muito para esse desequilíbriada microbiota intestinal é a má digestão (ALMEIDA *et al*, 2009).

A integridade intestinal está ligada a um equilíbrio das bactérias intestinais e à nutrição saudável de enterócitos e colonócitos, que são células da mucosa intestinal (ALMEIDA *et al*, 2009). Como visto, uma das principais funções da mucosa intestinal

é sua atividade de barreira, que impede as moléculas ou micro-organismos antigênicos ou patógenos de entrarem na circulação sistêmica.

A mucosa gastrintestinal é composta de células epiteliais que estão bem adaptadas, são finas e semipermeáveis, com junções firmes entre as células. Quando a mucosa é rompida, a permeabilidade intestinal pode ocorrer e as bactérias do intestino, alimento não digerido ou toxinas podem se translocar através desta barreira (BLOCH, 2002).

A exata etiologia da alteração da permeabilidade intestinal não é clara, porém, a ingestão dietética e o desequilíbrio bacteriano no intestino foram sugeridos como fatores (MATHAI, 2002). A Disbiose torna-se ainda mais perigosa quando se combina, ou mesmo provoca, outros distúrbios como aumento da permeabilidade intestinal. Quando a microbiota encontra-se alterada, há uma inadequada quebra de peptídeos e reabsorção de toxinas do lúmen intestinal. Ao caírem, na circulação portal estas toxinas podem produzir efeitos farmacológicos, “efeito exorfina”, levando ao quadro de letargia observado nos casos de múltipla sensibilidade a alimentos. Este fenômeno pode produzir uma grande quantidade de doenças, que vão desde depressão a artrite reumatóide (ALMEIDA *et al.*, 2009).

De acordo com Mathai (2008), a correlação entre Disbiose e o desenvolvimento de certas doenças está apenas começando a ser explorada. A função gastrointestinal altera-se quando há um crescimento exagerado de bactérias patogênicas o que leva a um desequilíbrio na produção das secreções pelos órgãos que compõem o TGI. Isto resulta em insuficiência pancreática, diminuição da função biliar, deficiência de ácido clorídrico e, por fim, dano ao funcionamento intestinal. Este desequilíbrio também é capaz de provocar a perda de peso, mas não a do tipo saudável uma vez que ocorrerá diminuição na capacidade de absorção de nutrientes, causando um déficit nutricional que, entre outros prejuízos, concorrerá para a perda de peso (POVOA 2002). Ainda segundo Silva¹ (2001, citado por ALMEIDA *et al.*, 2009), além disso, como a microbiota intestinal sintetiza vitaminas, principalmente as do complexo B, se ela está anormal, pode surgir uma hipovitaminose.

¹ALMEIDA, L. B. *et al.* **Disbiose intestinal.** 2009

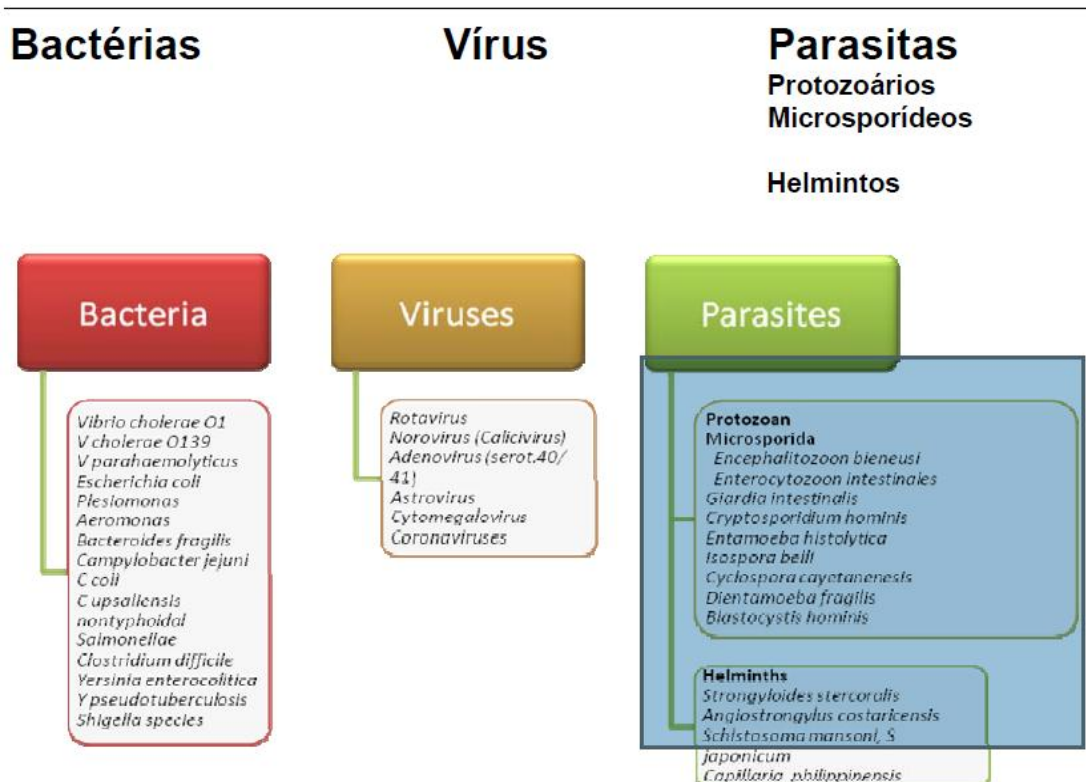
Povoa (2002) relata que até mesmo a falta de alegria de viver pode ser consequência de uma Disbiose, pois alguns micro-organismos têm o poder de diminuir a formação de serotonina. O estresse facilita a instalação de bactérias oportunistas que mandam para o cérebro toxinas que inibem sua síntese.

Os agentes causais da diarreia estão apresentados na Figura 02.

4.4.2 Classificação

De um modo geral as diarreias são classificadas em agudas ou crônicas. A aguda é a forma mais comum e se caracteriza por um episódio abrupto que é sanado no máximo em 14 dias e é, na maioria das vezes, causado por alergias e infecções devido à ingestão de alimentos contaminados e pelo uso de medicamentos conforme apresentado na Tabela 03 (THAPAR & SANDERSON, 2004).

Figura 02: Agentes causais da diarreia



Fonte: World Gastroenterology Organization (WGO), 2008, página 05.

Tabela 03: Causas da diarreia aguda

Causa	Descrição
Infecções	Bacterianas Parasitas Vírus Fungos
Alimentícia	Alimentos contaminados Ingestão recente de açúcares não absorvíveis
Medicamentosa	Uso de diversas medicações
Patológica	Isquemia intestinal Impactação fecal Inflamação pélvica

Fonte: Adaptado de DANTAS, 2004.

As diarreias crônicas ou persistentes duram por no mínimo 14 dias e geralmente aparecem secundariamente a uma infecção e na presença de complicações como má nutrição, enquanto o resto das diarreias é causado por defeito congênito de digestão e absorção (Tabela 04) (THAPAR & SANDERSON, 2004).

Tabela 04: Causas da diarreia crônica

Causas	Descrição
Patológicas	Síndrome do intestino irritável
	Doença inflamatória intestinal
	Isquemia do intestino \ Parasitose
	Infecção crônica \ Infecção fúngica
	Enterite por radiação \ Doenças endócrinas
	Síndrome da má-absorção \ Diverticulite
	Impactação fecal \ Incontinência anal
	Adenoma viloso \ Colite microscópica
	Diarreia crônica idiopática \ Amiloidose
	Operações gastrointestinais prévias
Abuso de laxativos	
Ingestão de substâncias	Medicação
	Envenenamento por metais pesados
Outros	Álcool
	Alergia a alimentos

Fonte: DANTAS, 2004.

As diarréias podem ainda ser classificadas de maneira mais específica, como descrito nos itens 4.5.2.1 a 4.5.2.5.

4.4.2.1. Diarreia osmótica

Ocorre quando há grande quantidade de moléculas hidrossolúveis no lúmen intestinal, levando à retenção osmótica de água. Tem como causa mais frequente o uso de laxativos e a má-absorção intestinal de carboidratos (DANTAS, 2004).

4.4.2.2. Diarreia secretória

A mucosa intestinal tem a capacidade de secretar fluidos isotônicos. Dentre os estímulos que provoca aumento da secreção estão a presença de vírus,

enterotoxinas bacterianas, como *Vibrio cholerae* e *Escherichia coli*, neoplasias que produzem hormônios gastrointestinais, síndrome de Zollinger-Ellinson, ácidos graxos, de cadeia longa (esteatorreia), ácidos biliares (ressecção ileal) e catárticos, derivados da antraquinona (DANTAS, 2004).

4.4.2.3. Diarreia exsudativa

Exsudação de proteínas do soro, sangue, muco ou pus, a partir de áreas inflamadas, de doenças ulcerativas ou infiltrativas, aumenta o volume fecal e causa diarreia. Nesse grupo, estão incluídas as doenças inflamatórias intestinais, neoplasias intestinais, a colite induzida por antibióticos e a parasitose (giardíase), (DANTAS, 2004).

4.4.2.4. Diarreia motora

Para que haja absorção de nutrientes a partir dos alimentos, seu conteúdo deve estar exposto a uma superfície absorvente adequada, por suficiente período de tempo. Também há necessidade de que esteja preparado para a absorção, ou seja, a digestão deve estar completada. Os mecanismos envolvidos na diarreia motora são o trânsito acelerado, causando inadequada mistura do alimento com as enzimas digestivas, e o pouco contato com a superfície absorviva, por ressecção intestinal ou fístulas enteroentéricas (DANTAS, 2004).

4.4.2.5. Diarreia associada a antibióticos

A Diarreia Associada a Antibióticos (DAA) é uma complicação comum, que ocorre em 20% (CORRÊA *et al.*, 2005) a 25% (YOUNG & SCHMIDT, 2004) dos pacientes que receberam tratamento com antibiótico e que não apresentam outra causa óbvia (TEITELBAUM & WALKER, 2002). É considerado um efeito colateral significativo levando à alteração da microbiota intestinal indígena (CORRÊA *et al.*, 2005). Esta variação da diversidade da microbiota é reconhecida por permitir o crescimento de patógenos como *Clostridium difficile* (PLUMMER *et al.*, 2004; YOUNG & SCHMIDT, 2004). A diarreia pode ocorrer no início da administração do antibiótico ou em até dois meses após o término do tratamento. O problema pode ocorrer com qualquer pessoa, porém é mais comum em crianças menores de dois anos de idade e em idosos.

Os sintomas da diarreia associada ao uso de antibióticos são semelhantes àqueles observados em infecções por bactérias, vírus ou protozoários: fezes de consistência aquosa, dores abdominais e evacuação com intervalos curtos de tempo, ocasionando o risco de desidratação. A diferença é a ausência de febre e vômito na diarreia associada a antibióticos, sintomas comuns quando a mesma é causada por micro-organismos. A implicação mais frequente do uso de antibióticos de amplo espectro é o impacto destes agentes no componente anaeróbio da microbiota fecal, que é considerada responsável pela proteção quanto à proliferação de patógenos (CORRÊA *et al.*, 2005).

A incidência da DAA depende do antibiótico utilizado e das características do paciente. A gravidade do quadro varia de leve a grave e complicações mais sérias podem ocorrer, incluindo desequilíbrio eletrolítico, desidratação, colite pseudomembranosa, megacólon tóxico, podendo levar até a morte (CORRÊA *et al.*, 2005).

O tratamento ainda é limitado devido à falta de uma terapêutica específica contra os patógenos que desequilibram a microbiota intestinal, sendo o mais indicado a interrupção do uso do antibiótico incitante da situação e início de um tratamento suporte (CORRÊA *et al.*, 2005). Os probióticos podem ser utilizados na prevenção da DAA devido à possível manipulação da microbiota intestinal. Vários estudos recentes confirmam a eficácia deste método combinada a baixos riscos à saúde humana (SAAD, 2006).

4.4.3 Causas

É frequente a existência de mais de um mecanismo envolvido no desencadeamento da diarreia. Para diagnosticar a causa e solicitar corretamente possíveis exames complementares, é necessário que algumas informações sejam obtidas do paciente, como a duração do sintoma, a associação com outras manifestações, a idade e o sexo.

O padrão da diarreia sugere a sua origem, podendo ser “alta”, causada por doença em intestino delgado, em que o volume evacuado em cada ocasião é grande, a frequência é pequena, cessa com o jejum, tem restos alimentares digeríveis nas fezes, pode haver esteatorreia (gordura nas fezes) e distensão abdominal. Pode ser “baixa”, causada por doença no intestino grosso em que o volume é pequeno, a frequência é alta, diminui, mas não cessa com o jejum, ocorre

tenesmo, podendo haver eliminação de muco e desinteria. Não é raro que características de diarreia “alta” e “baixa” estejam presentes no mesmo paciente (DANTAS, 2004).

A diarreia pode ser manifestação de doença funcional, situação em que não é acompanhada de comprometimento sistêmico ou doença orgânica. A ocorrência durante a noite, a presença de sangue nas fezes, hipotrofia muscular, esteatorreia, a queixa de dor abdominal, emagrecimento, febre, adenomegalia, massas palpáveis no abdômen, sintomas carenciais, anemia e redução do subcutâneo, são evidências de que a diarreia tem causa orgânica (DANTAS, 2004).

Fine e Eschiller (1999) relatam que se deve esclarecer alguns pontos relevantes na história do paciente com diarreia como as características e o padrão do quadro, a duração dos sintomas; alguns fatores epidemiológicos como viagens, ingestão de água e alimentos contaminados e membros da família acometidos; a consistência das fezes e a presença ou ausência de dor abdominal e incontinência fecal; perda de peso acentuada; resultados de exames já realizados; fatores iatrogênicos e ingestão de medicamentos; presença de doenças sistêmicas como hipertireoidismo, diabetes melito, doenças do colágeno, doenças inflamatórias, neoplasias ou síndrome da imunodeficiência adquirida.

Também é necessário obter-se do paciente informações referentes à duração, definindo se a diarreia é aguda ou crônica, para se obter orientações quanto à localização da causa, o comprometimento sistêmico associado à diarreia, a presença de sangue nas fezes, que pode vir misturado com as mesmas, vir após a evacuação ou mesmo haver evacuação unicamente de sangue, a existência de esteatorreia, restos alimentares nas fezes, o hábito intestinal noturno e sintomas de comprometimento de outros órgãos, como dor articular e lesões cutâneas (DANTAS, 2004).

4.4.4 Diagnóstico, tratamento e prevenção

Por ser um problema sério, que perturba todo o organismo, a Disbiose deve ser muito bem investigada e tratada. Para se realizar o diagnóstico, o exame físico deve ser completo, realizado durante a observação clínica, para se conhecer a repercussão da diarreia, e poder sugerir o diagnóstico, o que não é frequente. O mais importante, no exame físico, é caracterizar a desidratação e a desnutrição, se estiverem presentes. Outros dados importantes são eritemas, úlceras na cavidade

bucal, nódulos na tireóide, sibilos na ausculta pulmonar, artrite, ruídos cardíacos, hepatomegalia, massa abdominal, ascite, edemas e o exame anorretal (DANTAS, 2004).

Segundo Borges¹ (2001, citado por ALMEIDA, 2009) o tratamento da Disbiose consiste em duas abordagens, uma dietética, por meio da ingestão de alimentos que contenham probióticos e/ou prebióticos, e outra usando medicamentos, resolvendo assim a grande maioria dos casos. Nos casos mais graves, há a necessidade de lavagens colônicas (hidrocolonterapia) para remover conteúdos putrefativos do intestino e permitir a drenagem linfática do cólon. Além disso, o estresse psíquico deve ser identificado e tratado adequadamente.

No histórico natural da maioria das diarreias agudas, o tratamento é paliativo enquanto se dá a cura das mucosas. Este suporte quase sempre inclui terapia de reposição de fluidos e nutrição com objetivo de prevenir a desidratação se ainda não há, re-hidratação de uma pessoa desidratada e prevenção de maiores problemas nutricionais pela alimentação equilibrada e balanceada durante e depois o período da diarreia (THAPAR & SANDERSON, 2004).

Terapias utilizando-se Soro Oral de Reidratação (SOR) e controle da dieta, cuja composição está apresentada na Tabela 05, são os métodos mais utilizados no controle da diarreia, principalmente em crianças (ROBBERSTAD *et al.*, 2003). Durante as últimas três décadas houve uma redução consistente da taxa de mortalidade nos países em desenvolvimento, graças a fatores tais como a distribuição e uso generalizado do SOR, maior frequência e/ou duração da alimentação no peito, melhor nutrição, melhor estado sanitário e higiene e um aumento da cobertura de vacinação contra o sarampo. Este é o tratamento recomendado pela WHO às crianças com qualquer variação de diarreia (THAPAR & SANDERSON, 2004).

O SOR, desenvolvido no Século XX, foi uma grande inovação da medicina dos países em desenvolvimento aplicada mundialmente. As soluções de SOR contêm concentrações específicas de sódio, glicose, potássio, cloro, e solução alcalina de bicarbonato ou citrato, em água (THAPAR & SANDERSON, 2004).

¹ALMEIDA, L. B. *et al.* **Disbiose intestinal.** 2009

Tabela 05: Constituintes da solução de reidratação oral:

Componentes	Mmol/L
Sódio	75
Cloro	65
Glicose, anidra	75
Potássio	20
Citrato	10
Osmolaridade total	245

Fonte: World Gastroenterology Organization, 2008, pág. 15.

Depois do início do tratamento utilizando o SOR, em 1970, houve uma queda de milhões de mortes em crianças menores de cinco anos. Entretanto, alguns pesquisadores afirmam que outras medidas secundárias de intervenção como campanhas de apoio ao aleitamento materno, acesso à alimentação e água tratada, poderiam, juntamente como SOR, ter influenciado tais números. (THAPAR & SANDERSON, 2004).

A dietoterapia para a prevenção e o tratamento da disbiose passa, principalmente, por uma reeducação alimentar, evitando-se o excesso de ingestão das carnes vermelhas, do leite e derivados, dos ovos, do açúcar branco e de alimentos processados (BEYER, 2002). Deve-se evitar também a grande ingestão de carboidratos, pois há aumento da fermentação bacteriana podendo levar à formação de gases em excesso ou certas substâncias tóxicas que comprometem a microbiota intestinal benéfica (JUNIOR, 2004). O consumo de grandes quantidades de lactose, especialmente por indivíduos com intolerância, e de açúcares pode causar flatulência e diarreia, prejudicando também a microbiota (SILVA, 2001).

Quanto à prevenção, uma das formas mais importantes é evitar o contato com os agentes infecciosos (THAPAR & SANDERSON, 2004). Em países desenvolvidos, estudos confirmam que há grandes benefícios na prevenção da diarreia ao adotar-se medidas como a ingestão de água potável, uma melhora substancial na higiene em ações tão simples como a lavagem das mãos (SAZAWAL *et al.*, 2006), melhora nas condições sanitárias, na nutrição e na saúde de forma geral. Tais ações confinariam a capacidade de agentes infecciosos a resistirem ou adaptarem-se a estas novas

condições. No entanto, em países em desenvolvimento tais medidas de prevenção são dificultadas pelo clima, fatores econômicos e sociais, o que faz com que a morbidade e a mortalidade permaneçam altas (CORRÊA *et al.*,2005; THAPAR & SANDERSON, 2004).

De acordo com os últimos autores, recursos financeiros estão sendo direcionados para o desenvolvimento de vacinas capazes de imunizar as mucosas contra uma variedade de patógenos responsáveis pela diarreia infecciosa. Tais vacinas interfeririam junto a um ou mais mecanismos de ação de micro-organismos patogênicos, como aderência, colonização, penetração ou replicação, ou bloqueariam a ação de toxinas. No entanto, estes trabalhos têm sofrido um impasse por problemas relacionados ao sistema de produção de antígenos e a diversas reações sofridas pelas pessoas que as recebem.

Como fatores de maior relevância na prevenção estão a educação e o conhecimento das pessoas responsáveis por prover cuidados relacionados com a saúde. Programas de intervenção locais ou nacionais devem ser claros, bem educativos e promover a instrução de pessoas que estão sujeitas a contrair diarreia (THAPAR & SANDERSON, 2004).

Sendo a ingestão de probióticos uma das abordagens do tratamento da diarreia, a seguir, faz-se uma explanação sobre esses alimentos no intuito de se conhecer, dentre outros, os benefícios que podem proporcionar ao organismo humano auxiliando na manutenção da estabilidade da microbiota intestinal.

4.5 Probióticos

4.5.1 Definição

São micro-organismos vivos administrados em quantidades adequadas que promovem benefícios à saúde do hospedeiro, favorecendo o equilíbrio microbiano intestinal (SAAD, 2006). Por isso, são denominados alimentos funcionais, definidos como aqueles que desempenham funções que vão além das funções nutricionais conhecidas. Contêm substâncias que atuam no organismo modulando funções bioquímicas e/ou fisiológicas e que resultam em maior proteção à saúde, retardando, inclusive, processos patológicos que conduzem à doenças crônicas e degenerativas. O uso de organismos probióticos surgiu no Oriente médio, onde médicos

prescreviam iogurtes e outros fermentados como terapia para infecções gastrointestinais e também como estimulante para o apetite (CARLI, 2006).

Segundo Marafon (2010), a definição do termo probiótico se alterou ao longo dos anos, conforme disposto no Quadro 02.

Quadro 02: Definição dos probióticos com o passar dos anos.

Definição publicada	Referência
Substâncias produzidas por micro-organismos que estimulam o crescimento de outros.	Lilly; Stillwell, 1965
Organismos ou substâncias que contribuem para o balanço microbiano do intestino.	Parker, 1974
Suplemento de organismos vivos que beneficiam o hospedeiro, melhorando seu balanço microbiano intestinal.	Fuller, 1989
Cultivo mono ou misto viável de micro-organismos que, quando aplicado em animal ou homem, afeta-o benéficamente, melhorando as propriedades da microflora endógena.	Havenaar, Huis In't Veld, 1992
Organismos vivos que, quando ingeridos em certa quantidade, oferecem efeitos benéficos além da nutrição básica.	Schaafsma, 1996
Auxiliar dietético microbiano que afeta benéficamente a fisiologia do hospedeiro, modulando a imunidade e melhorando o equilíbrio nutritivo e microbiano no trato intestinal.	Naidu; Bidlack; Clemens, 1999
Preparação / produto que contenha micro-organismos viáveis, definidos em números suficientes que alteram a microflora no hóspede e exercem efeitos benéficos.	Schrezenmeir, De Vrese, 2001
Micro-organismos vivos administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro.	FAO/WHO, 2002

Fonte: MARAFON, 2010, pág 10.

Entre os probióticos mais estudados, experimental e clinicamente, as bactérias e as leveduras se sobressaem. Alguns já são comercializados sob a forma

de suplemento alimentar ou preparações farmacêuticas, contendo um ou vários micro-organismos.

Barbosa *et al.* (2011) relatam que:

Entre os principais probióticos estão as bactérias do ácido láctico (BAL), que incluem os lactobacilos (*Lactobacillus lactis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. jensenii*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. helveticus*, *L. gasserii*), *Enterococcus faecium* SF68 e *E. faecalis*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus acidilactici* e espécies de *Leuconostoc* e *Lactococcus*. Além das BAL, temos também as bifidobactérias (*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. animalis*, *B. adolescentis*), *Escherichia coli* EMO e *E. coli* Nissle, *Bacillus subtilis* e *B. toyoi*, e as leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae*. Esta última, geralmente, é utilizada apenas na medicina veterinária.

Na caracterização de micro-organismos probióticos, bem como no estudo do seu modo de ação, é imprescindível a identificação precisa desses organismos. Os principais produtos alimentícios e farmacêuticos contendo bactérias probióticas comercializados no Brasil estão apresentados na Tabela 06.

Segundo Saarela *et al.*¹ (2000, citado por PEREIRA, 2012), uma linhagem probiótica irá desempenhar melhor seu efeito benéfico quando estiver em ambiente similar ao qual foi isolado, visto que é hospedeiro-específica. Portanto, é aconselhável que os micro-organismos probióticos para o consumo humano sejam de origem humana.

A levedura *Saccharomyces boulardii*, embora não seja de origem humana ou animal, é reconhecida como probiótico e empregada na indústria farmacêutica desde 1960 (comercializada inicialmente pelo “*Laboratoires Biocodex*”, Montrouge / França), (ANTUNES *et al.*, 2007).

¹PEREIRA, B. S. **Seleção de meio de cultura para a determinação de bifidobactérias durante a vida de prateleira de bebida lacteal fermentada com soro de leite nanofiltrado.** 2012.

Tabela 06: Principais produtos alimentícios contendo bactérias probióticas comercializados no Brasil

Categoria do produto	Produto	Produtor	Probióticos	Funções atribuídas
Leite fermentado	Yakult	Yakult	<i>L. casei</i> cepa Shirota	Normalizar o equilíbrio da microbiota intestinal humana
	Chamyto	Nestlé	<i>L. johnsonii</i> <i>L. helveticus</i>	-----
	Leite fermentado Parmalat	Parmalat	<i>L. casei</i> <i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>	-----
	Vigor Club-Poke-mons	Vigor	<i>L. casei</i> <i>L. acidophilus</i>	---- ----
Leite fermentado aromatizado	Batavito	Batavo	<i>L. casei</i>	
Iogurte	LC1 Active (sabor laranja)	Nestlé	<i>S. thermophilus</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. acidophilus</i> NCC 208	Prevenir a instalação de bactérias nocivas na parede do intestino;
	Iogurte Biofibras	Batavo	<i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>	estimular as células do sistema imunológico, aumentando os anticorpos
	Dietalact	Parmalat	<i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>	----

Fonte: OLIVEIRA, *et al.*, 2002, p. 15.

A inadequação do rótulo dos produtos contendo probióticos é um fator de preocupação para o mercado de laticínios. Grande parte dos fabricantes no Brasil, e em outros países, destaca no rótulo a presença de lactobacilos e/ou bifidobactérias em seus produtos, sem, no entanto, discriminar quais espécies estão presentes e sua quantidade (BOTELHO, 2005). Muitos produtos apresentam apenas a informação “contêm fermentos lácteos” ou “contêm lactobacilos vivos” (ANTUNES *et al.*, 2007).

De acordo com as recomendações da FAO/WHO (FAO, 2002), o micro-organismo potencialmente probiótico deve ser avaliado e apresentar algumas características fisiológicas e tecnológicas fundamentais. Segundo Kempka *et al.* (2008) destacam-se as seguintes características:

- Os micro-organismos escolhidos como constituintes dos probióticos devem ser habitantes normais do Trato Gastrointestinal (TGI) de animais saudáveis, e devem ser espécies – específicas;
- os micro-organismos devem ser capazes de produzir culturas viáveis em concentrações efetivas, estimando-se em superiores a 10^8 a 10^{11} Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de produto;
- os probióticos devem possuir bactérias capazes de serem ativadas e multiplicadas rapidamente, após a ingestão do produto, com o intuito de inibir patógenos;
- os micro-organismos devem ser tolerantes às enzimas salivares, ácidos estomacais, sais biliares no intestino delgado e ácido orgânico volátil no intestino grosso;
- o microrganismo que irá compor um probiótico não pode ser patogênico e nem produzir efeitos adversos para o hospedeiro;
- o probiótico deve ser estável e precisa manter sua viabilidade por longos períodos quando estocados;
- o microrganismo deverá resistir a antibióticos e a altas temperaturas de processamento.

De acordo com Lee *et al.*¹, (1999, citado por SAAD, 2006), alguns critérios devem ser observados para o desenvolvimento de novos probióticos. Esses critérios estão elencados no Quadro 03.

¹SAAD, S. M. I. **Probióticos e Prebióticos: O estado da arte.**

Quadro 03: Critérios para o desenvolvimento de novos probióticos

Critério da linhagem	Origem: componentes da microbiota intestinal humana sadia; Biossegurança: segurança para o uso em humanos.
Propriedades biológicas	Resistência a: baixo pH; suco gástrico; bile e suco pancreático.
Propriedades Fisiológicas	Aderência ao epitélio intestinal e ao muco e/ou antagonismo frente a patógenos/ Atividade antimicrobiana e/ou estímulo da resposta imune (GALT)e/ou estímulo seletivo das bactérias benéficas e supressão das bactérias prejudiciais e/ou efeitos sistêmicos benéficos sobre o sistema da barreira intestinal.

Fonte: Lee *et al.*, 1999. Adaptado de Oliveira *et al.*, 2002.

O número mínimo de bactérias probióticas viáveis no produto alimentar no momento do consumo e o armazenamento dos produtos alimentares a temperaturas de refrigeração são considerados dois requisitos importantes para a eficácia dos produtos alimentares probióticos segundo Balcão e colaboradores¹ (2001, citado por SANTOS, BARBOSA e BARBOSA, 2011).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005), estabelece que para um produto probiótico apresente a alegação de que promove a saúde, a quantidade mínima viável da cultura deve estar entre 10^8 a 10^9 UFC/g por dia, ou seja, por porção de produto, o que corresponde ao consumo de 100g de produto contendo 10^6 a 10^7 UFC/g. Assim a sobrevivência destes micro-organismos em longo prazo é essencial para que consigam habitar o intestino humano (ANTUNES *et al.*, 2007).

Tendo em vista a popularidade dos alimentos probióticos e o aumento substancial de sua divulgação, a comunidade científica e as indústrias de alimentos e de fármacos estão dedicando especial atenção à identificação de linhagens, cujas características sejam potencialmente probióticas (GUEIMONDE e SALMINEM, 2006).

¹SANTOS, R. B., BARBOSA, L. P. J. L., BARBOSA, F. H. F. **Probióticos: microrganismos funcionais**. 2011.

Os probióticos devem apresentar propriedades benéficas à saúde humana e animal. A atividade antimicrobiana, a redução do risco de doenças gastrointestinais, a melhora no metabolismo da lactose, as propriedades antimutagênicas e anticancerígenas, o efeito hipocolesterolêmico, as propriedades antidiarréicas, a estimulação do sistema imunomodulador e a melhora nas doenças inflamatórias intestinais estão entre os benefícios atribuídos aos probióticos (RANADHEERA, *et al.*, 2010).

Enquanto alguns dos benefícios à saúde estão bem estabelecidos, outros apresentam resultados promissores em estudos *in vitro* ou em modelos animais, necessitando, portanto de investigações mais aprofundadas. As linhagens probióticas cujos modos de ação já estão comprovados e bem fundamentados abrem perspectivas ao seu uso comercial em alimentos e fármacos. Essas linhagens são rapidamente difundidas e adicionadas a iogurtes, leites fermentados, queijos, sorvetes, sucos, cereais, associados ou não a compostos prebióticos para uso humano ou como complemento de ração animal (RIVERA e GALLARDO, 2010).

Gibson e Roberfroid (1995) definiram os prebióticos como oligossacarídeos não digeríveis, que não devem ser metabolizados ou absorvidos durante sua passagem pelo trato digestivo superior e que afetam benéficamente o hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e /ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias do cólon (bactérias probióticas por exemplo), e, portanto, podem promover efeitos benéficos aos seres humanos (MACHADO *et al.*, 2014) .

4.4.2 Diretrizes para caracterização e aplicação

Visando uniformizar a caracterização de linhagens, a FAO e a OMS estabeleceram comitês, cujas discussões geraram diretrizes que visam regulamentar os micro-organismos que podem vir a ser, em potencial, probióticos (FAO, 2002). Os órgãos reguladores de grupos de países (em conjunto ou individualmente), como o Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) na América Latina e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária- Anvisa (BRASIL, 2008), também buscam regulamentar o uso desses organismos e/ou de produtos que os contenham visando garantir a segurança do consumidor, bem como a comprovação clínica dos efeitos esperados.

O produto probiótico confiável exige a correta identificação da espécie bacteriana utilizada. Os métodos empregados para essa finalidade são baseados em técnicas fenotípicas convencionais, sendo aconselhado o uso de abordagens

moleculares, o que permite a classificação taxonômica precisa. A validação do método torna-se importante, pois as investigações sugerem que muitos dos efeitos atribuídos ao probiótico são específicos de cada linhagem, de modo que estudos comuns à espécie ou linhagem não podem ser extrapolados para outras, mesmo aquelas estreitamente relacionadas (FAO, 2002; GUEIMONDE e SALMINEM, 2006).

Os micro-organismos probióticos devem ser resistentes ao estresse ambiental e ao ambiente gastrointestinal, além de apresentar habilidade de crescimento *in vitro* com baixa ou nenhuma taxa de ocorrência de mutações. A fim de avaliar o estresse ao ambiente gastrointestinal, CONWAY *et al.*¹ (1987, citado por COSTA, 2013) realizou um estudo avaliando a resistência de linhagens potencialmente probióticas aos sucos gástrico, pancreático e à bile humana, como os conduzidos *in vitro*, geralmente utilizando suco gástrico artificial, bile suína ou bovina e extrato de pâncreas de vários animais. A tolerância às condições de estresse fisiológico pode assegurar a funcionalidade após a ingestão (DEL PIANO *et al.*, 2006).

Como a viabilidade e estabilidade de micro-organismos probióticos são parâmetros fundamentais relacionados à funcionalidade do produto, vários fatores devem ser observados para a avaliação de segurança de um probiótico criando condições para que o micro-organismo alcance o local alvo no hospedeiro.

Dentre esses fatores, são mencionados por BARBOSA, *et al.* (2011), a ausência de produção de substâncias tóxicas ou de agregação plaquetária; não devem carregar mais genes de resistência que aqueles com um propósito específico e não devem ser patogênicos para o seu hospedeiro ocasional. De acordo com FAO/WHO, os micro-organismos utilizados como probióticos precisam ter seus efeitos sobre a saúde investigados, a fim de se constatar sua segurança (BARBOSA *et al.*, 2011).

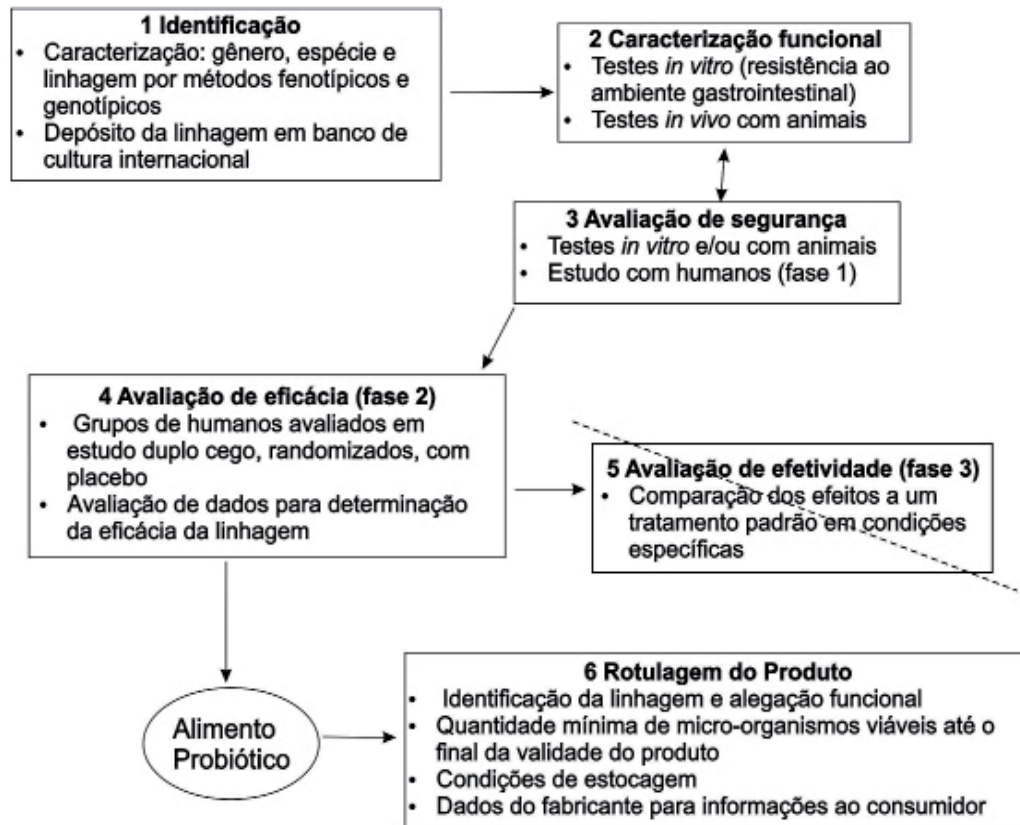
¹COSTA, G.N. e MIGLIORANZA, L.H.S. **Micro-organismos probióticos: caracterização de linhagens e seus efeitos no hospedeiro.** 2013.

Para avaliar a segurança dos probióticos são, em geral, aplicados testes em três fases que compreendem a inocuidade do micro-organismo, sobretudo no que concerne a infecções sistêmicas, atividades metabólicas deletérias e excessiva estimulação do sistema imune em indivíduos suscetíveis. Em seguida, avalia-se a sua eficácia com base nos efeitos observados em grupos de indivíduos comparados ao grupo controle, preferencialmente em grupos duplo cego randomizado com placebo que visam à comprovação biológica e estatística dos efeitos inerentes ao micro-organismo utilizado. Verifica-se, então, sua eficiência mediante comparação dos efeitos dos probióticos com relação a tratamento padrão sob condição específica (COSTA e MIGLIORANZA, 2013). Essa fase geralmente não é aplicada a alimentos probióticos como é demonstrado na Figura 03.

O consumo de probióticos em alimentos não pode ter efeito adverso, devendo ser relatada e monitorada a ocorrência de qualquer efeito colateral na fase de avaliação de segurança (FAO, 2002). A inclusão de micronutrientes e o uso de parâmetros como a atividade de água, temperatura, pH, pressão osmótica, concentração de oxigênio e estresse mecânico, influenciam na estabilidade do probiótico (DEL PIANO *et al.*, 2006). Além disso, deve ser avaliado o uso de embalagens que atendam a essas características no acondicionamento do produto final.

O registro de alimentos funcionais, incluindo os probióticos, é um problema difícil de ser resolvido, particularmente no que diz respeito ao rótulo. A discussão vem sendo feita no sentido de se estabelecer se o controle feito por meio da legislação existente é suficiente para a regulamentação dos alimentos funcionais ou se devem ser introduzidos registros específicos (OLIVEIRA *et al.*, 2002)

Figura 03 - Diretrizes para caracterização de micro-organismos probióticos para uso em alimentos



Fonte: Adaptado de FAO (2002).

Obs.: O item 5 geralmente não se aplica a alimentos e sim a fármacos probióticos

A legislação brasileira para alimentos funcionais ainda é incipiente. Segundo a Anvisa (BRASIL, 2005) as bactérias aprovadas para uso em produtos probióticos são *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* Shirota, *L. rhamnosus*, *L. defensius*, *L. bulgaricus*, *L. paracasei*, *Bifidobacterium animalis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *Enterococcus faecium* e *Streptococcus thermophilus*. Alimentos com alegações de propriedade funcional ou de saúde devem ter registro prévio à comercialização que deve indicar a espécie do micro-organismo probiótico (SANTOS *et al.* 2011). Ainda segundo o mesmo órgão (BRASIL, 2005), a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar entre 10^8 e 10^9 UFC na porção diária. A legislação permite, ainda, valor abaixo deste mediante comprovação da eficácia do micro-organismo no produto e na concentração. Deve também ser apresentado um laudo de análise que confirme a quantidade mínima viável do micro-organismo até o final do prazo de

validade. Os produtos apresentados na forma de cápsulas, tabletes ou comprimidos serão registradas como medicamentos de acordo com Brasil¹ (1999, citado por SANTOS, BARBOSA e BARBOSA 2011).

A Resolução da Diretoria Colegiada- RDC n° 2/2002 (Anvisa, 2002) traz as diretrizes a serem adotadas para a avaliação de segurança, registro e comercialização de substâncias bioativas e probióticos isolados com a alegação de propriedades funcional e, ou, de saúde, apresentadas como formas farmacêuticas (cápsulas, comprimidos, tabletes, pós, granulados, pastilhas, suspensões e soluções). Os produtos são classificados em: carotenóides, fitoesteróis, flavonóides, fosfolípidos, organossulfurados, polifenóis e probióticos. Uma vez aprovadas, as alegações propostas pelo fabricante são de uso obrigatório. O registro na Anvisa é exigido tanto para as substâncias bioativas e probióticos isolados como para alimentos com alegação de propriedade funcional e, ou, de saúde e para os alimentos novos e novos ingredientes, produzidos no Brasil ou importados (Anvisa, 2005; STRINGHETA, 2007)

4.5.3 Mecanismos de ação dos probióticos

Várias propriedades benéficas têm sido atribuídas aos micro-organismos probióticos. Para caracterizá-los e regularizar seu uso em alimentos e fármacos é preciso comprovar esses benefícios. Isso é feito por meio de estudos *in vitro* e *in vivo* e constitui premissa dos órgãos reguladores. A uniformização dessas avaliações também foi documentada por comitê científico conduzido pela FAO/WHO (2001) e trata apenas das alegações nutricionais e funcionais atribuídas aos probióticos.

Como um dos mecanismos, tem a capacidade de adesão e inibição de patógenos. Muitas bactérias probióticas têm a habilidade de aderir às superfícies da mucosa intestinal para inibir enteropatógenos. Muitas linhagens podem aderir à camada mais externa do muco do epitélio intestinal ou às partículas de alimentos formando biofilme na sua superfície e impedindo a adesão de patógenos por exclusão competitiva (WANG *et al.*, 2009).

¹SANTOS, R. B., BARBOSA, L. P. J. L., BARBOSA, F. H. F. **Probióticos: microrganismos funcionais**. 2011.

Também podem criar nichos de competição por nutrientes. Além disso, alguns autores associam a inibição da aderência de enteropatógenos à indução da expressão de genes de mucina intestinal. Segundo Mack¹ (1999, citado por COSTA, 2013) essa glicoproteína protegeria o Trato Gastrointestinal - TGI da ação de micro-organismos patogênicos, ou ainda segundo o apresentado por Guarner e Malagelada¹ (2003, citado por COSTA, 2013) a inibição de micro-organismos exógenos pela produção de substâncias antimicrobianas como ácidos orgânicos e bacteriocinas.

Outro mecanismo de ação dos probióticos é a ação em desordens intestinais. Os intolerantes à lactose possuem deficiência primária e secundária da enzima β -galactosidase (lactase) apresentando dor e distensão abdominal, flatulência e diarreia, geralmente associadas ao aumento da carga osmótica no intestino delgado e secreção de líquido nas fezes. Porém, apresentam uma melhora do quadro clínico com o uso de probióticos, isso porque ocorre melhor absorção da lactose devido à presença da lactase bacteriana que auxilia na clivagem da molécula antes que ela atinja o cólon, levando a posterior absorção sob a forma de monossacarídeos (MATTAR E MAZO, 2010).

A doença de Crohn, bem como as colites ou síndrome do intestino irritável resultam de disfunções intestinais com irritações da mucosa que, frequentemente ocasionam diarreias e vômitos. O tratamento dessas doenças, associado ao uso de probióticos, minimiza os efeitos e diminui o período de diarreias. O efeito, em geral, é atribuído à melhora no sistema imunomodulador do hospedeiro (WALKER *et al.*, 2006).

Também se percebe bons resultados do uso de probióticos em relação à resposta às toxinas de *Clostridium difficile* (KUMAR *et al.*, 2010), além de efeito sobre o sistema imunomodulador. Foi observado que em animais mantidos em ambientes isentos de contaminação e, posteriormente, colonizados com probióticos o número de linfócitos intra-epiteliais aumenta muito, surgem centros germinativos com células produtoras de imunoglobulinas nos folículos e na lâmina própria e as concentrações de imunoglobulinas aumentam substancialmente no plasma (GUARNER e MALAGELADA, 2003).

¹COSTA, G.N. e MIGLIORANZA, L.H.S. **Micro-organismos probióticos: caracterização de linhagens e seus efeitos no hospedeiro.** 2013.

Segundo Walker *et al.*(2006), esses efeitos imunológicos estão relacionados à capacidade de interação dos probióticos com folículos linfoides intestinais (placas de Peyer), à estimulação da resposta imune das mucosas por ação das células B, produtoras de IgA, e também à migração de linfócitos ou células T do intestino, um dos principais responsáveis pela imunidade celular.

Devido à secreção de mediadores que estimulam o sistema imune, os probióticos também favorecem a atividade fagocítica inespecífica dos macrófagos alveolares por ação sistêmica (CROSS, 2002). Além disso, a maturação de células dendríticas e a liberação de citocinas desencadeiam a conversão de células T *helper*, componente importante na prevenção de doenças (WALKER, 2008).

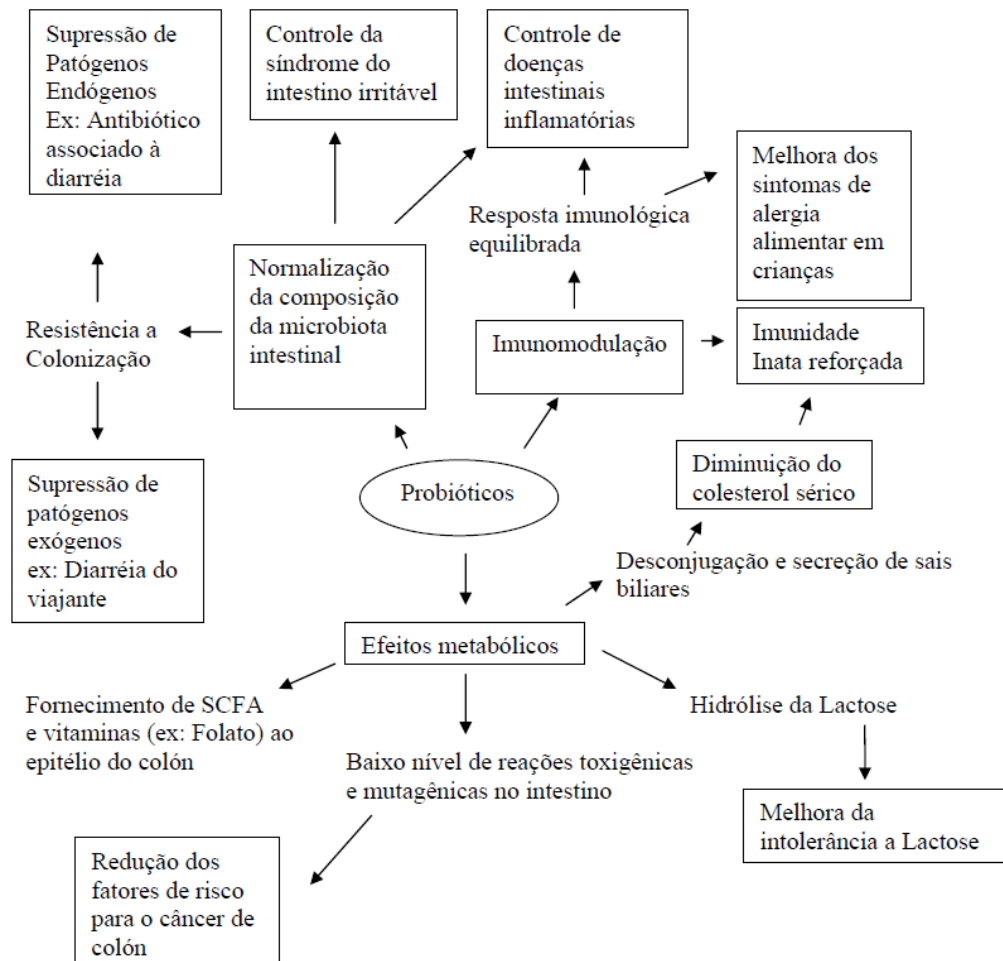
Os probióticos também previnem desordens celulares. Apesar de seu papel na prevenção de câncer de cólon ainda não estar bem esclarecido, o seu uso foi relacionado à redução da atividade de enzimas fecais, conhecidas pela produção de compostos genotóxicos que atuam como iniciadores de tumores em seres humanos (PICARD *et al.*, 2005). Há evidências de que a microbiota intestinal normal pode influenciar a carcinogênese pela produção de enzimas que transformam pró-carcinogênicos em compostos ativos, geralmente mais tóxicos que o composto de origem (PICARD *et al.*, 2005).

Também merece destaque a ação dos probióticos sobre as doenças cardiovasculares. A hipertensão e a hipercolesterolemia são algumas das desordens metabólicas sobre as quais os probióticos exercem efeito benéfico (LYE *et al.*, 2009). A microbiota intestinal promove efeitos no metabolismo lipídico, uma vez que a síntese de colesterol ocorre, principalmente, no intestino. Há diminuição dos níveis do colesterol sanguíneo e aumento da resistência da lipoproteína de baixa densidade (LDL) à oxidação, levando à redução da pressão arterial (GOEL *et al.*, 2006).

Os avanços no estudo da microbiota intestinal também identificam esse ambiente como um dos fatores que modulam o metabolismo lipídico, razão da associação do equilíbrio microbiano intestinal à possibilidade de redução da obesidade (RASTMANESH, 2011).

Todos os mecanismos de ação citados trazem benefícios ao consumidor. Além desses benefícios apresentados em texto a Figura 04 apresenta outras vantagens do consumo humano de probióticos.

Figura 04 - Benefícios do consumo de probióticos à saúde humana



Fonte: Santos, 2010, p.26.

4.5.4 Efeitos colaterais/contra indicações

É necessário que profissionais da saúde tenham prudência ao aconselhar a incorporação gradual de probióticos na dieta até atingir os níveis recomendados em um período de duas a três semanas.

Alguns indivíduos podem vivenciar efeitos colaterais devido à ingestão dos probióticos. Isto porque com a morte dos patógenos no ambiente intestinal, há uma grande liberação dos produtos celulares tóxicos. Esse aumento da liberação de toxina, potencializando seu efeito é chamada de reação “*die-off reaction*”. Mesmo que isso aconteça, deve-se persistir no uso dos probióticos para que haja melhora dos sintomas. Percebe-se um aumento discreto na produção de gases, desconforto abdominal e até mesmo diarreia, que se resolve com o tempo (RAIZEL *et al.*, 2011). Pacientes internados em unidades de terapia intensiva e/ou com o estado

imunológico debilitado e alta permeabilidade intestinal podem apresentar reações adversas severas com o uso de probióticos, ocorrendo a translocação bacteriana e bacteremia. A translocação bacteriana é a passagem potencial de bactérias do lúmen intestinal ou de endotoxinas através da mucosa epitelial do trato gastrointestinal para o sangue ou sistema linfático, com início de uma resposta inflamatória sistêmica (MATHAI, 2002). Markowitz e Bengmark (2002) ressaltam a segurança de algumas linhagens, como *Lactobacillus plantarum*, mesmo em crianças imunossuprimidas.

Não foram observados efeitos adversos em estudos realizados com a administração de lactobacilos e bifidobactérias, na dose de 10^6 a 10^9 ufc/dia por aproximadamente um ano. Porém, antes de um novo produto ser comercializado é necessário determinar a segurança de uso das culturas probióticas, pois, por resistirem às condições gástricas e aderirem à mucosa intestinal, após a administração oral, estas linhagens podem causar translocação bacteriana, bacteremia e sepsis. Apesar disto, tais acontecimentos são raramente reportados em estudos clínicos (ISOLAURI, *et al.*; 2004 e SAAD, 2006).

Poucos casos de fungemia foram relatados quando da utilização de *S. Boulardii* em pacientes com graves infecções bacterianas concomitantes e todos foram resolvidos com terapia antifúngica apropriada (ISOLAURI, *et al.*, 2004).

4.6 O gênero *Bifidobacterium*

4.6.1 Histórico

As bifidobactérias foram isoladas pela primeira vez no final do século XIX, por Henry Tissier, de um lactente alimentado no peito. Desde a sua descoberta, as bifidobactérias foram classificadas como pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Bacteroides*, *Bacterium*, *Tissieria*, *Nocardia*, *Lactobacillus*, *Actinomyces* e *Corynebacterium* (TAMIME *et al.*, 1995).

Existem 48 diferentes espécies de *Bifidobacterium*. Entretanto, para produção de leites fermentados com fins terapêuticos e/ou comerciais, somente cinco espécies têm sido utilizadas - *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* e *B. longum* (BARBOSA, 2011).

Bactérias do gênero *Bifidobacterium* têm sido classificadas como organismos difíceis de serem pesquisados devido à necessidade da presença de fatores de

crescimento encontrados no leite humano e condições anaeróbias de crescimento. De acordo com Ishibashi & Shimamura e Hoover¹ (1993, citado por BARBOSA *et al.*, 2011).

Em crianças, a colonização do intestino por *Bifidobacterium* spp. inicia dois a três dias após o nascimento, passando a predominar a microbiota intestinal

Os lactentes alimentados exclusivamente com leite materno têm altas concentrações de bifidobactérias e lactobacilos, enquanto que os alimentados com formulações e leites que não o materno tem mais chances de desenvolverem infecções, uma vez que não tem uma fonte de proteção (CASTILHO, 2007).

O leite materno faz desenvolver um ambiente favorável para o crescimento das espécies de *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. longum infantis*, *B. breve*) típicas dos lactentes e raramente encontradas em adultos. Quando alimentados com leite artificial, os recém nascidos apresentam um ecossistema complexo distribuído em bactérias anaeróbias, anaeróbias facultativas, mas sem o predomínio de bifidobactérias (OBA, *et al.*, 2007).

4.6.2 Taxonomia e fisiologia

As bifidobactérias, gênero *Bifidobacterium*, foram primeiramente denominadas *Bacillus bifidus communis*. Tissier postulava que as bifidobactérias deslocariam as bactérias proteolíticas que provocam a diarreia e recomendou a administração de bifidobactéria a lactentes que padeciam deste sintoma (WGO, 2011).

Teshima² (2001, citado por MAZO *et al.*, 2009) relata que o gênero *Bifidobacterium* SP foi proposto originalmente por Orla-Jensen, em 1924, mas somente em 1986 foi aceito e reconhecido como gênero independente na oitava edição do *Manual Bergey's*.

¹BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Probióticos: microrganismos a favor da vida.** 2011.

²MAZO, J. Z., *et al.* **Bifidobactérias: Isolamento, identificação e aplicação em alimentos probióticos.** 2009.

Em geral caracterizam-se por serem micro-organismos Gram-positivos, inseridos na ordem dos Actinomicetos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, catalase negativos e anaeróbios (SANTOS, 2011). No que diz respeito à sua morfologia, podem ser observados bacilos curtos e curvados, com a forma bifurcada (BARBOSA, 2011).

Os requerimentos anaeróbios das bifidobactérias são relacionados à linhagem; as menos sensíveis parecem possuir alguma atividade de catalase que remove traços de H₂O₂.

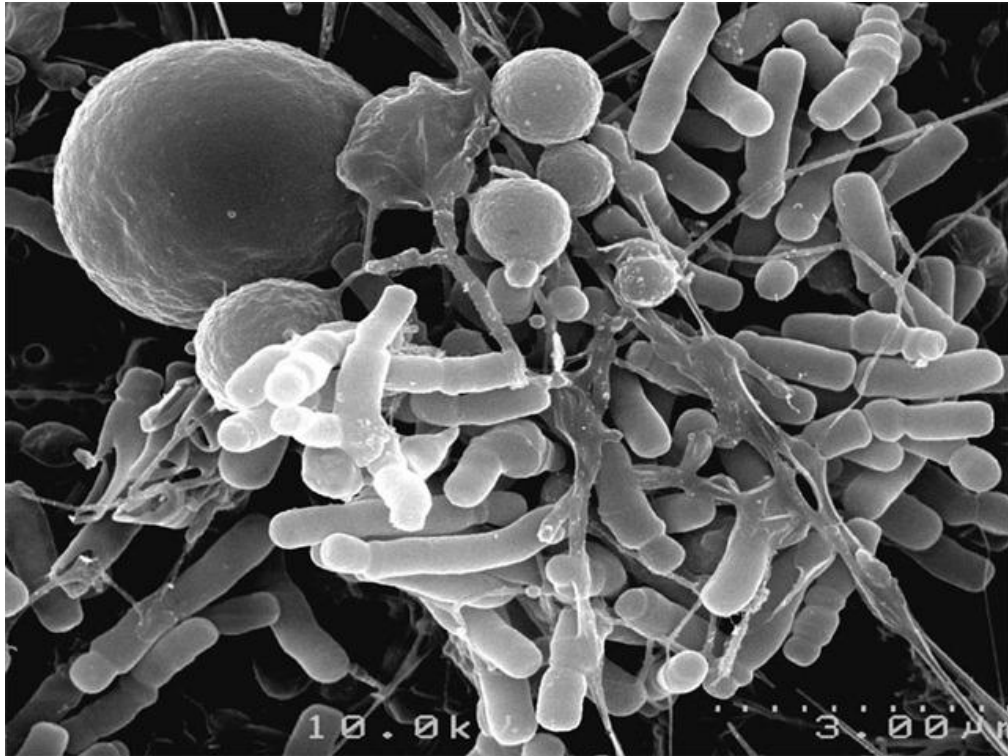
A temperatura ótima de crescimento está entre 37°C e 41°C, não havendo crescimento em temperaturas abaixo de 25-28°C e acima de 43°-45°C. Segundo Scardovi¹ (1986, citado por MAZO 2009).

O pH ótimo de crescimento compreende a faixa de 6,0 a 7,0, não ocorrendo crescimento abaixo de 4,5 a 5,0 ou acima de 8,0 a 8,5. Das 30 espécies conhecidas, 10 são de origem humana (isoladas de lesões de cáries dentárias, fezes e vagina), 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado; esta última tem a particularidade de apresentar uma boa tolerância ao oxigênio, ao contrário da maior parte das outras do mesmo gênero (NOGUEIRA e GONÇALVES, 2011). Caracterizam-se por um conteúdo elevado de guanina e citosina que varia, em termos molares, de 54 a 67%; possuem algumas diferenças notáveis ao nível das propriedades fisiológicas e bioquímicas, incluindo os constituintes da parede celular. Todas as espécies fermentam glicose, galactose, frutose e lactose, com exceção de *B. gallicum* que não utiliza lactose (TESHIMA, 2001).

Das espécies colonizadoras do intestino humano, *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* é uma das mais estudadas e uma de suas linhagens, denominada Bb12 é amplamente utilizada na nutrição humana (BRUNSER, 2013). *Bifidobacterium bifidum* é a bifidobactéria mais comumente utilizada para a suplementação do iogurte como probiótico e pode ser isolada do próprio trato intestinal do homem e dos animais (BISCAIA, *et al.*, 2004).

¹MAZO, J. Z., *et al.* **Bifidobactérias: Isolamento, identificação e aplicação em alimentos probióticos.** 2009.

Figura 05: *Bifidobacterium* spp.



Fonte: Sebastián Sariego, 2010.

4.6.3 Mecanismos de ação

De acordo com Fuller¹ (1989, citado por BARBOSA *et al.*, 2011), os critérios de seleção do uso das bifidobactérias como agente probiótico incluem atividade antimicrobiana, boa tolerância ao ácido e aos metabólitos tóxicos (fenol) e sais biliares. Melhor digestibilidade, aumento do valor nutritivo, níveis elevados das vitaminas do complexo B e de alguns aminoácidos, melhor utilização da lactose, níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase são alguns dos efeitos salutares das bactérias lácticas (BISCAIA *et al.*, 2004).

A ação antagonista contra agentes patogênicos entéricos, distúrbios tais como diarreia, colite mucosa, colite ulcerosa, diverticulite e colite antibiótica, deve-se possivelmente à ação controlada pela acidez, à inibição da adesão de outros microrganismos, e à ativação daqueles considerados patogênicos (BISCAIA *et al.*, 2004).

¹BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Probióticos: microrganismos a favor da vida.** 2011.

Experimentos com lactobacilos ou bifidobactérias evidenciaram a diminuição dos níveis de colesterol sérico total e de LDL, além do aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL) (LIONG e SHAH, 2004). Os mecanismos propostos para esses efeitos estão associados à assimilação do colesterol durante o crescimento bacteriano ou a ligação do colesterol à superfície da parede celular dessas bactérias (LIONG e SHAH, 2004).

São mecanismos efetivos para obtenção dos efeitos benéficos por meio da ingestão de bifidobactérias e outras bactérias lácticas: colonização intestinal, sobrevivência no suco gástrico, resistência a lisozima e à tensão superficial baixa do intestino, adesão ao epitélio intestinal, multiplicação no trato gastrointestinal, modulação imunitária, ação anticarcinogênica, conversão de potenciais pré-carcinogênicos em compostos menos perniciosos, ação inibitória perante alguns tipos de cancro, produção de inibidores da síntese de colesterol, utilização do colesterol por assimilação e precipitação com sais biliares desconjugados, modulação imunitária, melhor produção de macrófagos (BISCAIA *et al.*, 2004).

Segundo Brunser (2013), o efeito causado pela espécie *Bifidobacterium lactis* é comparável ao de *Saccharomyces boulardii* em crianças de cinco meses a cinco anos de idade afetados por episódios de diarreia líquida e desidratação leve. Os lactantes que receberam *B. lactis* tiveram episódios com evolução significativamente mais curta (4,1 +/- 1,3 dias) que naqueles que receberam *S. boulardii* (6,6 +/- 1,7 dias) ou que o grupo controle (7,0 +/- 1,6 dias).

4.6.4 Aplicação na indústria alimentícia

Segundo MORI *et al.* (1997, citado por MAZO, *et al.*, 2009), para serem utilizadas em alimentos, as linhagens de bifidobactérias devem ser selecionadas com base nos processos tecnológicos, visto que as bactérias probióticas devem exibir resistência às etapas da preparação do alimento. Características como crescimento rápido e acidificação do leite são importantes para a seleção de bifidobactéria, pois podem reduzir custos por requererem pequeno tempo de incubação durante a manufatura do produto lácteo fermentado.

As bifidobactérias de crescimento rápido mais comumente usadas pela indústria de lácteos são *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* e *B. longum*. Na Figura 06 estão elencados os critérios de seleção de *Bifidobacterium* spp para utilização como aditivos alimentares.

Conforme Gomes e Malcata¹ (1998, citado por MAZO, *et al.*, 2009), o aumento do valor nutritivo e terapêutico trazido pelas bifidobactérias gerou interesse no sentido de incorporação das mesmas em determinados alimentos, sendo os alimentos infantis, os leites fermentados, outros produtos lácteos e algumas preparações farmacêuticas os veículos mais usuais.

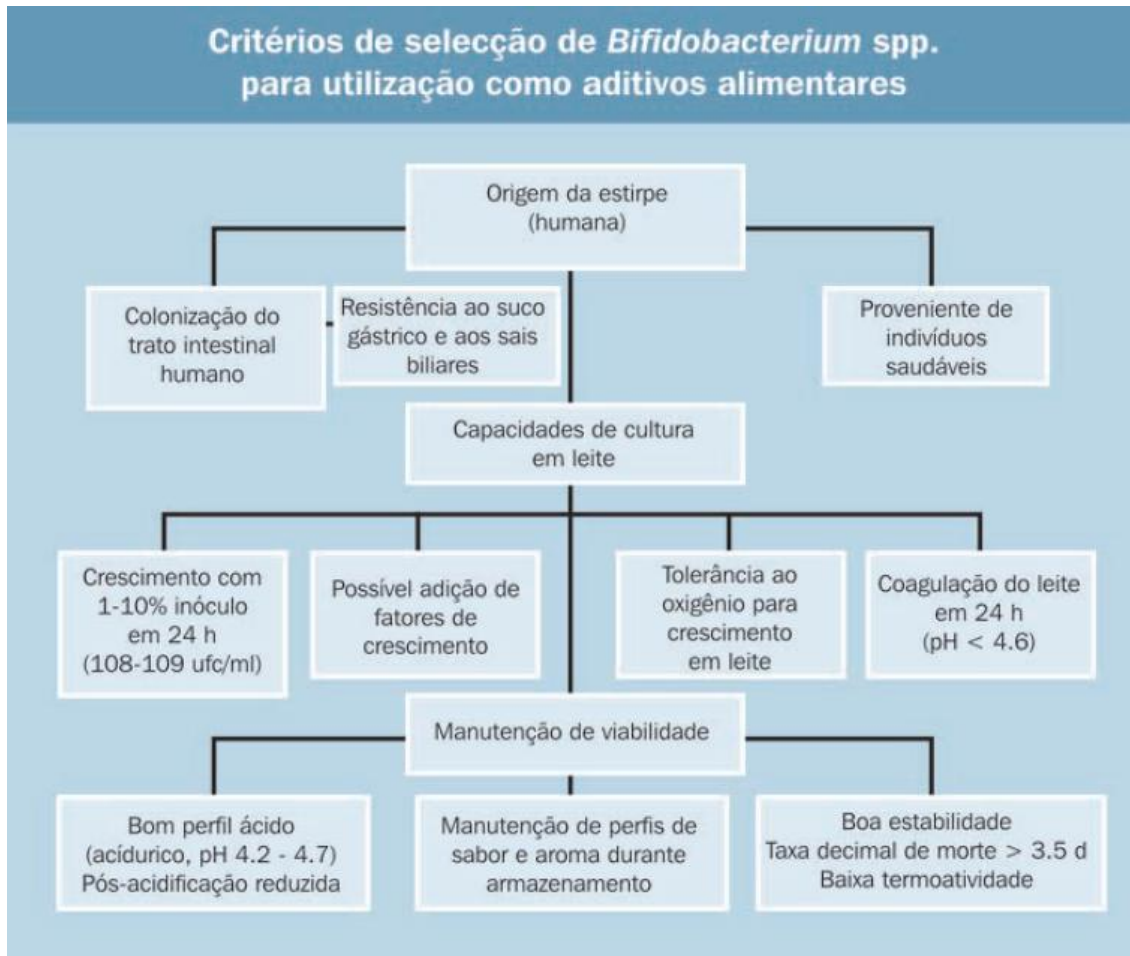
Segundo Kim¹ (1988, citado por MAZO *et al.*, 2009), vários produtos comerciais contendo bactérias lácticas e/ou bifidobactérias estão disponíveis e sua funcionalidade e viabilidade comercial são amplamente discutidos. Muitas bifidobactérias, adicionadas aos produtos lácteos, podem morrer após exposição ao ácido (durante ou após sua fermentação), ao oxigênio durante a distribuição e estocagem refrigerada, e/ou ao ácido estomacal humano após ingestão (MAUS e INGHAM, 2003). O sucesso dos alimentos contendo bifidobactérias dependerá de sua viabilidade no produto durante sua vida útil, bem como da sua resistência às condições do sistema no trato gastrointestinal superior (SUN e GRIFFITHS, 2000).

Combinações de diferentes espécies bacterianas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Bifidobacterium* são utilizadas tradicionalmente em produtos lácteos fermentados, sendo selecionadas com base em critérios médicos, científicos e tecnológicos. Essas culturas devem tolerar o processo de fabricação ao qual serão submetidas e manter a viabilidade durante a estocagem, o que dependerá de fatores como pH, presença de aditivos e ocorrência de inibidores microbianos.

Em alguns casos, a combinação de culturas probióticas com culturas de iogurte podem resultar na diminuição da contagem de cultura probiótica durante a vida de prateleira do produto, enquanto que em outros essa diminuição não ocorre. Esse fato demonstra que a seleção de uma cultura de suporte apropriada para cada probiótico é fundamental para a obtenção de produtos frescos fermentados com boa sobrevivência das culturas durante sua vida de prateleira (SAARELA *et al.*, 2000, OLIVEIRA *et al.*, 2002). As interações com os componentes alimentares podem ser mínimas quando a adição do probiótico ocorrer após a fermentação, pois a atividade metabólica é reduzida drasticamente em temperatura de refrigeração.

Heller¹ (2001, citado por MAZO *et al.*, 2009), se o tempo de estocagem for longo, podem ocorrer pequenas interações mensuráveis (HELLER, 2001).

Figura 06: Critérios de seleção de *Bifidobacterium* spp para utilização como aditivos alimentares



Fonte: Food Ingredients: Probióticos e prebióticos, pág. 24, s/d.

Ao longo dos anos, vários produtos alimentícios contendo bifidobactérias foram desenvolvidos e testados, como pode ser observado na Tabela 07. Já na Tabela 08 podem ser observados os principais produtos comercializados contendo bifidobactérias. Os valores comerciais, conforme pesquisa virtual em sites de venda de produtos naturais e suplementos, estão dispostos na Tabela 09.

¹MAZO, J. Z., *et al.* **Bifidobactérias: Isolamento, identificação e aplicação em alimentos probióticos.** 2009.

Tabela 07: Alimentos desenvolvidos com bifidobactérias probióticas ao longo dos anos

Produto	Micro-organismo	Autor do estudo
Queijo tipo Cheddar	<i>B. bifidum</i>	Dinakar e Mistry, 1994
Queijo Cottage	<i>B. infantis</i>	Blanchette e Roy, 1995
Queijo de leite de cabra	<i>L. acidophilus</i>	Gomes e Malcata, 1998
	<i>B. lactis</i>	
Queijo Crescenza	<i>B. bifidum</i>	Gobetti, <i>et al.</i> , 1998
	<i>B. infantis</i>	
	<i>B. longum</i>	
Maionese	<i>B. infantis</i>	Khalil e Mansour, 1998
Queijo tipo Cheddar	<i>B. infantis</i>	Daigle, <i>et al.</i> , 1999
Queijo frescal argentino	<i>B. bifidum</i>	Vinderola, <i>et al.</i> , 2002
	<i>B. longum</i>	
	<i>L. acidophilus</i>	
	<i>L. casei</i>	
Leite em pó a partir de leite de vaca (leite bifidus)	<i>B. bifidum</i>	Selvamuthukuraman e Shukla, 2006
Queijo tipo <i>petit-suisse</i>	<i>L. acidophilus</i>	Cardarellia, <i>et al.</i> , 2007
	<i>B. lactis</i>	
Sorvete	<i>L. acidophilus</i>	Magariños, <i>et al.</i> , 2007
	<i>B. animalis</i>	
Bebida à base de soja e iogurte de leite de vaca	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Farnworth, <i>et al.</i> , 2007
	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	
	<i>L. johnsonii</i>	
	<i>L. rhamnosus</i>	
	<i>Bifidobacterium</i> ssp.	
Sobremesa láctea com adição de molho <i>cranberry</i>	<i>L. casei</i> shirota	Magariños, <i>et al.</i> , 2008
	<i>B. animalis</i> subsp. <i>Lactis</i>	

Fonte: Mazo, *et al.*, 2009 (adaptado de texto).

Tabela 08: Principais probióticos comercializados contendo bifidobactérias

Produto	Bifidobactérias
Life flora	<i>B. Lactis, B. longum</i>
Multidophilus	<i>B. bifidum</i>
Vital imune	<i>B. longum</i>
Vital plex	<i>B.bifidum, B. lactis</i>
Lactofos	<i>B.bifidum</i>
Symbiofort	<i>B. bifidum</i>
Lacto b	<i>B. lactis</i>
Lactopro	<i>B. lactis</i>

Fonte: Adaptado de Santos, 2010, pág. 23.

Tabela 09: Preço dos principais produtos contendo bifidobactérias

Produto	Valor	Site de busca
Life flora	R\$ 26,97	eVitamins
Multidophilus	R\$ 30,11	eVitamins
Vital immune	R\$ 109,90	Natural Quality
Vital plex	R\$ 103,66	Nutriservice
Lactofos	R\$ 33,25	Nutriservice
Symbiofort	R\$ 98,90	Ergovita
Lacto b	R\$ 72,39	Nutriservice
Lactopro	R\$ 31,35	Nutriservice

Acesso aos sites em 10/09/2014.

4.6.5 Aplicações clínicas

Barbosa *et al.* (2011) relatam que a administração de substâncias antimicrobianas pode causar supressão de certos grupos de bactérias benéficas, incluindo as bifidobactérias, que promovem resistência natural do hospedeiro contra infecções. A susceptibilidade das bifidobactérias aos antibióticos deve ser conhecida não somente na pesquisa de agentes seletivos para enumeração de células viáveis em produtos contendo bifidobactérias, mas também na compreensão da alteração da microbiota intestinal normal quando os antibióticos são ministrados (LIM, *et al.*,

1993). No uso terapêutico, uma espécie de *B. longum* antibiótico-resistente pode ser usada com sucesso no tratamento de enterocolite úlcero-necrótica em crianças, de acordo com o relatado por korschunov *et al.*¹ (1996 citado por BARBOSA *et al.*, 2011).

Bebês prematuros, em contato com alguns micro-organismos patogênicos, podem desencadear uma resposta inflamatória, levando à necrose dos tecidos devido à imaturidade da mucosa do intestino (WALKER, 2008). Deshpande *et al.* (2007), realizaram estudo clínico, envolvendo recém-nascidos prematuros e demonstraram que a introdução dos probióticos *Lactobacillus lactis* e *Bifidobacterium infantis* pode prevenir a expressão dessa inflamação. Misra & kuila¹ (1992, citado por BARBOSA *et al.*, 2011) relataram que crianças prematuras ou recém-nascidas alimentadas com um leite fermentado contendo bifidobactérias, apresentam um aumento na população de *Bifidobacterium* no intestino e uma marcante diminuição de produtos tóxicos nas fezes. Segundo Hoover¹ (1993, citado por BARBOSA *et al.*, 2011).

O uso de produtos de leite contendo grande número de *Bifidobacterium* tem obtido sucesso no tratamento de diarreia em crianças no Japão. O consumo de “Leite Bifidus” contendo grande número deste micro-organismo (10^7 ufc/g) fornece ácido láctico L (+) um fator antibiótico e os próprios *Bifidobacterium* vivos em adição a outros componentes nutricionais. A ação combinada destes fatores cria condições favoráveis para a proliferação de *Bifidobacterium* no intestino, inibindo o crescimento de micro-organismos indesejáveis (BARBOSA, *et al.*, 2011).

4.7 A levedura *Saccharomyces boulardii*

4.7.1 Histórico

A levedura *Saccharomyces boulardii* é um dos poucos micro-organismos utilizados como probióticos que não são de origem humana (MARTINS *et al.*, 2005a). Foi descoberta em meados de 1920, na Indochina, por um microbiologista francês, Henri Boulard, que estava à procura de uma linhagem capaz de suportar altas temperaturas, a fim de produzir um bom vinho. Nesta época houve uma epidemia de cólera em uma das vilas que Henri Boulard visitava.

¹BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Probióticos: microrganismos a favor da vida.** 2011.

O pesquisador foi informado que a população local preparava um chá da casca de uma fruta local (lichia) para aliviar e até mesmo curar a diarreia. Posteriormente, verificou-se que a fruta, na verdade, estava recoberta por uma levedura, e a eficácia contra a diarreia se devia a ela (FLORASTOR, 2003).

É uma levedura não patogênica, resistente à ação de drogas antibacterianas e, atualmente, seu uso está muito difundido na medicina, principalmente, na Europa (MARTINS *et al.*, 2005a). Sua administração deve ser realizada de maneira repetida e regular, pois ela não coloniza o trato gastrointestinal (MARTINS *et al.*, 2005a), embora seja capaz de atingir rapidamente altas concentrações no cólon. Dois a cinco dias após a descontinuação do seu uso ela não é mais recuperada nas fezes (MARTINS *et al.*, 2005a).

Sua comercialização iniciou a partir de 1960 na forma liofilizada, pelo “Laboratoires Biocodex” (Paris, França).

Martins, 2005b, em seu trabalho, cita que o uso da levedura como medicamento de combate à diarreia foi difundido em toda Europa e está disponível no mercado sob diversos nomes comerciais (Floratil[®] - Brasil). Atualmente é amplamente comercializada na Europa, Américas do Sul e do Norte, Ásia e África (MCFARLAND & BERNASCONI, 1993) e recentemente seu uso foi liberado pela FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos (FLORASTOR, 2007). Os direitos de comercialização para a América do Sul foram adquiridos pelas Indústrias Químicas da MERCK S.A.

S. boulardii raramente é incorporada a iogurtes ou usada na fermentação de materiais vegetais crus (KUHLE *et al.*, 2005). Sua eficácia no controle da diarreia é comprovada por diversos estudos, os quais também demonstram que o tratamento com esta levedura é seguro e bem tolerado sob condições normais de uso (BUTS, 2005).

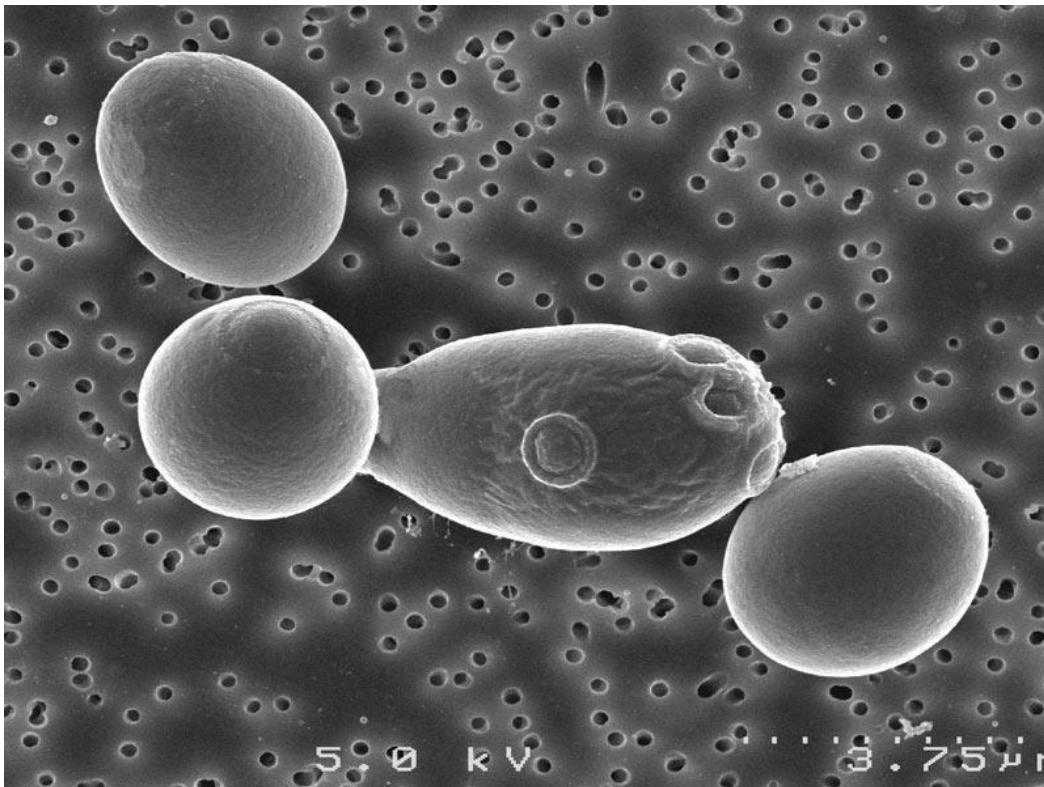
4.7.2 Taxonomia e fisiologia

As leveduras são eucariotos, unicelulares, que se reproduzem geralmente por brotamento, porém podem reproduzir-se também de forma sexuada. As funções vegetativas e reprodutivas são desempenhadas pela célula leveduriforme (HENRY, 2008). Esses micro-organismos não possuem estruturas para motilidade como flagelos ou cílios e, portanto, são imóveis. Além de condições ambientais favoráveis, como oxigênio, temperatura na faixa de 20° a 30°C e pH entre 4,5 e 5,5; necessitam

de fontes de carbono, nitrogênio, água e sais minerais para o seu crescimento (HENRY, 2008).

A levedura *S. boulardii* (Figura 07) foi, inicialmente, identificada como uma espécie distinta do gênero Hemiascomiceto *Saccharomyces*, de acordo com McFarland¹ (1996, citado por PEDROSO, 2011). No entanto, avanços nos métodos de tipagem abriram debate sobre se esse microrganismo deveria ser reclassificado como uma linhagem de *S. cerevisiae* ou se permaneceria como uma espécie à parte (MCFARLAND, 2010).

Figura 07: A levedura *Saccharomyces boulardii*



Fonte: The Kaiser Center for Probiotic Research

A taxonomia do gênero *Saccharomyces* é baseada em métodos fenotípicos e genotípicos. Como métodos convencionais não podem ser utilizados para separar linhagens de *S. cerevisiae*, vários pesquisadores afirmam que a *S. boulardii* é uma linhagem de *S. cerevisiae* (MARTINS *et al.*, 2009).

Trabalhos utilizando métodos, como reação em cadeia de polimerase ou sequenciamento de rRNA, demonstraram que *S. boulardii* é indistinguível de outras linhagens de *S. cerevisiae* (MCCULLOUGH *et al.*, 1998; MITTERDORFER *et al.*, 2002). No entanto, novos métodos como análise de polimorfismo em microsátélites e

hibridização de retrotransposon indicam que *S. boulardii* pode ser diferenciada de outras linhagens de *S. cerevisiae*, por diferenças no metabolismo e fisiologia e pelos efeitos antipatogênicos (MCFARLAND, 2010). Além disso, segundo Pecquet¹ (1991, citado por PEDROSO, 2011), *S. boulardii* permanece por mais tempo em modelos de camundongos gnotobióticos (10 dias) comparado com uma rápida remoção de outras linhagens de *S. cerevisiae* (< 1 dia).

Devido ao valor terapêutico, à deficiência em utilizar galactose e produzir ascósporos de *S. boulardii*, Mcfarland (1993) sugeriu que esta levedura deveria ser considerada como uma espécie à parte. No entanto, a utilização de galactose não pode ser considerada como critério para classificar *S. boulardii* como uma espécie diferente de *S. cerevisiae* uma vez que esta capacidade é muito variável dentro da espécie (BARNETT *et al.*, 2000), assim como a produção de ascósporos (NAUMOVA *et al.*, 2003).

Apesar da *S. boulardii* e *S. cerevisiae* apresentarem semelhanças genéticas, Fietto *et al.* (2004); Graff *et al.* (2008) e Sant'Ana *et al.* (2009) observaram que são metabolicamente e fisiologicamente diferentes, particularmente no que se refere ao crescimento e à resistência à temperatura de 37°C e estresse ácido, que são importantes características de um microrganismo usado como probiótico.

Alguns autores sugerem que a superexpressão de genes relacionados à síntese de proteínas e respostas a estresses poderiam contribuir para o aumento da taxa de crescimento e melhor sobrevivência de *S. boulardii* ao pH ácido (EDWARDS-INGRAM *et al.* 2007).

4.7.3 Mecanismos de ação

Vários mecanismos de ação da levedura em infecções experimentais foram extensivamente estudados. Conforme revisado por Czerucka & Rampal (2002) e Czerucka *et al.* 2007, ensaios em animais e seres humanos, assim como estudos *in vitro*, mostraram que a *S. boulardii* pode ter um papel protetor e atividades específicas contra vários patógenos entéricos.

No interior do lúmen intestinal, *S. boulardii* pode interferir com toxinas patogênicas, preservar a fisiologia celular, interferir na adesão de patógenos, interagir com a microbiota normal ou auxiliar no restabelecimento dos níveis de ácidos graxos de cadeia curta e atuar como um regulador imunológico, tanto no

interior do lúmen como sistematicamente (MCFARLAND, 2010). Im e Pothoulakis (2010) relataram que *S. boulardii* também pode interferir na patogênese de doenças inflamatórias intestinais pela ação nas células T e na condição da diarreia por melhorar a bio-estrutura fecal.

As ações no nível celular incluem efeito na mucosa intestinal e resposta imunológica. Naquela a levedura promove um aumento da atividade de dissacaridases na mucosa intestinal como lactase, sacarase e maltase devido a um aumento de poliaminas, como espermidina e a espermina, que regulam a expressão gênica e síntese protéica. Já em relação à resposta imunológica, estudos em ratos e camundongos permitiram demonstrar que a levedura induz um aumento significativo nos níveis de IgA - Imunoglobulina do tipo A - secretória (QAMAR *et al.*, 2001; MARTINS, 2009a). Em camundongos desafiados com a toxina A de *C. difficile*, a levedura provocou um aumento de quatro vezes nos níveis de IgA dirigidos contra a toxina A.

O mecanismo de ação da levedura frente a bactérias envolve a inibição parcial de vários micro-organismos patogênicos (*C. difficile*, *V. cholerae*, *E. coli* enteropatogênica - EPEC e *E. coli* entero-hemorrágica – EHEC, *Salmonella enterica* sorovar- Typhimurium, *C. albicans*). Em um estudo com prematuros, Costalos *et al.* (2003) observaram uma diminuição nos níveis intestinais de *E. coli* e *Enterococcus* e um aumento de *Bifidobacterium* e *Staphylococcus* no grupo tratado com a levedura.

A *S. boulardii* também secreta substâncias anti-inflamatórias. Como exemplo pode ser citado a produção de fatores solúveis de baixo peso molecular, que bloqueiam a ativação de NF- κ B e a expressão de IL-8 (CHEN *et al.*, 2006). Segundo os autores, essas substâncias podem mediar, pelo menos em parte, os efeitos benéficos da levedura *S. boulardii* observados nas infecções intestinais.

Trabalhos sugerem um novo mecanismo de ação da levedura, envolvendo uma possível inibição da produção de óxido nítrico pela levedura (GIRARD *et al.*, 2003; GIRARD *et al.*, 2005). Em experimento Dalmaso *et al.* (2006), demonstraram que a levedura interfere no processo inflamatório, devido a uma alteração específica no comportamento de migração de células T que se acumulam nos linfonodos mesentéricos. O tratamento com *S. boulardii* limita a infiltração de células Th1 no cólon inflamado e a amplificação da inflamação induzida pela produção de citocinas pró-inflamatórias.

4.7.4 Uso na indústria farmacêutica brasileira

Os medicamentos disponíveis no mercado são indicados para uso adulto e pediátrico, por via oral, e encontram-se em diferentes formas farmacêuticas, tais como cápsulas (FLORATIL, 2005; SORIAK, 2006-2007) e pó oral (SORIAK, 2006-2007). A bula do medicamento de referência Floratil (2005) recomenda a posologia de 400 mg/dia do fármaco nas alterações agudas da microbiota intestinal e 200 mg/dia nas crônicas.

As empresas brasileiras que comercializam a levedura *S. boulardii*, com os seus respectivos nomes comerciais, são: Merck S. A. (Floratil®), Neo Química (Flomicin®), Herald's do Brasil Ltda (Florazin®), Cifarma (Florent®), EMS Legrand (Repoflor®) e Sigma Farma (Lactipan®) (SORIAK, 2006-2007). Na Tabela 10 pode ser observada a média de valores de medicamentos contendo *S. boulardii* em Minas Gerais/Brasil.

Tabela 10: Média de valores de medicamentos contendo *S. boulardii* em Minas Gerais/Brasil

Medicamento	Quantidade	Valor
Foratil	12 comprimidos de 100mg	R\$ 31,78
Flomicin	12 comprimidos de 100mg	R\$ 27,20
Florazin	12 comprimidos de 100mg	R\$ 28,37
Florent	12 comprimidos de 100mg	R\$29,26
Repoflor	12 comprimidos de 100mg	R\$ 29,03
Lactipan	12 comprimidos de 100mg	R\$ 21,45

Fonte: consultamedicamentos.com.br, acessado em 31/07/14 às 13:53h.

4.7.5 Aplicações clínicas

A levedura *S. boulardii* tem sido testada em relação à eficácia clínica em diversos tipos de distúrbios gastrointestinais. Martins *et al.* (2009), citam em seu trabalho que a levedura *S. boulardii* pode ser usada em quadros clínicos como diarreia associada ao uso de antibióticos; naquela causada pelo *C. difficile*, para prevenção e nos casos de recorrência; prevenção e tratamento da diarreia do viajante e da diarreia em pacientes infectados pelo HIV. Os autores sugerem ainda seu uso na manutenção do tratamento da Doença de Crohn e na prevenção de

diarreia em pacientes recebendo alimentação por sonda. Além destas indicações, existem ensaios clínicos mostrando o seu efeito na microbiota de prematuros e na diminuição da diarreia em pacientes com amebíase aguda.

Existem relatos clínicos demonstrando que a levedura apresenta eficácia sob vários parâmetros clínicos analisados, tais como: incidência, tempo de duração, frequência, consistência e quantidade dos episódios diarréicos. McFarland & Bernasconi¹ (1993, citado por MARTINS, 2008), relatam que, como a levedura não coloniza o cólon, a possibilidade de translocação do *S. boulardii* no interior do intestino é praticamente inexistente.

S. boulardii produz uma redução significativa na duração e complicações da diarreia (CANANI *et al.*, 2007). As crianças tratadas com *S. boulardii* apresentaram 50% de redução no número de episódios de diarreia nos meses seguintes, comparadas ao grupo controle. Houve também melhora significativa na frequência e consistência das fezes e redução na duração da doença no grupo tratado (BILLOO *et al.*, 2006). Este efeito a longo prazo (dois meses), pode ser devido à estimulação da imunidade local (aumentode IgA) e ao aumento da atividade trófica da mucosa (liberação de poliaminas) (BILLOO *et al.*, 2006).

Em estudo controlado, randomizado e prospectivo realizado por Buts e Bernasconi (2005) e Vandenplas *et al.*, 2007, foi observado que a ingestão de *S. boulardii* (500 mg/dia), por crianças jovens com gastroenterite aguda de intensidade moderada, influenciou significativamente o número, peso, consistência das fezes e tempo de trânsito intestinal, comparada ao grupo placebo. Outro estudo controlado, feito com 130 crianças, de três meses a três anos de idade, com diarreia infecciosa aguda, evidenciou que a administração da levedura (300 mg/dia), durante cinco dias, diminuiu a frequência de evacuações após 48 horas de tratamento. A melhora clínica foi maior no grupo tratado, comparado ao placebo.

Além das aplicações já listadas, *S. boulardii* contribui para reduzir a quantidade de evacuações e melhora a consistência das fezes em diarreia provocada pela Síndrome do intestino irritável, em diarreia associada ao HIV. Em um estudo realizado na Turquia por Besirbellioglu *et al.* (2006), ficou demonstrado que pacientes com giardíase tratados com *S. boulardii* não apresentavam cistos deste parasita, enquanto o grupo controle ainda possuía tais cistos.

¹MARTINS, F.S. **Efeito de dois probióticos, *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG 905, na resposta inflamatória induzida por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar. Typhimurium.** 2008.

Saccharomyces boulardii é efetiva na prevenção de DAA em adultos e crianças, principalmente devido a infecções do trato respiratório (SZAJEWSKA; MRUKOWICZ, 2005; VANDENPLAS *et al.*, 2009). A DAA pode manifestar-se desde diarreias simples até quadros graves de colite pseudomembranosa ou enterocolite (BUTS; BERNASCONI, 2005; KARKOW, *et al.*, 2007). Em estudos *in vitro* e *in vivo*, *S. boulardii* diminuiu a incidência de DAA pela sua capacidade de inibir bactérias patogênicas e não ser destruída por antibióticos e, em *hamsters*, diminuiu a mortalidade daqueles tratados com clindamicina (BRAVO *et al.*, 2008).

A destruição da microbiota residente intestinal é um problema relacionado ao uso de antibióticos e ocasiona uma elevação anormal na concentração de bactérias, principalmente anaeróbias e especialmente *C. difficile*, levando ao aparecimento dos sintomas diarreicos devido à produção de toxinas. Esse enteropatógeno é causa de aproximadamente um terço dos casos de DAA e está envolvido na maioria dos casos de colite pseudomembranosa (McFARLAND; BERNASCONI, 1993; KOTOWSKA; *et al.*, 2005; SZAJEWSKA; MRUKOWICZ, 2005; ZANELLO *et al.*, 2009). O uso da levedura, em combinação a com terapia com antimicrobianos padrão para o tratamento da colite pseudomembranosa recorrente provocada por *C. difficile*, é uma terapia segura e eficaz (KARKOW, *et al.*, 2007).

Pacientes com doença associada a *C. difficile* receberam vancomicina ou metronidazol em várias doses, juntamente com *S. boulardii* e antibióticos (2×10^{10} ufc/dia) ou somente o placebo, durante 28 dias. Os que receberam a levedura tiveram taxa de recorrência significativamente mais baixa (35%), comparados ao grupo placebo (65%) (McFARLAND; BERNASCONI, 1993; McFARLAND, 2005; BOS *et al.*, 2006).

O efeito protetor de *S. boulardii* na mucosa intestinal deve-se a uma protease de 54 kDa secretada por esta levedura, que inibe a ação e, conseqüentemente, os efeitos das toxinas A e B de *C. difficile* na mucosa do cólon (COPPOLA; TURNES, 2004). Outros mecanismos, como a estimulação da atividade das dissacaridases e da resposta imune na mucosa intestinal e a produção de fatores que inibem o crescimento de *C. difficile*, contribuem para o efeito protetor da levedura na infecção por esse patógeno (MARTINS *et al.*, 2005c). Além disso, a levedura não tem efeito direto no número de células de *C. difficile*, todavia diminui o título de citotoxina nas fezes de animais tratados com este probiótico (DALMASSO *et al.*, 2006b).

A eficácia da levedura contra a enterotoxigenicidade de *C. difficile* é observada quando da administração preventiva e continuamente, sendo proporcional à dose oral administrada (BRAVO *et al.*, 2008; BUTS; BERNASCONI, 2005; VANDENPLAS *et al.*, 2009).

Além de *C. difficile*, outros agentes infecciosos relacionados à DAA são a *Klebsiella oxytoca* (KARKOW; *et al.*, 2007, BARC *et al.*, 2008), *Clostridium perfringens*, *S. aureus*, *Candida sp.*, e *Salmonella sp.* (ZANELLO *et al.*, 2009). A redução da ocorrência de DAA foi observada em estudos clínicos randomizados envolvendo pacientes hospitalizados e ambulatoriais quando administrada *S. boulardii* em doses de 1 g/dia e 200mg/dia, respectivamente, durante a terapia com antimicrobianos (BUTS; BERNASCONI, 2005).

A *S. boulardii* não modifica a microbiota colônica endógena. Após a administração conjunta de *S. boulardii* e antibiótico, a levedura influencia o retorno ao nível normal dos grupos bacterianos dominantes e ajuda a restaurar o balanço microbiano intestinal. Esses efeitos contribuem para sua atividade probiótica e efeito benéfico na prevenção da DAA (BARC *et al.*, 2008).

4.7.6 Vantagens e desvantagens da utilização da levedura

A vantagem de se trabalhar com *S. boulardii* é que ela pode ser liofilizada e rapidamente eliminada após interrupção da terapia, não sendo afetada pelo uso de antibacterianos (BLEHAUT *et al.*, 1989; BODDY *et al.*, 1991). Esta última propriedade é importante, pois algumas terapias associam a administração de probióticos com antibacterianos durante infecções gastrointestinais como, por exemplo, no caso de pacientes infectados por *H. pylori*, cuja terapia é uma combinação de drogas (ARMUZZI *et al.*, 2001, SZAJEWSKA *et al.*, 2010; SONG *et al.*, 2010).

De acordo com McFarland & Bernasconi¹ (1993, citado por PEDROSO, 2011), o uso da levedura não acarreta mudanças nas populações normais da microbiota do cólon após exposição por 4-5 dias. Porém, após este tempo, nota-se um aumento nas populações de aeróbios ($1,4 \times 10^6/g$ para $2,1 \times 10^8/g$ de conteúdo intestinal) e de coliformes totais ($1,8 \times 10^6/g$ para $1,9 \times 10^7/g$ de conteúdo intestinal).

¹PEDROSO, S.H.S.P. **Ação probiótica da levedura *Saccharomyces boulardii***. 2011.

Segundo Venugopalan *et al.*, 2010, há 91 casos documentados de infecção invasiva por *Saccharomyces* (54 casos de infecção por *S. cerevisiae* e 37 casos de fungemia por *S. boulardii*). Em 2005, Muñoz e colaboradores identificaram 60 casos de fungemia causados por *S. boulardii*, sendo que 48% dos pacientes haviam recebido preparação probiótica contendo a levedura e outros 8% estavam próximos dos pacientes que haviam recebido tal agente. O achado sugere que a administração de *S. boulardii* pode representar risco ambiental para pacientes que não estão recebendo o agente (VENUGOPALAN *et al.*, 2010). No entanto, em nenhum destes casos observou-se óbito devido à utilização do probiótico (MCFARLAND, 2010).

O uso da levedura não é recomendado em pacientes imunossuprimidos ou muito debilitados, como no caso de tratamentos radioterápicos ou quimioterápicos (CESARO *et al.*, 2000), já que alguns casos de fungemia têm sido descritos na literatura nesses pacientes após tratamento enteral com *S. boulardii*, embora nenhum deles tenha levado o paciente a óbito devido à levedura e, foram, na maioria dos casos, resolvidos após interrupção do probiótico e utilização de fluconazol ou anfotericina B (CASSONE *et al.*, 2003).

4.8 Associações de probióticos em pacientes sob terapia com antimicrobianos

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias (SOUZA, 2013), podendo ser produzidos por micro-organismos, ou sintetizados, total ou parcialmente. Podem ainda, ser classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (GUIMARÃES, 2010). Na terapêutica, tanto em nível ambulatorial quanto hospitalar, os antimicrobianos estão entre as drogas mais utilizadas o que tem provocado a seleção de amostras bacterianas resistentes (BARBOSA *et al.*, 2001).

Como mencionado anteriormente, a DAA ocorre em aproximadamente 20% a 25% dos pacientes que recebem antibióticos. Antibióticos podem afetar diretamente a microbiota intestinal indígena pelo comprometimento da resistência à colonização e favorecer o crescimento de micro-organismos patogênicos (TEITELBAUM & WALKER, 2002; TUOHY *et al.*, 2003). A aparição da DAA depende do antibiótico

utilizado. Os que se associam com maior frequência à DAA são os betalactâmicos, cefalosporinas e clindamicina. A DAA também está associada a fatores como idade, à presença de co-morbilidades e a prolongação de internações (BRAVO *et al.*, 2008).

Dentro do conceito de terapia antimicrobiana tem-se utilizado com frequência o termo (bacterioterapia) para definir o efeito antibacteriano que determinadas bactérias e outros micro-organismos como leveduras e fungos filamentosos, podem apresentar (LÓPEZ-BREA, 2007).

Pacientes sob terapia com antimicrobianos recebendo, por exemplo, eritromicina, ampicilina, clindamicina, tetraciclina, beta-lactâmicos, quando submetidos à introdução simultânea de dieta com leites fermentados contendo micro-organismos ativos, tais como tais como o *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus acidophilus* ou *Bifidobacterium longum*, ou ainda a administração da levedura *Saccharomyces boulardii* podem reduzir significativamente o risco e a intensidade da diarreia, assim como o desconforto abdominal. Pesquisas apontam que em humanos o mecanismo protetor dos probióticos deve-se a produção de ácidos orgânicos, bacteriocinas e peptídeos que interfeririam na ação dos patógenos gastrointestinais e a um efeito estimulador da imunidade geral (BRAVO *et al.*, 2008).

A produção de simbióticos (produtos contendo micro-organismos probióticos) pode ser empregada como adjuntos dietéticos primeiramente em instituições hospitalares, para compor a dieta de convalescentes, com a finalidade de recompor sua microbiota intestinal e de protegê-la com efeito deletério inevitável do consumo de antibióticos, prevenindo o estabelecimento de diarreias (BARBOSA, 2001).

Tratando-se de microorganismos, não existe "risco zero" e, portanto, é preciso aceitar que podem ter efeitos positivos, mas também potenciais efeitos secundários. Segundo Marteau & Salminen (1998), o risco de transferência de genes entre o probiótico e a microbiota endógena pode ser preocupante quando se considera o uso futuro de probióticos modificados geneticamente, pois estes poderiam abrigar perigosos genes resistentes a antibióticos.

Em relação ao uso preventivo da *S. boulardii* na DAA, Bravo *et al.* (2008) relataram que existem poucos estudos que avaliam seu efeito preventivo, administrado concomitantemente com antibióticos, em pacientes com infecções agudas. As bifidobactérias são resistentes a metronidazol, neomicina, gentamicina,

kanamicina e estreptomicina, mas há poucos estudos a fim de avaliar seu efeito preventivo quando administrada como probiótico juntamente com antibióticos (GARCIA, 2007).

O que se deve buscar é estudar para se conhecer o perfil de resistência aos antibióticos para cada probiótico, a fim de estabelecer, de maneira mais precisa as relações risco/benefício do seu uso.

4.9 Perspectivas futuras

Atualmente, não importa só o efeito do probiótico em si, mas das moléculas que se produzem por sua ação. Dessa maneira, os estudos tendem a estar cada vez mais sujeitos à disponibilidade de métodos para isolar e identificar as substâncias que resultam do processo de digestão desses compostos. Os resultados com a utilização de micro-organismos probióticos são extremamente promissores, mas seu uso rotineiro ainda depende de novos estudos.

Uma linha de investigação interessante se dará por meio da observação de que os probióticos induzem a formação de uma série de compostos que atuam sobre os receptores de morfina e opiáceos do hipotálamo, produzindo sedação e efeitos sobre a motilidade intestinal e sobre o centro respiratório, ainda que em menor grau que os opiáceos verdadeiros, além de efeitos reguladores do ritmo cardíaco.

Os probióticos também têm sido explorados como opção terapêutica para a alergia alimentar. Cepas específicas da microbiota intestinal contribuem para a indução da tolerância oral por intermédio das células T regulatórias, inibem o desenvolvimento de alergia pela geração de IL-10 e TGF- β . Essas atividades são associadas com a supressão da proliferação das células T facilitadoras e a redução da secreção de citocinas pró-inflamatórias, com controle da resposta IgE e redução na inflamação intestinal de natureza alérgica. Assim, ressalta-se que o papel dos probióticos não se restringe à resposta imune de mucosa intestinal, mas apresenta, também, importantes efeitos sistêmicos.

Outra aplicação atual é a utilização das bactérias lácticas como veículos para antígenos vacinais, proteínas terapêuticas e ácido desoxirribonucléico (DNA). Nos últimos anos foi demonstrada a grande eficiência na indução da resposta imunológica, tanto sistêmica como ao nível de mucosas utilizando *Lactobacillus*

lactis recombinantes produtores de diferentes tipos de antígenos, em alguns casos a administração destas cepas recombinantes em nível de mucosa demonstrou a indução, com êxito, de respostas imunes sistêmicas e locais. É por isso que as BL são usadas com êxito como protadores genéticos no campo da vacinação por DNA.

Já existem projetos para o desenvolvimento de vacinas contra *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), que é o agente etiológico mais frequente nas diarreias agudas no Brasil e em outros países em desenvolvimento principalmente em populações com condições sócio-econômicas precárias. A ideia é que genes responsáveis pela codificação dos antígenos selecionados (fatores de virulência) sejam transferidos para uma espécie probiótica como, por exemplo, *Lactobacillus acidophilus*.

Alguns dados experimentais como de um lado a produção das substâncias mutagênicas e carcinogênicas por bactérias ditas prejudiciais e em contraponto a ligação e produção de compostos antimutagênicos e anticarcinogênicos, sugerem que as linhagens probióticas possam ter efeitos favoráveis na prevenção de câncer do cólon (HEYMAN & MENARD, 2002; MARTINS, 2006). Porém, estudos epidemiológicos e clínicos em humanos tornam-se necessários para esclarecer essa possível indicação dos probióticos.

As bactérias probióticas também têm sido utilizadas em um recente e inusitado método denominado de terapia bacteriana: o transplante de fezes. Apesar de causar estranheza, o transplante é a única alternativa de cura para pacientes que sofrem da chamada colite pseudomembranosa, uma inflamação do cólon que ocorre quando a bactéria *C. difficile* lesiona o órgão com a liberação de suas toxinas, provocando diarreia e a aparição de placas esbranquiçadas conhecidas como pseudomembranas. Seus principais sintomas são a diarreia, geralmente de odor fétido, febre e dor abdominal. Em alguns casos, essa modalidade de colite pode ser fatal. É mais recorrente em pessoas que acabaram de passar por tratamentos a base de antibióticos e em pacientes debilitados recém-ingressos em hospitais ou casas de idosos. A Figura 08 representa um modelo de transplante fecal em casos de diarreia causada por *C. difficile*.

Apesar de poucas pessoas conhecerem esta técnica, o transplante fecal não é uma prática nova. O primeiro caso foi descrito por Eiseman e colaboradores em 1958, que começaram a usar um método de lavagem intestinal no paciente usando fezes de outras pessoas para tentar "repovoar" a microbiota, restaurando assim o

seu equilíbrio. Entretanto, a técnica foi considerada antiética pela comunidade médica daquela época sendo suspensa nas décadas seguintes. A descrição do segundo caso ocorreu em 1981 por Bowden. Tempos depois, os cientistas também tentaram aplicar as fezes saudáveis nos pacientes por meio da colonoscopia, mas os resultados não foram satisfatórios porque não se conseguia fazer o "repovoamento" de toda a microbiota intestinal.

Somente no início de 2013, com a publicação de uma pesquisa feita por cientistas holandeses e publicada no *New England Journal of Medicine*, foi comprovado que o transplante de fezes é uma alternativa realmente eficaz para pacientes com colite pseudomembranosa se comparado com o tratamento medicamentoso "tradicional".

No Brasil, o Hospital Albert Einstein, em São Paulo, realizou em março de 2013 os dois primeiros procedimentos do tipo no país. As fezes utilizadas no procedimento são doadas por familiares dos pacientes, que devem obedecer alguns requisitos como não ser soropositivo e não ter hepatites. Antes de ser inserido, o material passa por exames parasitológicos, sendo então homogeneizados e centrifugados em soro fisiológico. Com o paciente sedado, as fezes são injetadas no jejuno (porção do intestino delgado localizada entre o duodeno e o íleo) e acabam recompondo a microbiota intestinal pela riqueza de bactérias.

Hoje este tipo de terapia é utilizada por vários especialistas com sucesso, sem quaisquer efeitos adversos. Estudos apontam que o índice de sucesso dos transplantes fecais é de aproximadamente 90%. No entanto, o enorme preconceito por parte dos pacientes ainda representa um obstáculo para que esta técnica tenha maior aplicabilidade.

Além de retomar o equilíbrio da microbiota intestinal, também foi observada melhora na sensibilidade à insulina em pacientes diabéticos e obesos, após transplante fecal realizado com material obtido por meio da doação de pacientes magros e saudáveis. Outros estudos sugerem que o transplante fecal pode ser benéfico para outras morbidades, tais como obesidade, diabetes tipo 2, arteriosclerose, esclerose múltipla, púrpura trombocitopênica idiopática, síndrome do intestino irritável e outras.

Esse assunto foi abordado em rede nacional no Programa Bem Estar, veiculado pela Rede Globo brasileira de televisão, em 28 de março de 2014. O doutor Paulo Camiz que realizou o procedimento na paciente entrevistada revela:

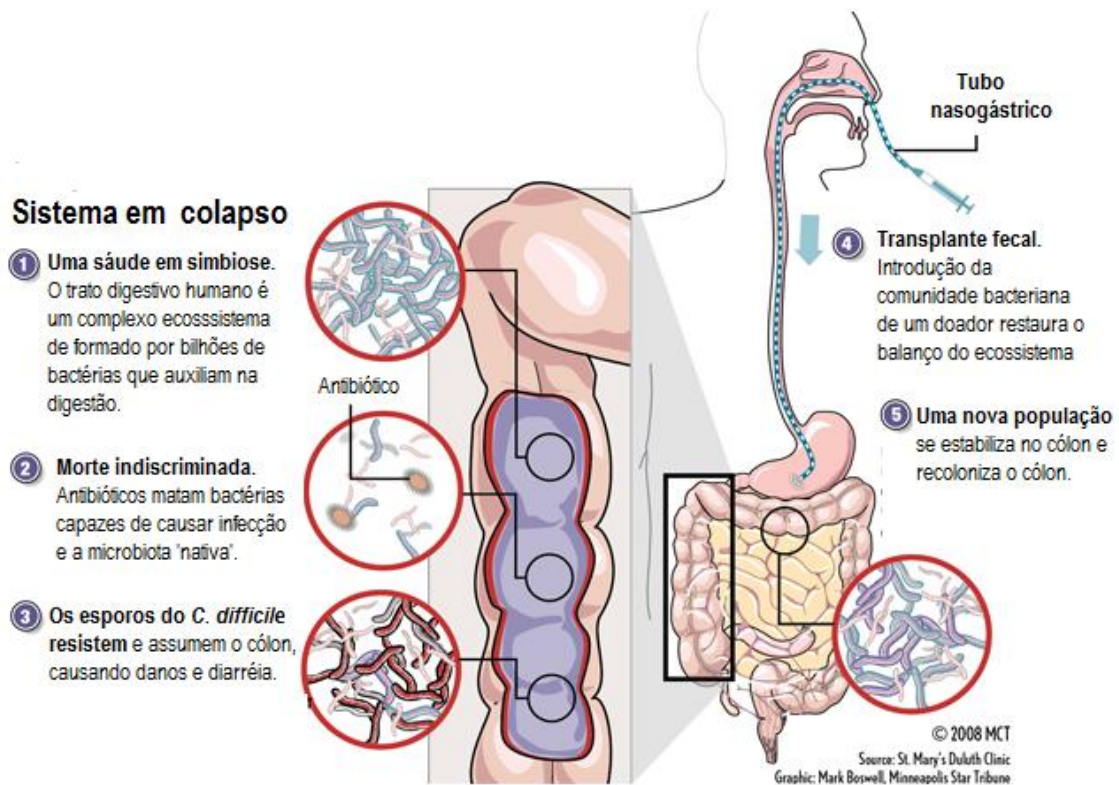
“toda vez que alguém ouve falar sobre isso a primeira idéia que é alguma coisa absurda mesmo, até vontade de dar risada. E se você falar isso para muitos médicos eles vão rir da sua cara”. O médico ainda esclarece: “a gente fala em transplante de fezes, mas na verdade a idéia não é transplantar fezes é transplantar bactéria. Essa é a moral da história. Você pega fezes que são ricas em bactérias que são boas, que naturalmente vivem no nosso intestino e você coloca no intestino de uma pessoa que está com desequilíbrio da flora”. O primeiro passo é escolher o doador. Para isso é feito um exame de fezes “para ver se não tem alguma coisa que vá fazer mal para quem vai receber”, relata Camiz, devendo ser a mostra isenta da presença da *C. difficile* e outros parasitas específicos. O material é diluído e implantando no intestino por endoscopia ou colonoscopia.

Um estudo no Estado de Minas Gerais, realizado por Generoso (2010) demonstrou, experimentalmente, que os probióticos podem modular a função imunológica por meio da produção de interleucina e do aumento da imunoglobulina secretória SIgA, reduzem a translocação bacteriana e, conseqüentemente, contribuem para a manutenção da integridade da barreira intestinal.

Os usos são diversos e tendem a aumentar, uma vez que os probióticos atraem a população consumidora que a cada dia mais opta por produtos que, ao mesmo tempo, resultem em benefícios à saúde e sejam atrativos do ponto de vista sensorial. Dessa forma, o mercado desses produtos tem se tornado cada vez mais competitivo.

Assim sendo, o que se espera para o futuro é que as inovações resultem em produtos probióticos mais diversificados que visem contribuir cada vez mais com a melhoria da saúde do consumidor.

Figura 08: Modelo de transplante fecal em casos de diarreia causada por *C. difficile*



Fonte: Adaptado de www.duluthnewstribune.com/media/full/png/2011/01/22/fecal0123.png. Modelo de transplante fecal em casos diarreia causada por *C. difficile*.

5 CONCLUSÃO

Conforme apresentado neste trabalho, percebe-se que o trato gastrointestinal, especificamente o intestino, possui extrema importância ao organismo humano, devido à sua microbiota que exerce inúmeras funções como, por exemplo, o efeito de barreira microbiológica. Percebeu-se que fatores como nutrição, Disbiose, genética, uso de antibióticos e probióticos podem interferir na microbiota deste trato.

A Disbiose, preocupação sanitária mundial, pode acarretar severos problemas ao organismo, no entanto a relação entre a Disbiose e o desenvolvimento de certas doenças está apenas começando a ser explorada. Ela é provocada por um sério desequilíbrio na microbiota intestinal podendo ser resultante do uso indiscriminado de antibióticos, abuso de laxantes, consumo excessivo de alimentos processados, dentre outros.

Existem muitos trabalhos e pesquisas voltadas para a aplicação de bactérias como probióticos. Porém trabalhos com as bifidobactérias estão muito aquém dos desenvolvidos com os *Lactobacillus*, tanto nacional como internacionalmente. Apesar dos estudos com a *S. boulardii* serem mais recentes dos que com as bifidobactérias, são encontrados mais trabalhos abordando a levedura que bifidobactérias. Tanto as bifidobactérias quanto a *S. boulardii* atribuem benefícios ao organismo não cabendo comparações em relação ao quesito eficiência de uma sobre a outra. No entanto ao que se refere ao preço de comércio percebe-se que os produtos contendo *S. boulardii* são mais acessíveis que os com bifidobactérias. O meio de comunicação televisivo também tem veiculado propagandas de produtos contendo probióticos como o Floratil (composto por *S. boulardii*), informando a população da existência e alguns benefícios desses produtos, sem deixar de abordar a importância de um acompanhamento médico.

Percebe-se que se tem envidado pesquisas ao prolongamento de vida de prateleira dos produtos probióticos, bem como de possibilidades de sua aplicação como veículos para antígenos vacinais, opção terapêutica para alergia alimentar. O método de terapia bacteriana, em que se utilizam as bactérias probióticas em um processo denominado transplante de fezes, tem sido eficaz para pacientes com colite pseudomembranosa.

Devido aos benefícios que proporcionam ao organismo, os probióticos têm sido cada vez mais consumidos. Nos últimos anos, houve um aumento do interesse por seus benefícios terapêuticos e, cada vez mais, estudos têm sido realizados, no Brasil e no mundo, abordando os diversos aspectos favoráveis de seu consumo.

Atualmente os probióticos comercializados estão mais acessíveis apenas à população com maior poder aquisitivo, independente do nível de consciência em relação a um estilo de vida mais saudável. A acessibilidade desses produtos para toda a população é um desafio, mesmo que seja difícil de ser vencido, uma vez que as indústrias a fim de atrair consumidores, investem na apresentação sensorial do produto que faz com que ele se torne mais oneroso. Mesmo assim, o custo é pequeno se comparado aos benefícios que os probióticos proporcionam ao organismo e pelos resultados que são rapidamente obtidos, sem efeitos colaterais apresentáveis na maioria dos pacientes que fazem seu consumo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L. B. *et al.* **Disbiose intestinal.** Revista Brasileira de Nutrição Clínica, v.24, n.1, p.58-65, 2009.
- ANTUNES, A. E. C. *et al.* **Probiotics: health promoting agents.** *Nutrire*: Revista da Sociedade Brasileira da Alimentação e Nutrição. São Paulo, SP, v. 32, n. 3, p. 103-122, Dez. 2007.
- ATOBE, J.H. **Efeito do leite fermentado contendo *Lactobacillus casei* Shirota na microbiota intestinal de crianças sob terapia antimicrobiana.** Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, SP, 2003.
- ARMUZZI, A. *et al.* **Effect of *Lactobacillus* GG supplementation on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy: a pilot study.** *Digestion*, v. 63, p. 1-7, 2001.
- BALCÃO, V. M. *et al.* **Alimentos potenciadores de saúde: Produtos lácteos probióticos.** Revista Ciência e Tecnologia do Alimento, v.5, n.3, p.22-29, Mar-Jun, RJ, 2001.
- BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Perfil de suscetibilidade antimicrobiana de *Bifidobacterium bifidum* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, v. 1, n. 2, 2001.
- BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Microbiota indígena do trato gastrointestinal.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.10, n.1, 1º semestre, 2010.
- BARBOSA, F.H.F. *et al.* **Probióticos: microrganismos a favor da vida.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.11, n.1, p. 11-21, 1º semestre de 2011.
- BARC, M.-C *et al.* **Molecular analysis of the digestive microbiota in a gnotobiotic mouse model during antibiotic treatment: influence of *Saccharomyces boulardii*.** *Anaerobe*, Exeter, v. 14, p. 229-233, 2008.
- BARNETT, J.A.; PAYNE, R.W.; YARROW, D. **Yeast: Characteristics and Identification**, 3rd ed., Cambridge University Press, Cambridge, 2000.
- BESIRBELLIOGLU, B.A. *et al.* ***Saccharomyces boulardii* and infection due to *Giardialamblia*.** *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, v. 38, p. 479-481, 2006.
- BEYER P.L. **Digestão, absorção, transporte e excreção de nutrientes.** In: Mahan LK, Escott-Stump S, editores. *Krause – alimentos, nutrição e dietoterapia*. 10ª ed. São Paulo: Roca; 2002. p.3-17.
- BILLOO, A. G. *et al.* **Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea.** *World Journal of Gastroenterology*, Beijing, v. 12, no. 28, p. 4557-4560, July, 2006

BISCAIA, I. M.F., STADLER, C. C., PILATTI, L. A. **Avaliação das alterações físico-químicas em iogurte adicionado de culturas probióticas.** XI Simpósio de engenharia de produção, Bauru/SP, 08 a 10 nov. 2004.

BLANCHETTE, L.; ROY, D. **Production of cultured Cottage cheese dressing by Bifidobacteria.** Journal of Dairy Science, v. 78, p.1421-1429, 1995.

BLOCH AS, MUELLER C. **Suporte nutricional enteral e parenteral,** p. 448-66, São Paulo, 2002.

BODDY, A.V.*et al.* **Influence of antibiotics on the recovery and kinetics of *Saccharomyces boulardii* in rats.** Pharmaceutical Research, v. 8, p. 796- 800, 1991.

BORGES, VC. **Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos.** In: Waitzberg DL, editor. Nutrição oral enteral e parenteral na prática clínica. 3ª ed. v.2. São Paulo: Atheneu; 2001, p.1495-501.

BOS, J. C. *et al.* **SWAB guidelines for antimicrobial therapy of acute infectious diarrhoea.** The Netherlands Journal of Medicine, Amsterdam, v. 64, no. 11, p. 395-402, Dec. 2006.

BOTELHO, L. **Isolamento e identificação de Lactobacilos e Bifidobactérias em alimentos probióticos disponíveis no mercado brasileiro.** Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

BOTTCHER, M.F. *et al.* **Microflora-associated characteristics in faeces from allergic and nonallergic infants.** Clinical and Experimental Allergy, v. 30, p. 1590-1596, 2000.

BRANDT, K. G.; SAMPAIO, M. M. S. C.; MIUKI, C. J. **Importância da microflora intestinal.** Pediatria (São Paulo), v. 28, p. 117-127, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde. Brasília, DF, Jan. 2002.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico de procedimentos para o registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais ou de saúde em sua rotulagem. Ministério da saúde. Agência Nacional de vigilância Sanitária, Resolução nº 19 de 30 Abril de 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (ANVISA). Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de saúde, Novos Alimentos/Ingredientes. Substâncias Bioativas e Probióticos. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 278p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 278, de 22 de setembro de 2005, atualizada em julho de 2008. **Legislação para alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos.**

BRAVO, M. V., *et al.* **Efecto del probiótico *Saccharomyces boulardii* en la prevención de la diarrea asociada con antibióticos en adultos ambulatorios en tratamiento con amoxicilina.** Revista Médica de Chile, Santiago, v. 136, n. 8, p. 981-988, 2008.

BRUNSER O. **El papel de las bifidobacterias em el funcionamiento del organismo humano.** Rev Chil Nutr, v.40, n.3, p.303-308, Sep. 2013

BUTS, J.-P.; BERNASCONI, P. ***Saccharomyces boulardii*: basic science and clinical applications in gastroenterology.** Gastroenterology Clinics of North America, Philadelphia, v. 34, p. 515-532, 2005.

CANANI, R. B. *et al.* **Probiotics for treatment of acute diarrhea in children: randomised clinical trial of five different preparations.** British Medical Journal, London, v. 335, no. 7615, p. 1-6, Aug.2007.

CARDARELLIA, H.R. *et al.* **Functional petit-suisse cheese: measure of the probiotic effect.** Anaerobe, v.13, p. 200-207, 2007.

CARLI, E, M. de. **Utilização de *Lactobacillus paracasei* como probiótico para o controle de *Salmonella* spp em frangos de corte.** Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. RS, 2006.

CASSONE, M. *et al.* **Outbreak of *Saccharomyces cerevisiae* subtype *boulardii* fungemia in patients neighboring those treated with a probiotic preparation of the organism.** Journal of Clinical Microbiology, v. 41, p. 5340-5343, 2003.

CASTILHO, A. C. **Probióticos – Histórico.** Instituto de Metabolismo (IMeM) 2007. Disponível em <http://www.nutricaoclinica.com.br>.

CHEN, X.; *et al.* ***Saccharomyces boulardii* inhibits ERK1/2 mitogen-activated protein kinase activation both *in vitro* and *in vivo* and protects against *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis.** The Journal of Biological Chemistry, v. 281, p. 24449-24454, 2006.

CONWAY, P.L.; GORGABCH, S.L.; GOLDIN, B.R. **Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells.** Journal of Dairy Science, v. 70, p. 1- 12, 1987.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. **Probióticos e resposta imune.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, Jul.-Ago. 2004.

CORRÊA, N.B.O. *et al.* **A randomised formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in infants.** Journal of Clinical Gastroenterology, v.39 p.385-389, 2005.

COSTA, G.N. e MIGLIORANZA, L.H.S. **Micro-organismos probióticos: caracterização de linhagens e seus efeitos no hospedeiro.** Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v.31, n.2, p. 195-206, Jul-Dez, Curitiba, 2013.

COSTALOS, C.; *et al.* **Enteral feeding of premature infants with *Saccharomyces boulardii*.** Early Human Development, v. 74, p. 89-96, 2003.

CROSS, M.L. **Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens.** FEMS Immunology and Medical Microbiology, v.34, n. 4, p.245-253, 2002.

CZERUCKA, D.; RAMPAL, P. **Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens.** Microbes and Infection, v. 4, p. 733-739, 2002.

CZERUCKA, D.; PICHE, T.; RAMPAL, P. Review article: **yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*.** Alimentary Pharmacology and Therapeutics, v. 26, p. 767-778, 2007.

DAIGLE, A. *et al.* **Production of probiotic cheese (Cheddar-like Cheese) using enriched cream fermented by *Bifidobacterium infantis*.** Journal of Dairy Science, v. 82, p.1081-1091, 1999.

DALMASSO, G. *et al.* ***Saccharomyces boulardii* prevents TNF- α -induced apoptosis in EHEC-infected T84 cells.** Research in Microbiology, v. 157, p. 456-465, 2006.

DANTAS, R.O. **Diarreia e constipação intestinal.** Simpósio de Semiologia, Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto/SP, v.37, p. 262-266, Jul-Dez 2004.

DEL PIANO, M. *et al.* **Probiotics: from research to consumer.** Digestive and Liver Disease, v.38, Suppl. 2, p. 248-255, 2006.

DESHPANDE, G.; RAO, S.; PATOLE, S. **Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomized controlled trials.** The Lancet, v. 369, p.1614-1620, 2007

DINAKAR, P.; MISTRY, V.V. **Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar Cheese.** Journal Dairy Science, v. 77, p. 2854-2864, 1994.

DUNNE, C. **Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder.** Inflammatory Bowel Diseases, v. 7, p. 136-145, 2001.

EDWARDS-INGRAM, L. *et al.* **Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*.** Applied and Environmental Microbiology, v. 73, p. 2458-2467, 2007.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.** Cordoba, Argentina, 2001. (Report of a Joint FAO-WHO Expert

on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria).

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Ontario, Canada, 2002. (Report of a joint FAO/WHO Working Group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food).

FARNWORTH, E.R. *et al.* **Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation**. International Journal of Food Microbiology, v.116, p.174-181, 2007.

FIETTO, J.L. *et al.* **Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii***. Canadian Journal of Microbiology, v. 50, p. 615-621, 2004.

FINE, K.D.; ESCHILLER. L.R. **American Gastroenterological Association medical position statement: guidelines for the evaluation and management of chronic diarrhea. AGA technical review on the evaluation and management of chronic diarrhea**. Gastroenterology, v.116, p. 1461-1486, 1999.

FIORAMONTI J. *et al.* **Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology?** Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology, v.17, n.5, p.711-724, 2003.

Florastor, ***Saccharomyces boulardii*** lyo, 2003. Disponível em <http://www.florastor.com>

FLORATIL: ***Saccharomyces boulardii* – 17 liofilizado**. Responsável técnico Alberto Ajncyer. Rio de Janeiro: Merck, 2005.

GARCIA, A. B. F. **Perfiles de susceptibilidad/resistencia a antibioticos en bacterias del ácido láctico y bifidobacterias. Caracterización molecular de genes de resistência**. Universidade de Oviedo, 2007.

GENEROSO, Simone de Vasconcelos. **Leveduras probióticas no processo de translocação bacteriana em modelo experimental de obstrução intestinal em camundongos**. 2010. 98f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Programa de Pós- Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. 2010.

GIRARD, P. *et al.* **Dose-response relationship and mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castor oilinduced diarrhea in rats**. Digestive Diseases and Sciences, v. 48, p. 770-774, 2003.

GIRARD, P.; PANSART, Y.; GILLARDIN, J.M. **Inducible nitric oxide synthase involvement in the mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castoroilinduced diarrhoea in rats**. Nitric Oxide: Biology and Chemistry, v. 13, p. 163-169, 2005.

GOBETTI, M. *et al.* **Production of Crescenza Cheese by incorporation of bifidobacteria.** Journal of Dairy Science, v.81, p. 37-47, 1998.

GOEL, A.K. *et al.* **Probiotics: microbial therapy for health modulation.** Defence Science Journal, v. 56, p. 513-529, 2006.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. **Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas,** 1998.

GRAFF, S. *et al.* **Influence of pH conditions on the viability of *Saccharomyces boulardii* yeast.** The Journal General and Applied Microbiology, v. 54, p. 221-227, 2008.

GUARNER, F., MALAGELADA, J.R. **Gut Flora in health and disease.** The Lancet, v. 361, p. 512-519, Fev 2003.

GUEIMONDE, M.; SALMINEN, S. **New methods for selecting and evaluating probiotics.** Digestive and Liver Disease, v.38, Suppl. 2, p. 242-247, 2006.

GUIMARÃES, D.O., MOMESSO, L.S., PUPO, M.T. **Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes.** Revista Química Nova, v.33, n.3.p., 667-679, 2010.

HEYMAN, M. & MENARD, S. **Probiotic microorganisms how they affect intestinal pathophysiology.** Cellular and Molecular Life Sciences, v.59, p.1-15, 2002.

HELLER, K.J. **Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristic and starter organisms.** American Journal of Clinical Nutrition, v. 73, p. 3745-3795, 2001.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais.** Tradução Ida Cristina Gubert. 20. ed.São Paulo: Manole, 2008.

HOOVER, D.G. ***Bifidobacterium*: Activity and potential benefits.** Food Technology, p.120-124, Jun, 1993.

IM, E.; POTHOUKAKIS, C. **Recent advances in *Saccharomyces boulardii* research.** Gastroenterology, v. 34, p. 562-570, 2010.

ISHIBASHI, N. & SHIMAMURA, S. ***Bifidobacterium*: Research and development in Japan.** Food Technology, p.126-135, Jun, 1993.

ISOLAURI, E., SALMINEN, S., OUWEHAND, A.C. **Microbial-gut interactions in health and disease - Probiotics.** Best Practice and Research Clinical Gastroenterology, v. 18, p. 299-313, 2004.

JUNIOR, J. F. Biblioteca de doenças –**Colite, Retrocolite ulcerativa, Doença de Crohn.** São Paulo:Associação Brasileira deMedicina Complementar; 2004.
Disponível em:
<http://www.medicinacomplementar.com.br/biblioteca_doencas_colite.asp>

KAPER, J.B.; SPERANDIO, V. **Bacterial cell-to-cell signaling in the gastrointestinal tract.** *Infection and Immunity*, v. 73, p. 3197-3209, 2005.

KARKOW, F. J. A.; FAINTUCH, J.; KARKOW, A. G. M. **Probióticos: perspectivas médicas.** *Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul-AMRIGS*, Porto Alegre, v. 51, n. 1, p. 38-48, jan.-mar. 2007.

KELLY, D.; KING, T.; AMINOV, R. **Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity.** *Mutation Research.*, v. 622, p.58-69, 2007.

KHALIL, A.H.; MANSOUR, E.H. **Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise.** *Journal of Food Science*, v. 63, p. 702-705, 1998.

KIM, H.S. **Characterization of Lactobacilli and Bifidobacteria as Applied to Dietary Adjuncts.** *Cultured Dairy Products Journal*, v. 23, n.3, 1998.

KORSCHUNOV, V.M.*et al.* **Therapeutic use of an antibiotic-resistant *Bifidobacterium* preparation in men exposed to high-dose γ -irradiation.** *Journal of Medical Microbiology*, v.44, p.70-74, 1996.

KOTOWSKA, M.; ALBRECHT, P.; SZAJEWSKA, H. ***Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial.** *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, Hoboken, v. 21, p. 583-590, 2005.

KUHLE, A.; SKOVGAARD, K.; JESPERSEN, L. **In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains.** *International Journal of Food Microbiology*, Turin, v. 101, p. 29-39, 2005.

KUMAR, V.P. *et al.* **Probiotics in improving the standards of human life.** *Developmental Microbiology and Molecular Biology*, v. 1, n.1, p. 13-19, 2010.

LEE, Y.K., NOMOTO, K., SALMINEN, S., GORBACH, S.L. **Handbook of probiotics.** New York: Wiley, 1999. 211p.

LIM, K.S., HUH, C.S., BAEK, Y.J. **Antimicrobial susceptibility of Bifidobacteria.** *Journal of Dairy Science*, v. 76, n. 8, p. 2168-2174, 1993.

LIONG, M.T.; SHAH, N.P. **Acid and bile tolerance and the cholesterol removal ability of bifidobacteria strains.** *Bioscience Microflora*, v. 24, n. 1, p. 1-10, 2004.

LÓPEZ-BREA, M. e DOMINGO, D. **Antibioticoterapia con probióticos.** *Sociedad Española de Quimioterapia. Revista Española de Quimioterapia*, v.20, n.2, p. 170-181, 2007.

LOPES, T.R.; PINTO, M.A.O. **Aplicação terapêutica da *Saccharomyces boulardii* em diarreias: uma revisão.** HU Revista, Universidade Federal de Juiz de fora/MG, v.36, n.2, p. 107-122, Abr/Jun 2010.

LUTGENDORFF, F.; AKKERMANS, L. M. A.; SÖDERHOLM, J. D. **The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastrointestinal damage.** Current Molecular Medicine, v. 8, p.282-298, 2008.

LYE, H.S. *et al.* **The improvement of hypertension by probiotics: effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens.** International Journal Molecular Science, v. 10, p. 3755-3775, 2009.

MACHADO, A. S. **Importância da microbiota intestinal para a saúde humana, enfocando nutrição, probióticos e Disbiose.** Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Microbiologia, BH/MG, 2008.

MACHADO *et al.* **Extração de açúcares com poder prebiótico a partir de resíduo industrial de alcachofra.** Departamento de Engenharia de Alimentos- Universidade Estadual de Campinas. Congresso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos. Valencia (España), 13-16, Enero, 2014.

MACK, D.R.; MICHAIL, S.; WEI, S.; MCDUGALL, L.; HOLLINGSWORTH, M.A. **Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence *in vitro* by inducing intestinal *mucin* gene expression.** American Journal of Physiology, v. 276, p. 941-950, 1999.

MARAFON, A.P. **Otimização das propriedades reológicas e sensoriais de iogurtes probióticos enriquecidos com proteínas lácteas.** Universidade de São Paulo, Programa de pós-graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, 2010.

MAGARIÑOS, H. *et al.* **Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12) in ice cream.** International Journal of Dairy Technology, v. 60, p.128-134, 2007

MAGARIÑOS, H. *et al.* **Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus casei* Shirota and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) in a milk-based dessert with cranberry sauce.** International Journal of Dairy Technology, v. 61, p.96-101, 2008

MARKOWITZ J, BENGMARK S. **Probiotics in Health and Disease in the Pediatric Patient.** Pediatric Clinics of North America; v. 49, n. 1, p.127-141, Feb/2002.

MARTEAU, P. & SALMINEN, S.A **inocuidade dos probióticos. Probióticos, outros fatores nutricionais e a microflora intestinal – Resumo do 42º Seminário de Nestlé Nutrition, In: Vevey, Suíça, p. 39-40, 1998.**

MARTINS, F. S. *et al.* **Utilização de leveduras como probióticos.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.5, p.1519-1530, 2005a.

MARTINS, F.S. *et al.* **Comparação de seis produtos probióticos contendo *Saccharomyces boulardii*.** Revista Brasileira de Medicina, v. 62, p. 151-155, 2005b.

MARTINS, F. S. *et al.* **Utilização de leveduras como probióticos.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, Campina Grande, v. 5, n. 2, 2005c.

MARTINS, F.G. **Probióticos.** Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, 2006.

MARTINS, F.S. **Efeito de dois probióticos, *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG 905, na resposta inflamatória induzida por *Salmonella entérica* subsp. *enterica* sorovar. Typhimurium.** Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina, 2008.

MARTINS F.S, BARBOSA F. H.F. e NICOLI J.R. **O probiótico *Saccharomyces boulardii*.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.9, n.2, 2º semestre, 2009.

MARTINS, F.S. *et al.* **Comparative study of *Bifidobacterium animalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces boulardii* probiotic properties.** Archives of Microbiology, v. 191, n.8, p. 623-630. 2009a.

MATTAR, R., MAZO,D.F.C. **Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular.** Revista da Associação Médica Brasileira, v.56, n.2, p.230-236.

MATHAI K. **Nutrição na idade adulta.**In: Mahan LK, Escott-Stump S, editores. Krause – alimentos, nutrição e dietoterapia. 10ª ed p.261-75. São Paulo:Roca;2002.

MAUS, J. E.; INGHAM, S.C. **Employment of stressful conditions during culture production to enhance subsequent cold and acid-tolerance of bifidobacteria.** Journal of Applied and Microbiology, v. 95, p.146-154, 2003.

MAZO, J. Z. **Isolamento, caracterização e viabilidade tecnológica de Bifidobactérias de origem humana com atividade potencialmente probiótica.** Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/ SC, 2009.

MAZO, J. Z., *et al.* **Bifidobactérias: Isolamento, identificação e aplicação em alimentos probióticos.** Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba, v. 27, n.1, jan/jun. 2009.

MCCULLOUGH, M.J.; CLEMONS, K.V.; MCCUSKER, J.H.; STEVENS, D.A. **Species identification and virulence attributes of *Saccharomyces boulardii* (nom. inval.).** Journal of Clinical Microbiology, v. 36, p. 2613-2617, 1998.

MCFARLAND, L.V.; BERNASCONI, P. **Saccharomyces boulardii: A review of an innovative biotherapeutic agent.** Microbial Ecology in Health Disease, v. 6, p. 157-171, 1993.

MCFARLAND, L.V. **Saccharomyces boulardii is not Saccharomyces cerevisiae.** Clinical Infectious Diseases, v. 22, p. 200-201, 1996.

MCFARLAND, L.V. **Normal flora: diversity and functions.** Microbial Ecology in Health and Disease, v. 12, p. 193-207, 2000.

MCFARLAND, L. V. **Alternative treatments for Clostridium difficile disease: what really works?** Journal of Medical Microbiology, Washington, D.C., v. 54, p. 101-111, 2005.

MCFARLAND, L.V. **Systematic review and meta-analysis of Saccharomyces boulardii in adult patients.** World Journal of Gastroenterology, v. 14, p. 2202-2222, 2010.

MISRA, A.K.; KUILA, R.K. **Intensified Growth of Bifidobacterium and preparation of Bifidobacterium bifidum for a dietary adjunct.** Cultured Dairy Products Journal, v. 26, n.4, p. 4-6, 1992.

MITSUOKA, T. **Intestinal flora and human health Asia Pacific.** Journal of Clinical Nutrition. v. 5, n.1, p. 2-9, 1996.

MITTERDORFER, G. *et al.* **Clustering of Saccharomyces boulardii strains within the species S. cerevisiae using molecular typing techniques.** Journal of Applied Microbiology, v. 93, p. 521-530, 2002.

MORAES *et al.* **Microbiota Intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, v.58, n.4, p. 317- 327, 2014.

MORAIS, B.M.; JACOB, C.M.A. **The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice.** Jornal de Pediatria, v. 82, n.5 p. 189-197, 2006.

MORI, H. *et al.* **Isolation and structural identification of bifidogenic growth stimulator produced by Propionibacterium freudenreichii.** Journal of Dairy Science, v. 80, p.1959-1964, 1997.

MOUNTZOURIS, K. C.; GIBSON, G. R. **Colonização do trato gastrintestinal.** In: Anais Nestlé, v. 64, p. 1-13, 2005.

MOUNTZOURIS, K. C.; MCCARTNEY, A. L.; GIBSON, G. R. **Intestinal microflora of human infants and current trends for its nutritional modulation.** British Journal of Nutrition, v.87, p. 405-420, 2002.

MOURÃO, P.H.O, MAGALHÃES, P.P, MENDES, E.N. **Microbiota Indígena de Seres Humanos.** Revista Médica de Minas Gerais, v. 12, n.3, p. 177-184,2005.

MUÑOZ, P.; BOUZA, E. *et al.* ***Saccharomyces boulardii* fungemia: an emerging infectious disease.** *Clinical Infectious Diseases*, v. 40, p. 1625-1634, 2005.

NAUMOVA, E.S. *et al.* **Molecular genetic identification of *Saccharomyces sensu stricto* strains from African sorghum beer.** *FEMS Yeast Research*, v. 3, p. 177-184, 2003.

NICOLI, J.R.; VIEIRA, L.Q. **Microbiota gastrointestinal normal na doença e na saúde.** In: CASTRO, L.P.; COELHO, L.G.V. (Eds.). *Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Médica e Científica Ltda, p. 1037-1047, 2004.

NOGUEIRA, J.C.R. e GONÇALVES, M.C.R. **Probióticos**, *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v.15, n.4, p. 487-492, 2011.

OBA, J.; CUKIER, C; MAGNONI, D. **Probióticos em pediatria.** Instituto de Metabolismo(IMeM), 2007.Disponível em: <http://www.nuticaoclinica.com.br>

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A; SAAD, S.M.I. **Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.38, n.1, p. 1-21, Jan/Mar 2002.

PEDROSO, S.H.S.P. **Ação probiótica da levedura *Saccharomyces boulardii*.** Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Microbiologia, BH/MG, 2011.

PECQUET, S.*et al.* **Kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* elimination from the intestines of human volunteers and effect of this yeast on resistance to microbial colonization in gnotobiotic mice.** *Applied Environmental Microbiology*,v. 57, p. 3049-3051, 1991.

PEREIRA, B. S. **Seleção de meio de cultura para a determinação de bifidobactérias durante a vida de prateleira de bebida láctea fermentada com soro de leite nanofiltrado.** Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, 2012.

PICARD, C. *et al.* **Bifidobacteria as probiotic agents – physiological effects and clinical benefits.** *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, v. 22, p. 495-512, 2005

POVOA, H. **O cérebro desconhecido: como o sistema digestivo afeta nossas emoções, regula nossa imunidade e funciona como um órgão inteligente.** Rio de Janeiro: Objetiva; 2002, 222p.

PLUMMER, S. *et al.* ***Clostridium difficile* pilot study: effects of probiotic supplementation on the incidence of *C. difficile* diarrhoea.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 7 p. 59-62, 2004.

Probióticos e prebióticos. *Revista Food ingredients Brasil*. P. 22-29, s/d.

QAMAR, A. *et al.* ***Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice.** Infection and Immunity, v. 69, p. 2762-2765, 2001.

RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S.K.; ADAMS, M.C. **Importance of food in probiotic efficacy.** Food Research International, v. 43, p.1-7, 2010.

RASTMANESH, R. **High polyphenol, low probiotic diet for weight loss because of intestinal microbiota interaction.** Chemico-Biological Interactions, v. 189, p.1-8, 2011.

RAIZEL, R. *et al.* **Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano.** Revista Ciência e Saúde, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, Jul/Dez 2011.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. **Non-dairy probiotic products.** Food Microbiology, v. 27, p.1-11, 2010.

ROBBERSTAD, B. *et al.* **Cost-effectiveness of zinc as adjunct therapy for acute childhood diarrhea in developing countries.** Bulletin of the World Health Organization, v. 82 p. 531-531, 2003.

SAAD, S. M. I. **Probióticos e Prebióticos: O estado da arte.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, v. 42, nº 1, p. 2- 12, Jan. - Mar., 2006.

SAARELA, M. *et al.* **Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties.** Journal of Biotechnology, v. 84, n. 3, p.197-15, 2000.

SAMONA, A. & ROBINSON, R.K. **Enumeration of bifidobacteria in dairy products.** Journal of the Society of Dairy Technology, v.44, n. 3, p. 64-66, 1991.

SANT'ANA, G.S. *et al.* **Protective effect of ions against cell death induced by acid stress in *Saccharomyces*.** Fems Yeast Research, v. 9(5), p. 701-712, 2009.

SANTOS, F. L. *et al.* **A. Utilização de Probióticos na Redução da Anemia Ferropriva.** Diálogos e Ciência- Revista da Rede de Ensino FTC, v.7, n. 4, p.13-18, Dez., 2008 a.

SANTOS, A.C.A.L. **Uso de probióticos na recuperação da flora intestinal durante a antibioticoterapia.** Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição, RJ, 2010.

SANTOS, R. B., BARBOSA, L. P. J. L., BARBOSA, F. H. F. **Probióticos: microrganismos funcionais.** Revista Ciência Equatorial, v. 1, n. 2, p. 27- 36, 2º semestre de 2011.

SAZAWAL, S. *et al.* **Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a metaanalysis of masked, randomised, placebo-controlled trials.** The Lancet Infectious Diseases, v.6, p.374-381, 2006.

SEBASTIÁN SARIEGO B.: **Biotransformación de los glucósidos de flavonoides del Frijol Común (*Phaseolus vulgaris* L.) por *Bifidobacterium* spp. del intestino Humano**, 23 de Mayo de 2010. Disponível em: <http://biosewa.wordpress.com>, acessado em 22/08/14.

SELVAMUTHUKURAMAN, M.; SHUKLA, S.S. **Optimization of spray drying conditions for production of bifidus milk powder from cow milk**. Journal of Food Quality, v. 29, p. 305-318, 2006.

SHERMAN P. M. *et al.*, **Unravelling mechanisms of action of probiotics**. Nutrition in Clinical Practice. American Society for Parenteral and Enteral Nutrition, v. 24, n. 1, p. 10-14, Feb-Mar 2009.

SILVA, L.F.G. **Disbiose intestinal: conheça as causas e os tratamentos**. 2001.

SONG, M.J. *et al.* **The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI-based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori***. Helicobacter, v. 15, p. 206-213, 2010.

SORIAK (Ed.). P.R. Vade-Mécum – Vade-mécum de medicamentos. 12. ed. São Paulo, 2006-2007.

SOUZA, C.C.S. *et al.* **Síntese e atividade microbiológica deo derivado (3,4-Dicloro-benzilideno)-(4-(4-Nitro-fenil)- Tiazol-2-IL) Amina (Ju-480)**. 53º Congresso Brasileiro de Química, Rio de Janeiro, Outubro de 2013.

STRINGHETA, P.C, *et al.* **Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.43, n.2, p.181-194, Abr/Jun, 2007.

SUN, W.; GRIFFITHS, M.W. **Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan-xanthan beads**. International Journal of Food Technology, v.61, p.17-25, 2000.

SZAJEWSKA, H.; MRUKOWICZ, J. **Meta-analysis: nonpathogenic yeast *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea**. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Hoboken, v. 22, p. 365-372, 2005.

SZAJEWSKA, H.; HAVATH, A.; PIWOWARCZYK, A. **Meta-analysis: the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during treatment**. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, v. 32, p. 1069-1079, 2010.

TAMIME, A.Y. *et al.* Review article **-Microbial and technological aspects of milks fermented by *Bifidobacterium***. Journal Dairy Research, v. 62, n.1, p. 151-187, 1995.

TANNOCK, G.W. **Normal Microflora**. London: Chapman e Hall, 1995.

TEITELBAUM, J.E.; WALKER, W.A. **Nutritional impact of pre - and probiotics as protective gastrointestinal organisms.** Annual Review of Nutrition, v. 22., p. 107-138, 2002.

THAPAR, N; SANDERSON, I.R. **Diarrhoea in children: an interface between developing and developed countries.** The Lancet, v. 363, 2004.

TESHIMA, E.D.S. **Seleção de bactérias bífidas isoladas de lactentes e modulação da microbiota intestinal lpor meio de probióticos, prebióticos e simbióticos.** Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 2001. 113 p.

THE KAISER CENTER FOR PROBIOTIC RESEARCH. **Guide to Probiotis.** Disponível em <<http://probioticsreviewed.com/probiotic-strains/saccharomycesboulardii/>>.

TUOHY, K.M. *et al.* **Using probiotics and prebiotics to improve gut health.** TherFocus, v. 8, 2003.

VANDENPLAS, Y. *et al.* **Probiotics in infectious diarrhoea: are they indicated? A review focusing on *Saccharomyces boulardii*.** South African Journal of Child Health, Cape Town, v. 1, no. 3, p. 116- 119, Oct., 2007.

VANDENPLAS, Y.; BRUNSER, O.; SZAJEWSKA, H. ***Saccharomyces boulardii* in child hood.** European Journal of Pediatrics, v. 168, no. 3, p. 253-265, 2009.

VARAVALLO, M. A. e SANTOS, T. T. **A importância de probióticos para o controle e/ou reestruturação da microbiota intestinal.** Revista Científica do ITPAC, v. 4, n. 1, Jan. 2011.

VENUGOPALAN, V.; SHRINER, K.A.; WONG-BERINGER, A. **Regulatory oversight and safety of probiotic use.** Emerging Infectious Diseases Journal, v. 16, p. 1661-1665, 2010.

VICTORA, César G. **Diarrhea mortality: what can the world learn from Brazil?** Jornal de Pediatria - v. 85, n.1, 2009.

VINDEROLA, C.G. *et al.* **Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microbiota in Argentinian Fresco Cheese.** Journal Dairy Science, v. 83, p. 1905-1911, 2002.

ZANELLO, G. *et al.* ***Saccharomyces boulardii* effects on gastrointestinal diseases.** Current Issues in Molecular Biology, Norwich, v. 11, p. 47-58, 2009.

WALKER, W.A.; DUFFY, L.C. **Diet and bacterial colonization: role of probiotics and prebiotic.** The Journal of Nutritional Biochemistry, v. 9, p. 668-675, 1998.

WALKER, W.A.; GOULET, O.; MORELLI, L.O.; ANTOINE, J.M. **Progress in the science of probiotics.** European Journal of Nutrition, v.45, Suppl. 1, p.1-18, 2006.

WALKER, W.A. Mechanisms of action of probiotics. **Clinical Infectious Diseases**, v.46, p.87-91, 2008.

WANG, B.; LI, J.; LI, Q.; ZHANG, H.; LI, N. **Isolation of adhesive strains and evaluation of the colonization and immune response by *Lactobacillus plantarum* L2 in the rat gastrointestinal tract.** International Journal of Food Microbiology, v. 132, p.59-66, 2009.

WILLS-KARP, M.; SANTELIZ, J.; KARP, C.L. **The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis.** Nat. Rev., v.1, p. 69-75, 2001.

World Gastroenterology Organization (WGO): **Guia prática da Organização Mundial de Gastroenterologia- Diarreia Aguda**, Março de 2008.

World Gastroenterology Organization (WGO): **Enteric Infeccions: Prevention and Management**, Maio de 2011.

YOUNG, V.B; SCHMIDT, T.M. **Antibiotic-Associated Diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota.** Journal of Clinical Microbiology, v. 42. p. 1203-1206, 2004.

Portal Consulta Medicamentos. Disponível em <http://www.consultamedicamentos.com.br>- acessado em 31/07/14.

Portal Ergovita. Simfort Symbio Fort Vitafor. Simfort-Probiótico em pó. Disponível em <<http://www.ergovitanet.com.br>> - acessado em 10/09/2014.

Portal eVitamins. Life Extension FlorAssist- 30 Liquid Vegetarian Capsules. Disponível em: <<http://www.br.evitamins.com>>- acessado em 10/09/2014.

Portal e.Vitamins. Solary Multidophilus, Três bilhões, 100 Caps. Disponível em <<http://www.br.evitamins.com>>- acessado em 10/09/2014.

Portal Globo. Programa Bem Estar. Entenda como funciona o transplante de fezes. Publicado em 28/03/2014. Disponível em <<http://globotv.globo.com/rede-globo/bem-estar/v/entenda-como-funciona-o-transplante-de-fezes/3244696/>> acessado em 11/09/2014.

Portal Natural Quality- Suplemento e Vitaminas. Vital Immune Biotic (Imobiotic) - Klaire Labs (30 Cápsulas).Disponível em <www.naturalquality.com.br>- acessado em 10/09/2014.

Portal Nutriservice. Nutrição clínica a seu alcance. Vital plex Capsulas. Disponível em <<http://www.nutriservice.com.br>>- acessado em 10/09/2014.

Portal Nutriservice. Nutrição clínica a seu alcance. Lactofos. Disponível em <<http://www.nutriservice.com.br>>- acessado em 10/09/2014.

Portal Nutriservice. Nutrição clínica a seu alcance. Lacto B, caixa com 30 sachês de 01g. <<http://www.nutriservice.com.br>>- acessado em 10/09/2014.

Portal Nutriservice. Nutrição clínica a seu alcance. Lacto Pro, caixa com 30 sachês de 01g. <<http://www.nutriservice.com.br>>- acessado em 10/09/2014.