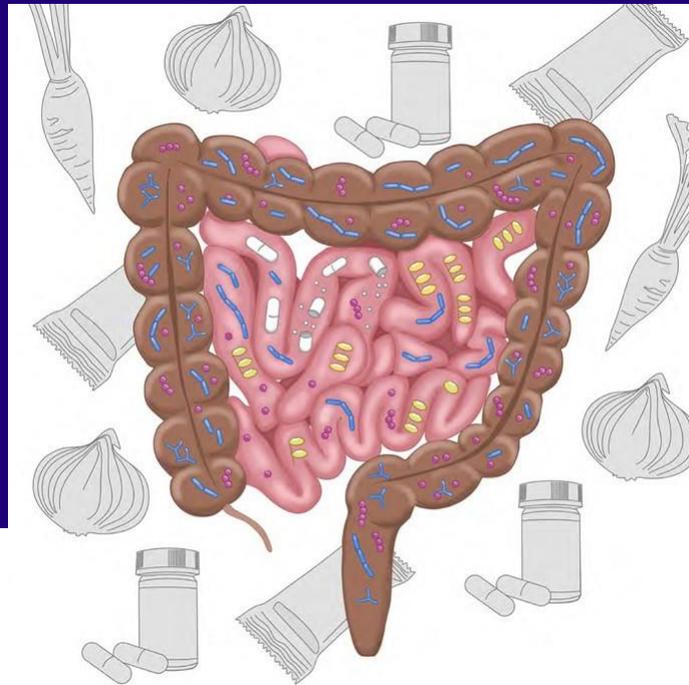


---

ILSI EUROPE CONCISE MONOGRAPH SERIES

---

# PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E A MICROBIOTA INTESTINAL NA SAÚDE HUMANA



# SOBRE O ILSI / ILSI EUROPE

O Instituto Internacional de Ciências da Vida (*International Life Sciences Institute* - ILSI), fundado em 1978, é uma fundação mundial, sem fins lucrativos que visa melhorar o bem-estar do público em geral através avanço da ciência. O seu objetivo é aprofundar a compreensão de questões científicas relacionadas com a nutrição, a segurança alimentar, a toxicologia, a avaliação de risco, e o ambiente. O ILSI é reconhecido a nível mundial pela qualidade da investigação que apoia, as conferências globais e os *workshops* que patrocina, os projetos educativos que promove, e as publicações que produz. O ILSI, sediado em Washington, DC, é afiliado à Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma organização não-governamental e tem um estatuto consultivo especial com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO).

A filial Europeia ILSI *Europe* foi estabelecida em 1986. O ILSI *Europe* promove a colaboração entre os melhores cientistas fornecendo consenso científico baseado em evidências nas áreas acima mencionadas.

Ao facilitar a sua colaboração, o ILSI *Europe* ajuda cientistas de vários sectores da sociedade - públicos e privados - a lidar melhor com questões complexas da ciência e da saúde, partilhando o seu conhecimento e perspectivas singulares.

O ILSI *Europe* promove o entendimento e a resolução de questões científicas por meio de grupos de especialistas, *workshops*, simpósios, e publicações. O derradeiro objetivo do ILSI *Europe* é a melhoria da saúde pública.

Todas as actividades do ILSI *Europe* são conduzidas sob a supervisão da Comissão Científica Consultiva. Com a sua composição equilibrada, a Comissão Científica Consultiva desempenha um papel importante na revisão de todas as actividades no que diz respeito à sua validade científica e coerência com o programa do ILSI *Europe*. A Comissão Científica Consultiva fornece, também, aconselhamento científico ao Conselho de Administração.

As políticas internas do ILSI exigem que as suas filiais e os seus Conselhos de Administração sejam compostos por pelo menos 50% de cientistas provenientes do setor público, sendo os demais diretores representantes das empresas-membros do ILSI.

Esta publicação tornou-se possível graças ao apoio do grupo de trabalho *Prebiotics and Probiotics* do ILSI *Europe*. Os membros da indústria destes grupos de trabalho, bem como a composição do Conselho de Administração e da Comissão Científica Consultiva estão listados no *site* do ILSI *Europe* em [www.ils.eu](http://www.ils.eu).

As opiniões aqui expressas e as conclusões da presente publicação são da responsabilidade do autor e não representam necessariamente a visão do ILSI *Europe* nem das suas empresas-membros.

---

# PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E A MICROBIOTA INTESTINAL NA SAÚDE HUMANA

Monografia Consisa Revista  
Monografia Consisa do ILSI *Europe*. Probióticos, Prebióticos e a Microbiota Intestinal. 2013:1-32.  
Suportado pelo grupo de trabalho *Prebiotics and Probiotics*.



© 2022 ILSI *Europe*

A presente publicação pode ser reproduzida para fins não comerciais (incluindo fins educativos) tal como é apresentada, e na sua totalidade, sem a necessidade de autorização adicional por parte do ILSI *Europe*. A reprodução parcial e a utilização para fins comerciais é proibida sem prévia autorização escrita do ILSI *Europe*.

“*A Global Partnership for a Safer, Healthier World*. ®”, a imagem do logótipo de círculos concêntricos, o logótipo “*International Life Sciences Institute*”, bem como o acrónimo “ILSI” são marcas registadas do Instituto Internacional de Ciências da Vida e licenciadas para uso pelo ILSI *Europe*. A utilização de nomes e fontes comerciais neste documento tem apenas um propósito identificativo, não implicando um endosso pelo ILSI *Europe*.

A imagem da capa frontal foi reproduzida por Pinja Kettunen, SciArt.

ISBN: 978-2-9603031-3-1

**Dietary probiotics, prebiotics and the gut microbiota in human health** (versão original ISBN: 978-2-9603031-0-0)

Traduzido por: Catarina Pereira de Melo Vila Real

Revisão científica: Ana Maria Pereira Gomes

Para mais informações sobre o ILSI *Europe*, por favor

contactar ILSI *Europe* a.i.s.b.l.

Avenue E. Mounier 83, Box 6

B-1200 Brussels Belgium

Tel.: (+32) 2 771 00 14

Fax: (+32) 2 762 00 44

E-mail: [info@ilsieurope.be](mailto:info@ilsieurope.be)

Website: [www.ils.eu](http://www.ils.eu)

Prefácio	1
Introdução	3
O papel da Microbiota do Tracto GI na Saúde e na Doença	6
Microbiota do Tracto GI	6
Fermentação Bacteriana e Metabolismo	9
A Barreira Epitelial Intestinal e o Sistema Imunitário	10
Técnicas para Explorar a Microbiota GI	13
O conceito de Probiótico	15
Definição e História	15
A Seleção de Candidatos a Probióticos	17
Caracterização e Taxonomia	17
Segurança	18
Aplicações de Probióticos em Alimentos	19
O conceito de Prebiótico	20
Definição e História	20
Caracterização de Ingredientes Prebióticos	20
Critérios para a Seleção de Prebióticos	21
Aplicações de Prebióticos em Alimentos	23
Simbióticos	23
Efeitos na Saúde dos Prebióticos e Probióticos	24
Abordagens de Investigação	24
Impacto dos Prebióticos e Probióticos na Saúde Humana	26
Impacto na Função Imunológica, Inflamação e Resposta a Infeções	34
Probióticos e Prebióticos: Mecanismos de Ação	38
Mecanismo Geral	38
Trato GI e a sua Microbiota	38
Interações com o Hospedeiro	45
Conclusões Gerais	48
Abreviaturas	50
Glossário	51
Fontes Bibliográficas e Leitura Adicional	53

*O ILSI Europe agradece a revisão desta monografia:*

*Cath Mersh, editor; Nathalie Delzenne, Paul de Vos, Mary Ellen Sanders, Kristin Verbeke, revisores científicos.*

## **PREFÁCIO**

---

Desde que a primeira edição desta monografia foi publicada em 2013 tem havido um interesse crescente em prebióticos e probióticos, e mais recentemente em simbióticos. Hoje em dia, os prebióticos e os probióticos são vulgarmente encontrados numa gama de produtos alimentares e suplementos alimentares dirigidos a bebés, crianças, adultos e idosos, e também a grupos específicos como desportistas e grávidas. Embora haja também linhas de investigação sobre as aplicações em produtos farmacêuticos, alimentação animal e em aplicações não alimentares para humanos, esta monografia foca-se nas aplicações alimentares.

Nos últimos anos, a investigação focada na compreensão da composição e função da microbiota expandiu drasticamente com o desenvolvimento de técnicas analíticas cada vez mais sensíveis e também com o aumento do poder computacional. Estas ferramentas facilitaram a prospeção de dados para uma melhor percepção da relação da microbiota com a fisiologia e a saúde. O papel dos prebióticos e probióticos na saúde humana tem sido também investigado com grande profundidade, contribuindo para a melhor compreensão dos já conhecidos benefícios para a saúde e a descoberta de novos benefícios-alvo. Por esta razão, é apropriada e oportuna a actualização destes novos resultados.

A popular primeira edição desta monografia realçou a necessidade de uma fonte de informação objectiva e facilmente entendível por interessados não especialistas nesta área. Tendo isso por base, o grupo de trabalho *Prebiotics and Probiotics* do ILSI Europe concordou em produzir esta segunda edição

revista, com base em contribuições de especialistas nas respectivas áreas para refletir sobre os recentes avanços. O objectivo é facultar uma introdução clara sobre o conhecimento científico abundante dos prebióticos, probióticos e a microbiota intestinal, e o seu impacto no hospedeiro. Por esta razão, esta monografia não aborda aspectos regulamentares detalhados, que variam entre países ou regiões.

O desafio nas ciências da nutrição é produzir conhecimento que permita aos consumidores manter um bom estado de saúde, suportar as funções normais do organismo e reduzir o risco de doença através de uma boa nutrição. Em vez de testar resultados clínicos de uma doença, os estudos de intervenção nutricional avaliam os marcadores de saúde ou risco de doença validados. Os biomarcadores que influenciam o risco de uma doença geralmente requerem um conhecimento aprofundado dos mecanismos envolvidos. É aqui que a investigação futura em prébióticos e probióticos irá acrescentar valor ao conhecimento e evidência existentes. Devido à complexidade dos sistemas com que interagem, tais como a microbiota intestinal e o sistema imunitário, perceber os mecanismos que desencadeiam os benefícios para a saúde é um desafio científico.

A compreensão científica por detrás dos mecanismos de ação dos prebióticos e dos probióticos tem aumentado substancialmente nos últimos anos. Embora os efeitos sejam normalmente específicos da estirpe ou do produto em questão, alguns benefícios dos prebióticos e dos probióticos podem ser desencadeados por mecanismos

comuns e partilhados e podem, por isso, ser generalizáveis. A utilização de ferramentas fisiológicas e analíticas emergentes num ambiente de investigação multidisciplinar permitirá a elucidação de mecanismos adicionais. Desta forma, será possível melhorar o conhecimento sobre os efeitos na saúde dos prebióticos, probióticos e simbióticos.

Com base nas evidências científicas sólidas e recentes, esta monografia é um trabalho de referência valioso, que objectiva informar uma audiência abrangente sobre a microbiota intestinal, e os conceitos nutricionais de prebiótico e probiótico. Embora esta nova edição tenha sido completamente revista e atualizada, continuamos em dívida com aqueles que contribuíram para a primeira edição, incluindo o autor (Nino Binns), os editores (Glenn R. Gibson e Mary Ellen Sanders), os revisores (Nathalie Delzenne, Lorenzo Morelli) e outros que foram cruciais no processo inicial desta segunda edição.

Contacto: Naomi Venlet, Gestora de Projeto Científico de Prebióticos e Probióticos do ILSI *Europe* e Laila Zeraik, Gestora de Projeto Científico do ILSI Brasil.

Palavras-chave: Probióticos, prebióticos, microbiota intestinal, saúde, resposta imune.

Especialistas do grupo de trabalho *Prebiotics and Probiotics* do ILSI *Europe* e os autores desta monografia:

Oliver Chen

Marc Heyndrickx

Alexandra Meynier

Arthur Ouwehand

Bruno Pot

Bernd Stahl

Stephan Theis

Elaine Vaughan

Michela Miani

## INTRODUÇÃO

---

Os micróbios, ou microrganismos, incluem bactérias, fungos, leveduras e microalgas, entre outros. Existem em qualquer parte da Terra, incluindo ambiente hostis como os vulcões, nos fundos dos oceanos, no gelo do Ártico e do Antártico e nos desertos. Sendo incrivelmente diversos, estes organismos têm-se adaptado aos seus próprios nichos ao longo de mil milhões de anos. Para grande parte da população, os micróbios são mais conhecidos pelo seu papel no desenvolvimento de doenças, mas a sua ação vai muito para além do que apenas causar doença. Na verdade, eles são essenciais ao nosso planeta e mais recentemente tem aumentado a evidência sobre o seu profundo impacto na nossa saúde. Ao longo de vários milénios, a humanidade tem aproveitado o seu potencial na produção de produtos fermentados, incluindo produtos lácteos, vegetais, pão, vinho e cerveja. Devido ao seu potencial de ação muito selectivo, os micróbios são cruciais ao desenvolvimento e produção de produtos farmacêuticos, tais como antibióticos, e de ingredientes alimentares, como vitaminas, ácido cítrico e ácido acético. Estes organismos estão ainda envolvidos na produção de muitos outros químicos e enzimas, e são usados no processamento de resíduos.

A maioria das  $10^{13}$  bactérias existentes no intestino estão presentes no intestino grosso, ou cólon. Nas últimas décadas, o interesse na população microbiana intestinal - a microbiota - e o seu ambiente tem intensificado. Inúmeros estudos de investigação têm mostrado que os residentes habituais do intestino (microrganismos comensais), que estão longe de serem habitantes passivos do trato gastrointestinal (GI), interagem de

forma complexa com o seu hospedeiro. Eles podem modular o efeito de bactérias potencialmente prejudiciais ou afectar a fisiologia e a digestão do trato GI do hospedeiro. Mais recentemente, têm-lhes sido associadas mais funções além das demonstradas no intestino, como homeostasia da glicose, metabolismo das gorduras, imunidade e saúde mental.

A ideia de que bactérias de origem alimentar podem ser benéficas para a saúde surgiu na viragem do século 20 e é geralmente atribuída ao cientista russo Ilya Metchnikoff, vencedor do Prémio Nobel (Figura 1). Metchnikoff levantou a hipótese de que o consumo de grandes quantidades de produtos lácteos fermentados - leite acidificado - poderia prolongar e melhorar a qualidade de vida devido ao seu teor de bactérias lácticas que limitam a atividade de micróbios indesejáveis no cólon. Metchnikoff viu o trato intestinal como um órgão que poderia ser manipulado de forma a melhorar a saúde, pela adição dos tipos de bactérias certos. Como resultado, iogurtes comerciais e leites fermentados ganharam popularidade após a Primeira Guerra Mundial, mas foi apenas na década de 80 que as vendas de produtos com probióticos começaram a crescer rapidamente - primeiro no Japão e depois na Europa, nos anos 90.

Bactérias probióticas são definidas como “*Organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro*”. Os probióticos podem interagir com as bactérias comensais e ter um impacto direto no hospedeiro. Desvendar estas interações é um dos principais desafios para as investigações futuras. Outros desafios-chave

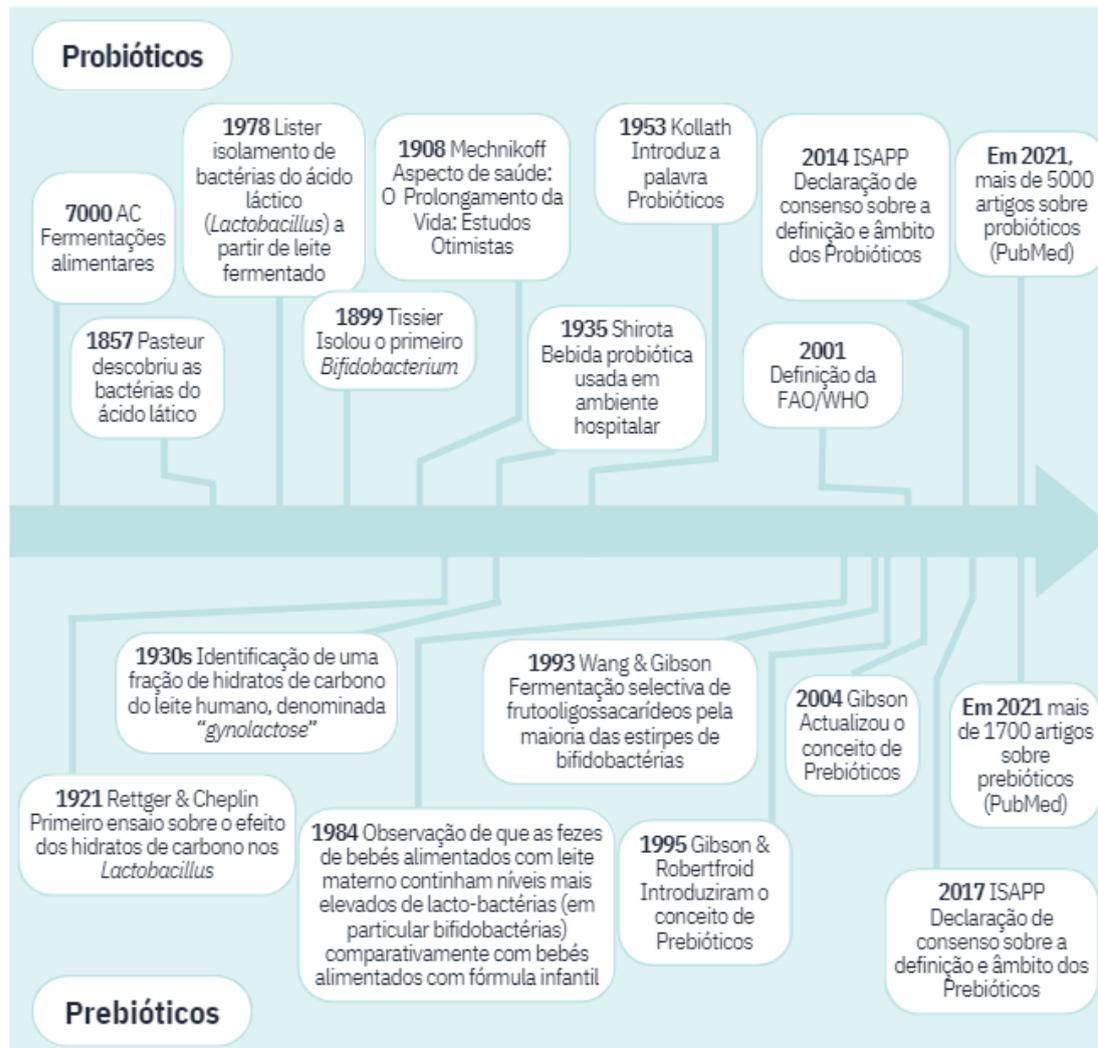
passam por perceber quais os mecanismos de ação, mapear quais as estirpes probióticas que conferem benefícios de saúde específicos, e definir os níveis de ingestão necessários para alcançar esses mesmos efeitos.

O conceito de prebiótico surgiu mais recentemente (Figura 1). Os Japoneses foram os primeiros a reconhecer o valor dos oligossacarídeos não digeríveis, inicialmente em animais onde a sua adição à ração de leitões ajudou a aliviar e a prevenir a diarreia. Investigadores Japoneses também reconheceram o valor dos oligossacarídeos no leite humano e mais tarde demonstraram que o consumo de fruto-oligosacarídeos (FOS) e galacto-oligosacarídeos (GOS) levaram não só a um aumento das bifidobactérias intestinais, bem como estimularam o seu crescimento no intestino humano. Contudo, foi apenas em 1995 que o conceito científico para a modulação da microbiota intestinal humana por “prebióticos” foi introduzido, e desde então a riqueza da informação científica tem-se acumulado. A mais recente definição de prebiótico, definida pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics - ISAPP) é “um substrato que é seletivamente utilizado pelos microrganismos do hospedeiro que conferem um benefício à saúde”.

Hoje em dia, a saúde digestiva é o foco de mais de 60% dos produtos alimentares funcionais em todo o mundo, sendo os produtos prebióticos e os probióticos os mais difundidos. Embora os probióticos e prebióticos possam ter como destino qualquer local do corpo, a maioria comporta-se como um ingrediente alimentar, atuando no trato intestinal. A partir daqui, eles atuam no hospedeiro por mecanismos de ação diferentes e complementares.

Esta monografia concisa irá descrever os conceitos de probióticos e prebióticos para uso na dieta humana e irá explorar as bases científicas existente para os potenciais benefícios à saúde humana. A investigação atual mostra que estes ingredientes alimentares oferecem possíveis benefícios à saúde com a razoável certeza de que não há consequências negativas para a população geral de consumidores saudáveis. Na verdade, uma variedade de prebióticos que existem naturalmente nos alimentos e vários probióticos, principalmente pertencentes ao antigo género *Lactobacillus* e ao género *Bifidobacterium*, são há muito tempo consumidos em todo o mundo quer como parte integrante de uma dieta tradicional, ou na forma de alimentos funcionais modernos e suplementos. Este é também o caso de micróbios do género *Saccharomyces*. Esta monografia não abrange os novos probióticos desenvolvidos a partir de pesquisas na microbiota da população, que não foram historicamente utilizados. Estes probióticos de nova geração estão recorrentemente ligados ao tratamento ou prevenção de doenças, enquadrando-se por isso na categoria de fármacos ou produtos bioterapêuticos vivos.

FIGURA 1.  
Representação temporal dos marcos relativos à investigação na área dos prébióticos e dos probióticos.



# O PAPEL DA MICROBIOTA DO TRATO GI NA SAÚDE E NA DOENÇA

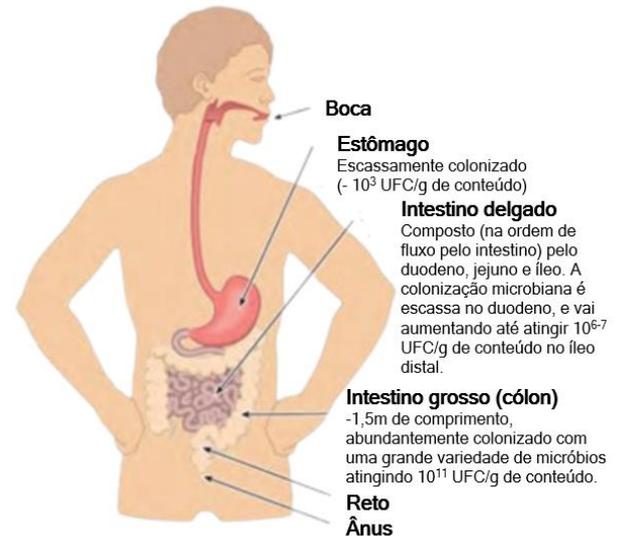
## A Microbiota do Trato GI

Os humanos são o *habitat* de muitos micróbios, os quais estão associados a tecidos como a pele, o trato vaginal, o trato respiratório e o trato GI. Existentes ao longo do trato GI, os micróbios diferem na sua composição e número dependendo da região (Figura 2), sendo a maioria residente no cólon.

Entre as inúmeras bactérias da cavidade oral, os estreptococos são as mais comuns. Embora as bactérias não colonizem o estômago em elevado número, devido ao valor de pH baixo, e tempo curto de trânsito, o estômago de um adulto saudável pode ainda conter certa de  $10^3$  bactérias em cada mililitro (ml) de conteúdo estomacal, sendo os principais habitantes os lactobacilos, enterococos, *Helicobacter* e bacilos. O duodeno tende também a ser ácido, caracterizado por um trânsito rápido, presença de secreções pancreáticas e biliar que criam um ambiente hostil para os micróbios. Aqui, os lactobacilos e os estreptococos predominam com contagens de células variando entre  $10^2$ - $10^4$  por ml. Ao longo do jejuno, e particularmente do íleo, há um aumento gradual do número e da diversidade bacteriana. Finalmente, o cólon contém a maioria dos micróbios do trato GI, com cerca de  $10^{11}$  organismos por ml de conteúdo intestinal.

Antes do nascimento, o trato GI é desprovido de microrganismos, mas rapidamente estes colonizam-no durante e após o nascimento. A composição exata da microbiota intestinal depende de fatores

**FIGURA 2.**  
O trato gastrointestinal humano.



Fonte: Binns N (2013).

tais como o tipo de parto e o ambiente onde o parto ocorre, a microbiota da mãe e o tipo de alimentação. Em lactentes saudáveis alimentados por aleitamento materno, as bifidobactérias dominam a microbiota fecal. Por outro lado, lactentes saudáveis alimentados por fórmula infantil têm mais precocemente uma maior variedade de organismos. Para além das bifidobactérias, estão incluídos bacteroidetes, clostrídios, enterobactérias e estreptococos. Contudo, hoje em dia, a suplementação das fórmulas infantis com prebióticos resulta num efeito bifidogénico semelhante ao do leite materno. Após o desmame, o número e a diversidade da microbiota intestinal mudam gradualmente assemelhando-se ao de um adulto.

Uma vez estabelecida na criança uma microbiota semelhante à de adulto, por volta dos 2 ou 3 anos de idade, esta é relativamente estável mas sujeita a influências por factores relacionados com o estilo de vida, tais como a alimentação, doença, antibióticos ou outra medicação, e o envelhecimento. Os micróbios do intestino podem ser comensais (micróbios colonizadores nativos de cada pessoa) ou transientes (micróbios apenas de passagem), e eles podem ser benéficos, potencialmente perigosos ou patogénicos. Os micróbios considerados benéficos normalmente fermentam hidratos de carbono, não produzem toxinas e podem, por exemplo, interagir com o sistema imune ou inibir patogénicos por exclusão competitiva. Tais micróbios incluem *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e lactobacilos.

O cólon humano contém cerca de mil espécies anaeróbias, incluindo os filos bacterianos dominantes Bacteroidetes e Firmicutes, e os filos minoritários Actinobacteria, Proteobacteria, e Verrucomicrobia, e o reino Archaea. Existem inúmeros projetos a investigar a microbiota humana, o microbioma (a microbiota e os seus genes) e a sua relação com o estado de saúde. Claramente, a microbiota intestinal evoluiu com os humanos ao longo de milhões de anos e é essencial para o desenvolvimento pós-natal normal e para a saúde do adulto. Conforme as seguintes secções descrevem, os próprios micróbios e as suas fermentações aneróbicas de alimentos não digeridos, fibras e prebióticos em ácidos gordos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR), bem como derivados de indol e outros produtos da fermentação de

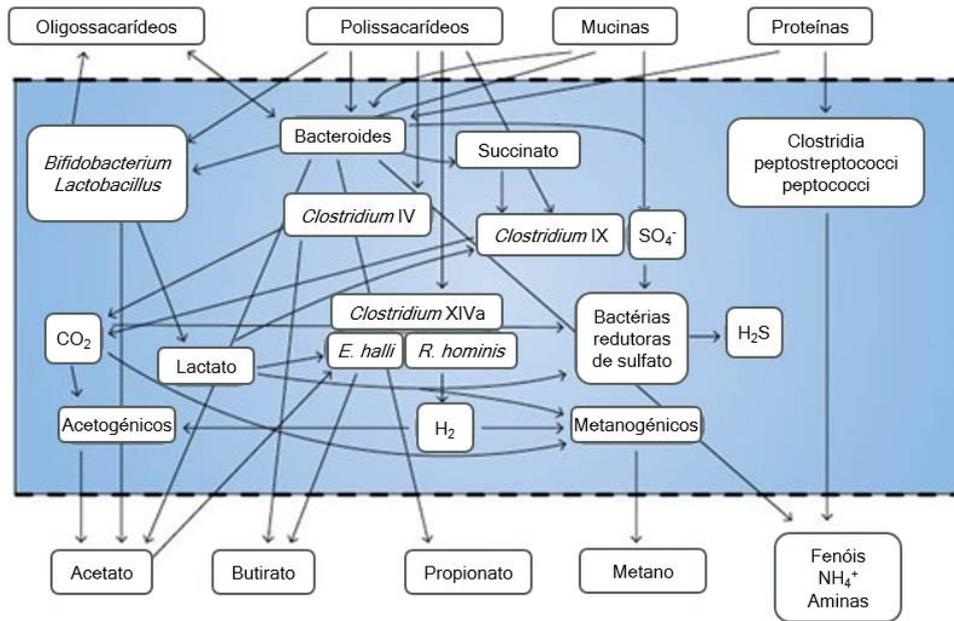
proteínas, desempenham um papel fundamental na nossa saúde.

Devido à diversidade considerável da microbiota entre indivíduos, aos inúmeros factores que afectam a composição, ao conhecimento insuficiente sobre as funções das espécies que constituem a microbiota e ao desafio que é estudar o que passa no interior do trato GI, ainda não é possível definir uma microbiota "saudável" ou "normal". No entanto, desequilíbrios relativamente à diversidade, composição ou função da microbiota habitual, conhecido como disbiose, têm sido observados em vários estádios de doença. Ainda assim, ainda está por perceber e sob investigação se a microbiota causa ou causa parcialmente o estado de doença, ou se a mudança nos micróbios é o resultado da própria doença. Neste sentido, várias abordagens estão a ser usadas, tais como a transferência da microbiota intestinal humana para modelos animais axénicos (livres de germes) ou tratados com antibióticos. Investigações recentes sugerem que a microbiota não é simplesmente uma coleção de microrganismos mas reflete uma inter-relação entre diferentes grupos bacterianos que podem trabalhar conjuntamente em benefício do hospedeiro. Com base na evidência atual, pode dizer-se que uma grande diversidade de organismos no trato GI é geralmente benéfica para o hospedeiro.

Alterações na microbiota podem resultar de vários factores tais como a dieta (rica em fibra, proteína ou gordura, etc.), o ambiente (*stress*), a genética, infeção do trato GI, ou o uso de antibióticos orais no

**FIGURA 3.**

Diagrama esquemático da principal atividade metabólica bacteriana no cólon.



Fonte: Prof. R. Rastall, University of Reading.

tratamento de doenças. Algumas alterações podem ser rapidamente corrigidas sem intervenção, fazendo a microbiota voltar ao “normal” para o indivíduo em questão. No entanto, é possível que algumas situações, por exemplo o uso repetido de antibióticos ou determinadas dietas (desnutrição ou sobrenutrição) possam resultar numa disrupção permanente da microbiota. A capacidade dos prebióticos e probióticos em acelerar ou melhorar a correção da microbiota após um evento que tenha causado danos, tem sido objeto de pesquisa.

Todos os indivíduos abrigam micróbios que têm potencial oportunístico e patogênico. O intestino delgado é o principal alvo de várias infecções exógenas como rotavírus, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* e alguns tipos de *Escherichia coli*, usualmente contraídos por consumo de águas ou alimentos contaminados. Presente no cólon, o *Clostridioides difficile* está entre os mais importantes e pode causar diarreia e inflamação graves quando as condições do intestino estão

alteradas por doença ou medicação, permitindo a sua proliferação. Outros micróbios do cólon indesejáveis como bactérias proteolíticas e bactérias redutoras de sulfato não causam doença aguda, mas podem estar associadas à produção de toxinas, pré-carcinogénicos, carcinogénicos e gases tóxicos, como o sulfeto de hidrogénio. Como consequência, o hospedeiro pode tornar-se mais susceptível a patogénicos transientes, diarreia associada a antibióticos (DAA), e possivelmente doença inflamatória intestinal (DII) e síndrome do intestino irritável (SII).

## Fermentação Bacteriana e Metabolismo

Sendo organismos vivos, todos os micróbios requerem uma fonte de energia para crescerem e se reproduzirem. Muitos fermentam hidratos de carbono (fermentação sacarolítica), uma capacidade que os humanos aproveitam na produção de vários produtos alimentares e bebidas. Por exemplo, na produção de vinho, as leveduras fermentam os açúcares do sumo da uva para produzir álcool. Na produção de iogurte, bactérias como os lactobacilos e estreptococos fermentam o açúcar do leite (lactose), produzindo ácido láctico, que proporciona um sabor azedo característico. Na produção de *sauerkraut*, bactérias naturalmente presentes no repolho fermentam os açúcares para formar ácido láctico na ausência de oxigénio e na presença de 2-3% de sal.

Da mesma maneira, os micróbios na primeira parte do cólon satisfazem as suas necessidades energéticas fermentando resíduos alimentares endógenos que escaparam à digestão e à absorção no trato GI superior

(Figura 3). Muitos metabolizam hidratos de carbono e fibras alimentares incluindo polissacarídeos (tais como pectinas, hemiceluloses, goma de acácia e outras gomas, inulina e amidos resistentes), oligossacarídeos (tais como rafinose, estaquiose, fruto-oligosacarídeos, galacto-oligosacarídeos e dextrinas resistentes), açúcares (lactulose, lactose não absorvida e frutose não absorvida) e polióis (tais como o manitol, lactitol, maltitol e isomalte). As principais espécies na microbiota do cólon que fermentam hidratos de carbono pertencem aos géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* e lactobacilos. Esta actividade microbiana resulta na produção de AGCC, principalmente os ácidos acético, propiónico e butírico e o ácido láctico, que é maioritariamente convertido a ácido acético e ácido propiónico e gases pelos micróbios intestinais. Os gases produzidos H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, podem contribuir para o equilíbrio da microbiota. A natureza dos produtos de fermentação depende parcialmente do substrato, bem como do tipo de bactérias envolvidas (Figura 3) e outros factores individuais do hospedeiro. Os AGCC são absorvidos, aumentando a absorção de água e sais e fornecendo uma fonte de energia ao hospedeiro, enquanto os gases são metabolizados por outros micróbios, absorvidos, libertados como flatos ou exalados.

As bactérias também metabolizam outros componentes encontrados no seu meio (Figura 3). Além dos alimentos consumidos pelo hospedeiro e não totalmente digeridos, as células bacterianas degradadas, as mucinas derivadas do hospedeiro, as enzimas e células intestinais descamadas são também substratos para o crescimento bacteriano. As espécies de peptostreptococcus e clostrídios metabolizam proteínas como fonte de azoto para o crescimento e

produção de AGCR, tais como isobutirato e isovalerato, bem como vários compostos azotados e com enxofre, alguns dos quais podem ser prejudiciais. Por exemplo, amónia, aminas e compostos fenólicos podem, sob certas condições, levar à formação de carcinogénicos, particularmente no cólon descente esquerdo, onde condições de putrefação podem prevalecer. Fitoquímicos, como isoflavonas e polifenóis, também são metabolizados para a produção de compostos mais pequenos como o equol e moléculas fenólicas simples que são mais rapidamente absorvidas. O impacto desta actividade microbiana na saúde humana está ainda sob investigação.

À medida que as bactérias crescem em número, elas compõem uma parte da massa fecal que se forma no reto. Um grande volume de fezes está associado a um menor tempo de trânsito intestinal e a um menor risco de obstipação e cancro do intestino. Se a ingestão de fibras fermentáveis for subitamente aumentada, pode ter como consequência o desconforto intestinal, incluindo distensão abdominal, dor e fezes moles. No entanto, a habituação geralmente acontece, e estes sintomas tendem a desaparecer. Embora as fontes de fibras alimentares não fermentáveis como a fibra de farelo de trigo, sejam os contribuintes mais importantes para o volume das fezes, a massa bacteriana resultante da fermentação de fibras alimentares mais solúveis e de resíduos de hidratos de carbono também contribuem para a consistência e volume das fezes.

## **A Barreira Epitelial Intestinal e o Sistema Imunitário**

O trato GI é algumas vezes descrito como o maior órgão imunológico do corpo. Representa a maior área de contacto da mucosa do hospedeiro com o ambiente e contém 80% das células imunológicas. A microbiota intestinal é também uma parte vital do sistema de defesa humano.

Acredita-se que o trato GI de um recém-nascido seja essencialmente estéril e tolerogénico, uma vez que não deve rejeitar produtos ou células maternas. O sistema imunológico só se torna funcionalmente maduro e reativo após a exposição das células imunes à miríade de substâncias estranhas no trato intestinal. Estudos em animais criados em condições axénicas mostraram que o seu sistema imunológico é pouco desenvolvido e que possuem níveis mais baixos de imunoglobulinas e menos células imunes especializadas na sua mucosa intestinal, quando comparados com os animais tradicionalmente criados. Animais isentos de germes são, assim, muito mais susceptíveis a doenças quando comparados com aqueles que são tradicionalmente criados. A partir destes estudos sabe-se também que antigénios microbianos derivados da microbiota intestinal bem como do meio ambiente, desempenham um papel importante na maturação do sistema imune. O sistema imunológico intestinal é composto por células imunes dispersas que estão alinhadas entre as células do epitélio intestinal e o tecido linfoide associado ao intestino (*gut-associated lymphoid tissue* - GALT).

O GALT é organizado em diferentes compartimentos tais como linfonodos, folículos linfáticos e placas de Peyer (Figura 4). O GALT é responsável por regular respostas

imunes adequadas, o que implica uma resposta forte e bem regulada a intrusos indesejados ou respostas mais tolerogénicas a microrganismos e componentes alimentares desejados. Para levar a cabo estas tarefas, células especializadas, como as células M que cobrem as placas de Peyer e as células dendríticas, que atuam como sentinelas ao longo da mucosa, permitem a passagem de antígenos específicos - amostras diminutas de bactérias viáveis ou mortas e fragmentos de proteínas e peptídeos. Os antígenos são transferidos desde as células M para as células dendríticas. Estas células dendríticas processam e apresentam os antígenos aos linfócitos, um tipo de célula imune, atuando assim como células-apresentadoras de antígeno (*Antigen Presenting Cells* - APCs). Neste sentido, as APCs são muito importantes na estimulação de uma resposta imune equilibrada e, como tem sido cada vez mais documentado, o seu impacto vai para além do intestino (ver “Interações com o Hospedeiro” na página 45). Tem-se colocado a hipótese de que uma exposição reduzida a micróbios em países industrializados tem levado a uma incidência aumentada de disfunção imune crónica, levando a doenças atópicas (alergia) e auto-imunes ou DII, devido a mudanças na forma como o sistema imunológico amadureceu. Isto é conhecido como a “hipótese da higiene”.

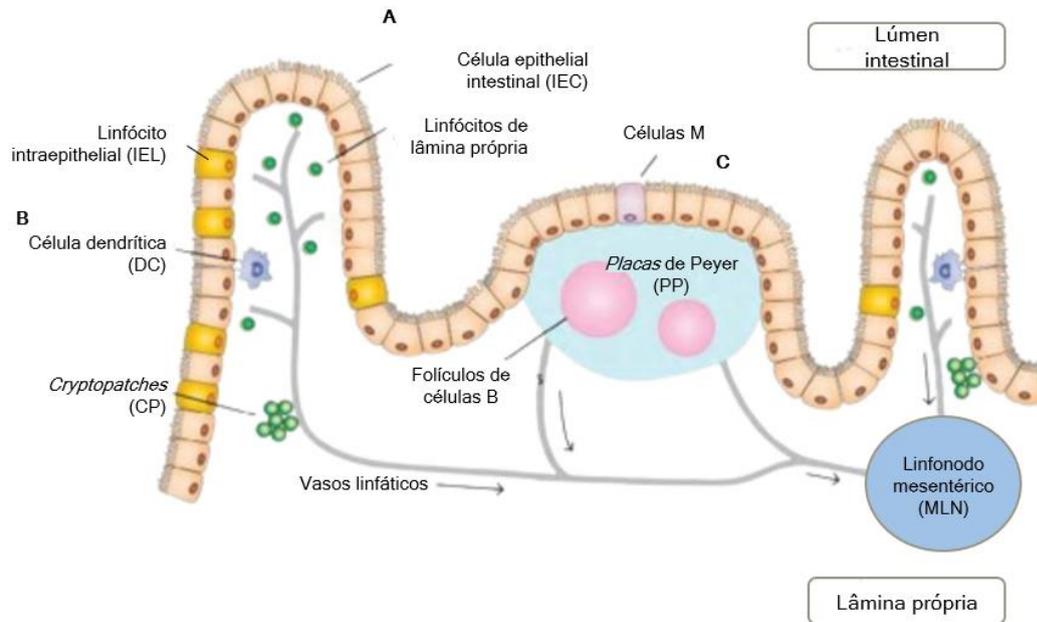
A integridade do revestimento epitelial do trato GI é crítica para a saúde. Uma barreira intestinal rompida, também chamada de intestino permeável, está envolvida em várias doenças. Num estado saudável, as células epiteliais formam uma barreira firme que é a primeira linha de defesa contra patogénicos. Proteínas conhecidas como ocludinas e claudinas auxiliam no policiamento do pequeno espaço intercelular (junção de

oclusão) entre células para controlar o acesso de moléculas e partículas estranhas. Outro tipo de célula

responsável pela função barreira é a célula caliciforme, que pode ser encontrada entre as células epiteliais. As células caliciformes secretam mucinas - glicoproteínas de elevado peso molecular, que são o principal componente do muco. A camada de muco ajuda a proteger as células epiteliais subjacentes de danos mecânicos e da ação direta de compostos químicos que são ingeridos ou endogenamente derivados de secreções intestinais. O muco é também uma fonte de energia para muitos dos microrganismos intestinais.

O AGCC ácido butírico ajuda a manter a barreira intestinal intacta servindo como uma importante fonte de energia para as células epiteliais que revestem o cólon e estimulando o crescimento e a diferenciação das células epiteliais. O butirato é também conhecido por estimular a produção de muco pelas células caliciformes. A quantidade e composição do muco produzido pelo intestino varia de acordo com o local. O intestino delgado tem uma camada de muco espessa e bastante móvel, enquanto o cólon tem duas camadas: uma camada móvel semelhante à do intestino delgado e uma segunda camada mais fina que é muito mais viscosa e menos permeável. Embora os micróbios residam maioritariamente no lúmen do trato GI, eles estão também associados à camada de muco. Se a camada de muco estiver comprometida, os micróbios podem aderir às células que revestem certas áreas do intestino.

**FIGURA 4.** Visão geral esquemática dos elementos linfóides do sistema linfóide associado ao intestino.



As placas de Peyer (PP) e os linfonodos mesentéricos (*mesenteric lymph nodes* - MLN) são folículos linfóides intestinais organizados. (A-C) Vias de captação do antígeno intestinal: antígeno luminal pode ser captado por células epiteliais intestinais (A), por células dendríticas da lâmina própria interdigital (B) e por células M (C). A drenagem linfática das PP e da lâmina própria das vilosidades segue para os MLNs (direção do fluxo da linfa indicada pelas setas).

delgado. É aqui que os micróbios benéficos podem competir contra agentes patogênicos. Juntos, o epitélio e o muco formam uma barreira contra agentes patogênicos, que é reforçada pelas células especializadas de Paneth. Localizadas nas criptas do intestino delgado, as células de Paneth produzem péptidos antibacterianos conhecidos como defensinas, enzimas defensoras como a lisosima e citocinas. A função barreira intestinal mantém-se em estreita colaboração com a microbiota humana.

Os AGCC produzidos pela microbiota são mediadores chave na geração de linfócitos tolerogênicos. Para além disso, estes AGCC derivados da microbiota podem atenuar mediadores inflamatórios e prevenir respostas imunológicas excessivas, por exemplo ligando-se a receptores especiais, chamados de receptores acoplados à proteína G, que migram pelo

corpo. Ademais, o butirato pode regular a expressão de centenas dos nossos genes mediante a inibição da histona deacetilase, que pode também modular a inflamação no corpo. Os AGCC podem por exemplo atuar nas células sanguíneas imaturas da medula óssea, um local importante do desenvolvimento de células imunitárias inatas e adaptativas, para promover a geração e desenvolvimento de células imunitárias especializadas. Desta forma, a alimentação e a microbiota estão associadas ao eixo intestino-pulmões e podem ter impacto na inflamação das vias aéreas e nas consequências de uma infecção respiratória. Evidências emergentes mostram também que os AGCC atuam em células do cérebro para atenuar mediadores pró-inflamatórios e aceleradores da depressão. Isto suporta a ideia de que a dieta e a microbiota estão ligadas ao eixo intestino-cérebro e que podem afetar o comportamento e a sensação de bem-estar.

### **Técnicas para explorar a Microbiota Intestinal**

No passado, quer fossem derivados dos alimentos, do sangue, dos tecidos ou fossem excretados, os micróbios obtidos a partir da sua fonte inicial eram caracterizados por cultura em laboratório. Os microrganismos cultivados poderiam então ser contados e identificados por microscopia, testes bioquímicos e outros testes de identificação taxonómica.

A amostragem fecal sempre foi a base das análises da microbiota intestinal humana, especialmente devido à acessibilidade limitada a outros locais gastrointestinais. Os microrganismos expelidos nas fezes não refletem

necessariamente o que pode ser encontrado no restante intestino, especialmente na parte superior, sendo esta uma limitação inerente a esta abordagem. Mesmo amostras de biópsias ao cólon podem não refletir com precisão a microbiota atual, uma vez que, antes de sua excisão, o cólon é limpo com laxantes, perturbando a microbiota endógena. Outro desafio em perceber a composição da microbiota intestinal prende-se com o facto de que há inúmeros micróbios que ainda não foram cultivados com sucesso em condições laboratoriais.

No início da década de 1990, investigadores desenvolveram uma técnica chamada hibridização *in situ* fluorescente. Ao usar sondas fluorescentes dirigidas a regiões altamente variáveis do ácido ribonucleico ribossomal 16S (rRNA) dentro das células bacterianas, diferentes espécies e até subespécies de bactérias podem ser identificadas e quantificadas. A partir de meados da década de 1990, a introdução da análise da sequência do ADN ribossomal 16S, normalmente realizada por reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction* - PCR), permitiu aos microbiólogos detectar e identificar microrganismos sem terem que os cultivar. Estas técnicas permitiram a deteção e identificação mais precisas de uma grande variedade de espécies, especialmente aquelas que eram anteriormente desconhecidas ou difíceis de cultivar a partir de amostras fecais ou intestinais. A análise de amostras fecais sem ser por cultura levou, assim, a um aumento da compreensão da complexidade da microbiota intestinal. As técnicas modernas permitiram também a análise em paralelo de um elevado número de amostras, aumentando o conhecimento da variação inter-individual e a estabilidade da microbiota intestinal no mesmo indivíduo.

O co-desenvolvimento de tecnologia de sequenciação de ADN de alto rendimento e da bioinformática permitiu a aglomeração e a análise de grandes quantidades de dados. Com estas ferramentas, os investigadores embarcaram em novos projetos de grande dimensão para estudar o microbioma humano - os genomas coletivos de todos os microrganismos do corpo humano. Grandes consórcios de investigação começaram a estudar e a caracterizar a população microbiana completa dos intestinos humanos e de outras partes do corpo humano, com o objetivo de associar a composição e a função do microbioma com a saúde e a doença. Projetos notáveis incluem *US-led Human Microbiome Project*, *Europe-led MetaHIT project*, *Flemish Gut Flora Project*, *Dutch Microbiome Project*, *American Gut Project* e *Million Microbiome of Humans Project* (MMHP). Uma grande fração da investigação atual sobre probióticos e prebióticos interage com estes programas de investigação sobre bactérias comensais. Todos estes projectos irão ajudar na perceção do papel dos micróbios, quer comensais ou ingeridos, na saúde humana.

atualmente muito elevados para capturar todos os componentes minoritários da microbiota intestinal, é razoável assumir que será algo a ser melhorado no futuro. Computadores mais poderosos e novos algoritmos estatísticos serão também necessários para lidar com a crescente quantidade de dados.

Nas últimas duas décadas houve um tremendo progresso nas análises à microbiota intestinal. Várias técnicas moleculares tornam, hoje, possível a investigação dos membros desconhecidos da microbiota, da sua funcionalidade e permitem, ainda, acompanhar estirpes específicas. Contudo, ainda vários desafios permanecem. Como mencionado anteriormente, sendo a análise restrita principalmente a amostras fecais, estas podem não ser representativas da microbiota da parte superior do trato GI ou da microbiota da mucosa. Em termos analíticos, as novas técnicas permitem análises precisas e quantitativas da microbiota. Embora os limites de deteção possam ser

## O CONCEITO DE PROBIÓTICO

### Definição e História

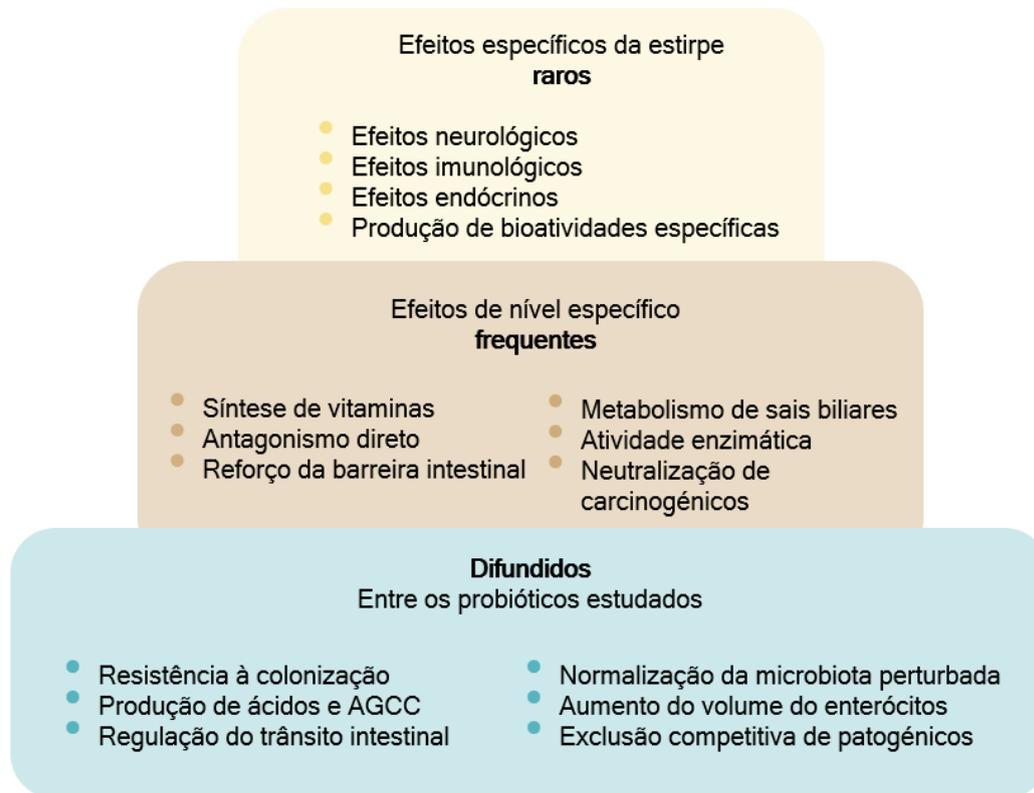
A palavra “probiótico” (origem: Latim “pro” = para e Grego “bios” = vida) foi usada a primeira vez em 1954 como referência a substâncias necessárias para uma vida saudável. A definição mais comumente usada e aceita é a proposta pelo ISAPP “*Microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro*”. Esta definição é uma versão corrigida em termos gramaticais da definição proposta em 2001 pelo grupo de especialistas consultores da FAO/OMS. A especificidade da função probiótica da estirpe é uma pedra angular bem aceita na área dos probióticos e refere-se à necessidade de interligar benefícios específicos dos probióticos a estirpes específicas e doses. Contudo, enquanto alguns benefícios podem ser característicos de estirpes específicas, alguns dos mecanismos que levam a benefícios dos probióticos podem ser transversais entre alguns grupos taxonômicos. Isto está ilustrado na pirâmide representada na Figura 5.

Como mencionado anteriormente, a proposta original de que certas bactérias podem beneficiar a saúde humana é normalmente atribuída a Ilya Metchnikoff, que trabalhou no Instituto Pasteur nos inícios do século 20. Os seus contributos ainda ressoam hoje em dia: “*A dependência dos micróbios intestinais dos alimentos torna possível a adoção de medidas para modificar a flora no nosso corpo e substituir os*

*micróbios prejudiciais por micróbios saudáveis*” e “*investigações sistemáticas devem ser realizadas sobre a relação dos micróbios intestinais com a velhice precoce e sobre a influência das dietas que previnem a putrefação intestinal no prolongamento da vida e na manutenção do funcionamento do organismo.*” Um pediatra Francês, Henry Tissier, também publicou, sensivelmente na mesma época, informação do seu trabalho sobre crianças com diarreia. Ao descobrir que as fezes destas crianças eram compostas por menos bactérias pouco comuns em formato de Y (bífidas) do que as existentes nas fezes dos seus pares saudáveis, ele sugeriu que pacientes com diarreia poderiam ser tratados com as bactérias “bífidas” para ajudar a restaurar uma microbiota intestinal saudável.

Até há não muito tempo, a investigação científica de qualidade focada nos supostos benefícios dos probióticos foi de alguma forma limitada uma vez que a complexidade do ecossistema intestinal foi largamente subestimada. Contudo, nas últimas três décadas, a investigação progrediu. Com a aplicação de técnicas moleculares, houve grandes avanços tanto na caracterização de probióticos específicos como na compreensão dos seus mecanismos de ação e efeitos na saúde.

**FIGURA 5.** Os efeitos dos probióticos são considerados estirpe-dependentes, pelo que não podem ser extrapolados para estirpes da mesma espécie. Contudo, há efeitos transversais observados em várias estirpes probióticas de diferentes espécies.



Reimpresso com a permissão de Springer Nature Customer Service Centre GmbH: Springer Nature, Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology "The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic" Hill C et al., Copyright © 2014, 11, pages506-514, doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66

## A seleção de candidatos a Probióticos

Para além da segurança, a seleção de estirpes probióticas é motivada principalmente pelo seu potencial em conferir benefícios à saúde humana. Quando aplicados em alimentos e suplementos alimentares é comumente aceite que os probióticos têm que sobreviver até chegarem à parte do trato GI onde irão exercer o efeito pretendido. Por exemplo, de forma a serem ativos no cólon, os probióticos têm que resistir às enzimas salivares, ao ácido estomacal, às secreções biliares e às enzimas do intestino delgado, bem como às mudanças de pH e meio químico de outros alimentos e bebidas encontrados durante a sua passagem ao longo do trato GI. Têm, ainda, que competir com as bactérias residentes. Finalmente, uma estirpe probiótica tem que preencher numerosos requisitos tecnológicos, tais como, possibilidade de cultivo em grande escala, estabilidade genética, e viabilidade no alimento ou suplemento alimentar. Assim, o desenvolvimento de estirpes probióticas adequadas, que sejam valiosas para estudos futuros é um processo muito complexo e detalhado que pode exigir um esforço de investigação substancial.

Os probióticos mais frequentemente usados em alimentos são espécies pertencentes ao anterior género *Lactobacillus* e ao género *Bifidobacterium*, mas *Escherichia coli*, bacilos e leveduras como a *Saccharomyces* spp., também têm sido usadas. Os probióticos têm sido isolados da microbiota comensal de humanos saudáveis, do meio ambiente ou a partir de alimentos, em especial alimentos fermentados. Alguns, mas não todos os probióticos, são capazes de se replicar e persistir no intestino, pelo menos temporariamente, no entanto desaparecem alguns dias após o consumo ter terminado. Conforme recomendado por organizações como o ISAPP e o IPA, há uma série de etapas

importantes necessárias para caracterizar estirpes. Estes critérios estão resumidos na Tabela 1.

**TABELA 1.**  
Critérios para classificação de probióticos

Caracterização taxonómica de estirpes que foram depositadas na coleção internacional de culturas sob o Tratado de Budapeste
Demonstração de segurança da estirpe, de acordo com o seu uso pretendido
Benefício à saúde bem definido, demonstrado por pelo menos um estudo relevante em humanos
Viabilidade suficiente no final da vida útil do produto de forma a proporcionar um benefício à saúde

## Caracterização e Taxonomia

A determinação do género, espécie e estirpe é essencial para a caracterização completa de um micróbio. Com recurso às metodologias atuais, o fenótipo e o genótipo de um micróbio pode ser determinado levando à correta atribuição de um género, espécie e, possivelmente, sub-espécie ou para servir de base para a descrição de um novo táxon. Para além disso, diferentes estirpes da mesma espécie podem ser distinguidas mediante propriedades genéticas e fisiológicas únicas.

A taxonomia proporciona uma primeira visão das propriedades fisiológicas e metabólicas, de um organismo incluindo quaisquer potenciais preocupações relativas à sua segurança. A caracterização taxonómica

completa de probióticos é necessária para a identificação e a nomenclatura adequadas de qualquer estirpe. Assim, é garantida uma adequada descrição de estirpes probióticas de forma a que ensaios clínicos possam ser repetidos, e dossiers de alegações de saúde possam ser avaliados. Os métodos moleculares modernos são de longe mais fiáveis que os métodos fenotípicos para a identificação de espécies e estirpes. Graças ao progresso tecnológico recente, a sequenciação do genoma completo de uma estirpe já não é tão caro ou demorado, e a informação obtida pode fornecer o nível de detalhe esperado de caracterização de estirpes, e permitir uma comparação de estirpes taxonomicamente relacionadas.

O Código Internacional de Nomenclatura tem que ser seguido na nomenclatura de todos os microrganismos (Figura 6). Em 2020, uma revisão taxonómica do anterior género *Lactobacillus* foi publicada, sendo que atualmente o género compreende 25 géneros. Os antigos e os actuais nomes dos microrganismos pertencentes ao anterior género *Lactobacillus* podem ser facilmente encontrados numa ferramenta disponível online (<http://lactobacillus.uantwerpen.be/>).

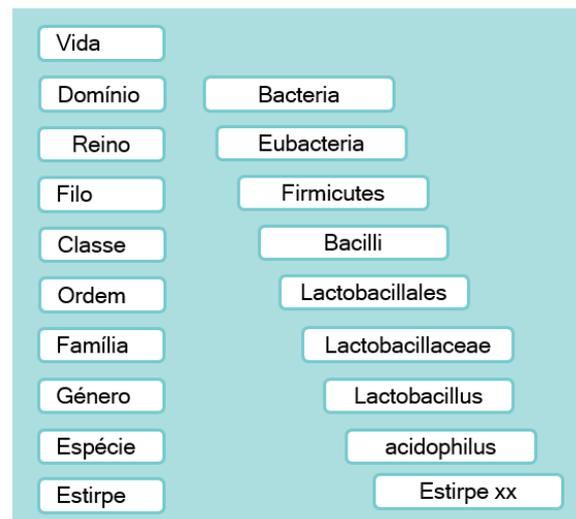
## Segurança

Muitos dos organismos probióticos pertencem a géneros representados no grupo funcional de bactérias conhecido como bactérias do ácido láctico, que têm sido consumidos de uma forma segura durante vários anos, e como tal, são considerados ingredientes alimentares seguros. Para formalizar e subscrever este princípio, a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority* - EFSA) desenvolveu um sistema de

avaliação de segurança pelo qual os microrganismos podem obter o estatuto de presunção qualificada de segurança (*Qualified Presumption of Safety* - QPS). Em breves palavras, isto permite que uma avaliação da segurança de grupos de microrganismos selecionados de um grupo taxonómico definido (por exemplo género ou grupo de espécies relacionadas) seja feita com base em quatro pilares: identidade, conhecimento estruturado, possível patogenicidade e uso final. Se o grupo taxonómico e a caracterização ao nível da estirpe não levantar questões de segurança, ou se não houver questões de segurança a serem definidas e excluídas, o organismo pode receber o estatuto de QPS.

**FIGURA 6.**

Exemplo do Código da Nomenclatura



(<https://www.bacterio.net/>)

Assim, para qualquer estirpe de microrganismo que demonstrar inequivocamente que pertença a um grupo QPS qualificado, tais como lactobacilos ou *Bifidobacterium*, a avaliação da segurança é limitada a testes de resistência a antibióticos. No caso do microrganismo não ser considerado QPS, é provável que seja necessária uma avaliação de segurança abrangente, antes de poder ser usado em alimentos.

Nos Estados Unidos, a segurança de estirpes probióticas usadas em alimentos pode ser avaliada usando o processo Geralmente Reconhecido como Seguro (*Generally Recognized as Safe* - GRAS), enquanto que nos probióticos usados em suplementos alimentares pode usar-se o processo Novo Ingrediente Alimentar (*New Dietary Ingredient* - NDI). Ambos os processos podem resultar em notificação à Administração de Alimentação e Fármacos (*Food and Drug Administration* - FDA), embora o ónus do uso seguro seja da responsabilidade do fabricante.

## **Aplicações de Probióticos nos alimentos**

Os organismos probióticos são usados numa grande variedade de alimentos, sendo a maior categoria a dos produtos lácteos, ou como suplementos alimentares em cápsulas, em pó ou em formato de tablete. Uma vez que a viabilidade é uma propriedade essencial de um probiótico, o produto final deve conter uma quantidade adequada de microrganismos vivos de forma a proporcionar o benefício de saúde documentado até ao final do seu tempo de vida útil. A adição de probióticos aos alimentos ou a

suplementos alimentares requer a documentação dos benefícios demonstrados com o produto alimentar e a estirpe em questão, em ensaios de qualidade em humanos. Estes estudos devem também ser capazes de demonstrar a dose segura e efetiva do organismo probiótico no alimento em questão. À semelhança da legislação em segurança alimentar, a regulamentação das alegações de saúde nos alimentos varia de acordo com o país e a região. Alegações em produtos comerciais contendo probióticos devem obedecer a critérios que, em alguns casos, incluem uma aprovação pré-comercial da alegação pelas autoridades reguladoras. Por exemplo, a aprovação de alegações de saúde nos Estados Unidos é gerida pela FDA e na Europa pela EFSA.

## O CONCEITO DE PRÉBIOTICO

### **Definição e História**

Os Japoneses foram os primeiros a reconhecer o valor dos oligossacarídeos fermentáveis, inicialmente na alimentação de leitões e mais tarde, durante os anos 80, com a identificação de oligossacarídeos no leite humano. Contudo, foi apenas em 1995 que o conceito de prebiótico na modulação da microbiota humana foi introduzido por Gibson e Roberfroid, que demonstraram um crescimento selectivo de bifidobactérias após o consumo de inulina ou oligofrutose. A definição de prebiótico continua a evoluir, tendo sido a mais recente acordada numa reunião de consenso do ISAPP em 2017: *“Um prebiótico é um substrato que é seletivamente utilizado pelos microrganismos do hospedeiro que conferem um benefício à saúde”*.

### **Caracterização de Ingredientes Prebióticos**

Embora não seja um requisito estipulado na definição de prebiótico, os estudos realizados até então têm-se focado maioritariamente em compostos derivados dos hidratos de carbono como fonte de atividade prebiótica. Grande parte das pesquisas têm estudado frutanas, especialmente o polissacárido inulina ou os FOS extraídos de cereais como as raízes de chicória, FOS sintetizados a partir de sacarose ou GOS produzidos enzimaticamente a partir de lactose. Estudos em humanos com estes ingredientes confirmaram fermentação seletiva e alterações na microbiota.

Estes estudos também têm sido associados a benefícios à saúde, aprovados pelo ISAPP. Os numerosos candidatos a prebióticos e os prebióticos emergentes incluem oligossacáridos específicos do leite humano (*human milk oligosaccharides* - HMOs), lactulose e outros oligossacáridos, dextrinas resistentes, polissacáridos sintéticos como polidextrose, arabinoxilanas e amidos resistentes, polifenóis e polióis como lactitol e isomalte.

Alguns prebióticos existem naturalmente nos alimentos como a chicória ou outras plantas edíveis como o alho-francês, a cebola, a alcachofra-girassol, o trigo ou o agave. Contudo, a maioria dos alimentos contém apenas pequenas quantidades. Assim, tem-se tentado refinar os ingredientes ativos desses alimentos ou produzi-los por síntese - por exemplo síntese enzimática, química ou por processos térmicos.

Muitos dos prebióticos e candidatos a prebióticos enquadram-se na definição nutricional e regulamentar de hidratos de carbono não digeríveis e/ou fibra alimentar\*, sendo categorizados como tal nas declarações nutricionais. Tal como a fibra alimentar, os prebióticos são resistentes à digestão, e algumas fibras partilham da sua capacidade para fermentar. Contudo, prebióticos já estabelecidos podem ser distinguidos das fibras pela selectividade da sua fermentação.

Além destes prebióticos que são também hidratos de carbono, estudos recentes sugerem que polifenóis - metabolitos secundários de plantas - possam interagir com a microbiota de duas formas: as bactérias degradam

\* Mono- e dissacáridos (DP1 e DP2) normalmente não são considerados fibra alimentar de acordo com as definições de fibra alimentar da UE e do CODEX.

os polifenóis, aumentando a sua biodisponibilidade, e os seus metabolitos podem favorecer micróbios benéficos, culminando em efeitos benéficos à saúde humana. Esta é uma importante área de investigação para compreender a extensão dos efeitos na saúde dos compostos bioativos e permitir o desenvolvimento de alimentos funcionais.

## **Crítérios para a Seleção de Prebióticos**

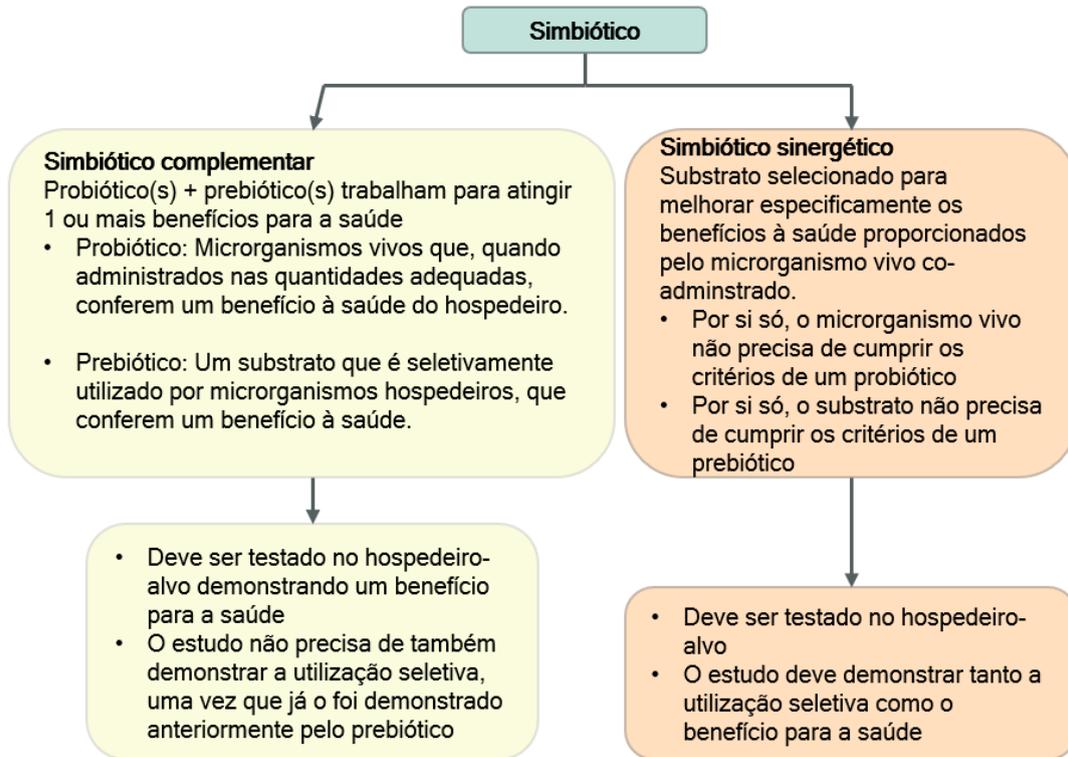
O conceito de prebiótico é baseado na utilização seletiva de um substrato pelo microorganismo hospedeiro, que pode ser de um ou mais tipos, e que promove um benefício desejado à saúde. Assim, os prebióticos têm uma ação complementar, mas distinta, dos probióticos.

É essencial medir o efeito de um candidato a prebiótico no crescimento bacteriano *in vivo*; não basta saber, por exemplo, que a fermentação de um substrato decorreu *in vitro*. Embora os testes *in vitro* possam ser usados para selecionar potenciais candidatos a prebióticos, o aumento de micróbios alvo após o consumo de quantidades aceitáveis deve ser quantificado em ensaios em humanos para estabelecer o efeito seletivo sobre os micróbios. Estes efeitos devem ser demonstrados com recurso a boas práticas microbiológicas, e preferencialmente a tecnologias moleculares modernas, especialmente para a microbiota intestinal de forma a ter em conta a comunidade microbiana completa. Igualmente importantes são os estudos de intervenção em humanos, essenciais para demonstrar benefícios à saúde de potenciais prebióticos.

O principal local de ação dos prebióticos estabelecidos é o cólon. Estes prebióticos devem ser capazes de resistir

aos efeitos da acidez gástrica e às enzimas digestivas de forma a alcançarem o cólon intactos. Uma vez no cólon, os prebióticos conferem os seus benefícios pretendidos mediante a promoção do crescimento selectivo de micróbios específicos. Os principais géneros-alvo para a ação prebiótica são as bifidobactérias e os lactobacilos, embora o aumento do conhecimento sobre a diversidade e funcionalidade microbiana possa alterar esta tendência.

**FIGURA 7.** Os simbióticos podem ser formulados usando duas abordagens.



Um simbiótico complementar incluiu um probiótico e um prebiótico, que trabalham independentemente para alcançar um ou mais benefícios para a saúde. Um simbiótico sinérgico é composto por um microrganismo vivo e um substrato utilizado seletivamente mas nenhum deles precisa de cumprir os critérios mínimos de um probiótico ou de um prebiótico. Em vez disso, estes componentes são projetados para trabalhar em conjunto, com o substrato sendo utilizado seletivamente pelo microrganismo co-administrado.

Reimpresso com a permissão do Springer Nature Customer Service Centre GmbH: Springer Nature, Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology “The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus state-ment on the definition and scope of synbiotics” Swanson KS et al., Copyright ©2020, Aug; 17, 687-701, doi: 10.1038/s41575-020-0344-2 Epub 2020 Aug 21

## Aplicações de Prebióticos em Alimentos

Alguns prebióticos ou candidatos a prebióticos existem naturalmente nos alimentos e são consumidos em níveis baixos numa dieta normal, por exemplo as frutanas do tipo inulina presentes no trigo e nas cebolas. Os ingredientes prebióticos comerciais GOS e as frutanas do tipo inulina são usados em produtos de alimentação infantil, sempre que a sua segurança e eficácia tenha sido demonstrada - em alguns países, pode ser solicitada uma aprovação pré-comercial. Em alimentos para consumo geral, o nível de ingestão alvo de prebióticos como a inulina de chicória, FOS ou GOS pode variar entre 3g e 20g por dia em porções múltiplas, dependendo do prebiótico e da dose necessária para o efeito na saúde desejado ou aprovado. Estas quantidades podem ser rapidamente incorporadas numa variedade de alimentos, tais como cereais, pão, produtos de pastelaria, biscoitos, iogurtes, cremes ou pastas de barrar, molhos e bebidas. Como acontece com os probióticos, é necessário demonstrar por ensaios clínicos com elevados padrões de qualidade os benefícios para a saúde associados aos prebióticos. Uma alegação de saúde de um prebiótico ou referência ao efeito bifidogénico de prebióticos específicos na microbiota intestinal deve seguir os regulamentos alimentares específicos de cada país ou seguir um procedimento de aplicação suportado por estudos em humanos e por estudos mecanísticos.

## Simbióticos

Os prebióticos e os probióticos podem ser combinados nos chamados simbióticos, definidos em 2020 pelo ISAPP como *“uma mistura compreendendo microrganismos vivos e substrato(s) utilizado(s) seletivamente por microrganismos hospedeiros que conferem um benefício à saúde do hospedeiro”*. Os critérios para os simbióticos estão delineados na Figura 7, incluindo as subcategorias de simbióticos complementares ou sinérgicos.

# EFEITOS NA SAÚDE DOS PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS

---

## Abordagens de Investigação

De forma a demonstrar que os probióticos e os prebióticos têm efeitos benéficos na saúde humana, devem estar disponíveis evidências de estudos de intervenção em seres humanos de alta qualidade, ou seja, ensaios randomizados, bem controlados e cegos. Evidência de apoio pode ser obtida a partir de modelos de laboratório *in vitro* e, caso seja essencial, em estudos de alimentação *in vivo* em animais. Estudos de laboratório *ex vivo*, que examinam amostras de sangue e tecidos de seres humanos ou animais, e estudos *in vitro*, que examinam células isoladas cultivadas em laboratório e sujeitas a diversas condições experimentais, podem fornecer dados adicionais. Embora os estudos não-humanos possam fornecer informação útil sobre várias questões de investigação, por exemplo sobre mecanismos de ação, estes estudos não são adequados para fundamentar um benefício na saúde humana.

A falta de biomarcadores genericamente aceites da saúde GI e da função imune foi um dos factores que dificultou o avanço da investigação no impacto dos alimentos funcionais na saúde e na obtenção de aceitação regulamentar para aplicar alegações de saúde probióticas e prebióticas. Os biomarcadores são indicadores substitutos de resultados clínicos. Por exemplo, o nível de colesterol no sangue é um biomarcador aceite, o qual indica o risco de doença cardiovascular. Os biomarcadores da função GI,

incluindo a frequência de defecação, a consistência e volume das fezes, e o tempo de trânsito intestinal ao longo de todo o trato GI, podem ser usados para demonstrar os benefícios dos prebióticos e dos probióticos e são atualmente aceites pela EFSA, por exemplo. Apesar de haver inúmeros biomarcadores usados em relação ao sistema imunológico, há falta de conhecimento sobre o papel de biomarcadores individuais de função, tais como função das células imunitárias ou níveis de citocinas, na saúde do sistema imunológico como um todo. Atualmente, as proporções de citocinas reguladoras e pró-inflamatórias, bem como a geração de células reguladoras, são usadas como medidas do impacto dos componentes bioativos dos alimentos na função imunológica. A ausência de biomarcadores validados significa que os resultados clínicos, tais como redução da suscetibilidade à infeção, redução na duração de sintomas validados, e melhores respostas de anticorpos às vacinas durante intervenções com componentes bioativos, ainda são mais amplamente aceites como evidência de um benefício imunológico, do que alterações num único biomarcador.

Outro desafio comum na investigação com seres humanos prende-se com a variação inter-individual em resposta a qualquer dieta ou intervenção. Esta variação refere-se à variabilidade de respostas observadas entre os diferentes indivíduos a um resultado específico. A variabilidade inter-individual depende de uma ampla gama de factores, incluindo características genéticas do hospedeiro, tipo de alimentação, microbiota, idade, estado nutricional e outros factores de estilo de vida. Os investigadores tentam ter em conta estas diferenças mediante a inclusão de um número suficiente de indivíduos nos estudos e a randomização de indivíduos

de forma a que estes fatores estejam distribuídos uniformemente entre os grupos de intervenção e os grupos controlo.

Aquando da avaliação do impacto de um ingrediente alimentar na saúde, os efeitos podem ser mais evidentes em pessoas de alto risco para uma doença, ou diagnosticados com uma doença, do que em indivíduos saudáveis. Para observar efeitos em pessoas saudáveis, normalmente são necessários estudos substancialmente mais amplos. Alternativamente, em alguns casos, uma população saudável com sintomas leves pode ser usada, como por exemplo indivíduos com obstipação ocasional.

Em estudos com prebióticos, deve ser tido em conta que o ISAPP e as autoridades reguladoras atualmente reconhecem apenas alguns prebióticos como estabelecidos. De igual forma, um número limitado de micróbios foi classificado como probiótico. De um modo geral, os prebióticos e os probióticos devem ser consumidos regularmente por um determinado período de tempo para que possam conferir um benefício.

## Impacto dos Prebióticos e Probióticos na Saúde Humana

### **Microbiota intestinal**

Historicamente, a literatura científica frequentemente reportou uma maior proporção de bifidobactérias e lactobacilos como uma espécie de biomarcador para uma composição intestinal microbiana “mais saudável”. Isto foi em parte baseado em evidências em bebês, em que se associou um efeito bifidogênico à melhoria da saúde infantil, como discutido mais à frente nesta secção e na secção dos mecanismos. As bifidobactérias fermentam hidratos de carbono, produzem lactato e acetato, são não toxigénicas e têm sido extensivamente estudadas quanto aos seus efeitos fisiológicos na saúde em ensaios clínicos com humanos. Contudo, esta forma de pensar pode ser uma simplificação excessiva da situação atual. A composição ou as funções de uma “microbiota saudável” ainda não foram definidas, e alterações em membros específicos da comunidade intestinal microbiana, à exceção da redução de patogénicos específicos conhecidos, podem não estar claramente ligadas à saúde de uma forma causal. No entanto, a investigação continua em espécies tais como *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium duncaniae* (previamente designada por *Faecalibacterium prausnitzii*) e espécies produtoras de butirato, para além das espécies de bifidobactérias e lactobacilos, na expectativa de identificar micróbios importantes à saúde.

forneceram já uma ampla evidência que os prebióticos estabelecidos, particularmente frutanas e GOS, aumentam seletivamente o nível de bifidobactérias e, por vezes, de lactobacilos na microbiota intestinal. O crescimento e metabolismo de inúmeros outros micróbios podem também ser afetados devido a alimentação cruzada de substratos e ácidos orgânicos/AGCC produzidos. Concomitantemente, foram medidos os benefícios para a saúde associados à administração de prebióticos. Tanto a utilização seletiva de prebióticos pela microbiota residente - incluindo aqueles além dos lactobacilos e bifidobactérias - como o benefício à saúde devem ser demonstrados no mesmo estudo para ir de encontro aos critérios de um prebiótico. Este requisito é substancial e pode ser uma das razões para o limitado número de prebióticos reconhecidos até à data.

No caso dos probióticos, o consumo de doses adequadas de *Bifidobacterium*, lactobacilos e estirpes de géneros intimamente relacionados resulta muitas vezes num aumento mensurável destes micróbios específicos nas fezes, enquanto pode haver uma redução de organismos desfavoráveis, tais como os estafilococos. Nos bebês pré-termo, que normalmente abrigam um reduzido número de bifidobactérias, há evidências de que a ingestão de bifidobactérias não só aumenta o seu número mas também reduz o número de clostrídios. Na prática, o efeito dos prebióticos e probióticos na microbiota é de alguma forma variável e difícil de generalizar. Os fatores subjacentes são discutidos em Técnicas para Explorar a Microbiota Intestinal, na página 13.

Estudos em seres humanos, incluindo crianças e bebês, assim como estudos em animais e estudos *in vitro*

Além de considerar um aumento no número ou na proporção de certos micróbios, é também importante considerar a sua actividade metabólica, a qual pode ser alterada pelo consumo de prebióticos ou probióticos sem alteração dos níveis microbianos. Dados recentes em humanos sobre probióticos, obtidos com novas técnicas, permitiram a medição de componentes que refletem os genes que são ativamente expressos num dado momento. A ligação entre a expressão génica e as consequências na saúde será, sem dúvida, objecto de investigação futura.

### **Simulação do Efeito do Leite Materno nas Fórmulas Infantis**

O leite humano fornece todos os nutrientes essenciais para os recém-nascidos, e a sua composição adapta-se às necessidades de crescimento dos lactentes. O leite humano contém uma grande variedade de proteínas, lípidos e hidratos de carbono, incluindo oligossacáridos. Os HMOs no leite materno com as suas estruturas fucosil, galactosil e sialil, têm demonstrado ser largamente responsáveis por um efeito bifidogénico e podem ser considerados prebióticos naturais. Na verdade, a amamentação contribui para a maturação da microbiota pelo fornecimento de componentes necessários à nutrição de bactérias específicas e assegura o enriquecimento de membros chave na microbiota humana. Alguns HMOs mostraram um impacto na estimulação do crescimento de bifidobactérias, em particular *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* e *Bifidobacterium breve*. Em estudos com humanos, o leite humano e as fórmulas infantis suplementadas com HMOs específicos e certas espécies de *Bifidobacterium* têm sido associados a um risco reduzido de doenças atópicas, ao desenvolvimento

da barreira intestinal e das funções cerebrais e cognitivas e à maturação do sistema imunológico.

O forte efeito bifidogénico do leite humano tem sido historicamente associado a uma melhor saúde infantil. Consequentemente, ao longo da última década, prebióticos com efeito bifidogénico têm sido cada vez mais adicionados às formulas infantis. Diversos estudos de intervenção mostraram que fórmulas infantis suplementadas com GOS, inulina (de cadeia longa) e FOS, individualmente ou combinados, ajudam a estimular, de uma forma dose-dependente, o crescimento das bifidobactérias características de lactentes amamentados com leite materno. Adicionalmente, os lactentes alimentados com fórmulas enriquecidas nestes oligossacáridos, têm uma microbiota intestinal, um valor de pH fecal e um padrão de AGCC semelhantes aos de lactentes amamentados com leite materno. A consistência das fezes e a frequência de defecação em lactentes alimentados com prebióticos (mais moles e mais frequente) também são mais próximas das de lactentes amamentados do que das de lactentes alimentados com fórmula padrão. Estudos em lactentes mostraram ainda uma associação entre algumas destas combinações de prebióticos e um risco reduzido de atopia e a melhoria na resistência à infeção.

A utilização de níveis específicos de GOS, inulina e FOS nas fórmulas infantis já está difundido e é aceite como seguro. Com base na capacidade crescente de sintetizar HMOs individuais e nas evidências clínicas de segurança e efeitos fisiológicos na saúde em lactentes, pode-se esperar que HMOs sejam cada vez mais usados como novos suplementos prebióticos em fórmulas infantis.

### ***Frequência, consistência e volume das fezes***

Há uma forte evidência de que prebióticos e probióticos podem influenciar a função intestinal. Pensa-se que os efeitos dos prebióticos se devem à sua fermentação no cólon, resultando numa biomassa bacteriana aumentada e na produção de AGCC, que são usados como combustível pelas células da parede intestinal e como reguladores nas respostas imunológicas. Pensa-se que a biomassa bacteriana e os AGCC aumentados estimulem a absorção de sal e água, aumentando o nível de humidade do conteúdo do cólon pela pressão osmótica. Esta contribuição para o aumento do peso e da humidade das fezes pode levar ao seu amolecimento e a uma maior frequência de evacuação. Há também alguma evidência de que os AGCC, especialmente o butirato, que é uma fonte de energia chave para as células epiteliais do cólon, têm um efeito positivo na função da mucosa intestinal e no peristaltismo, o que melhora o trânsito intestinal. Devido à relação inversa entre a massa fecal e o tempo de trânsito, os prebióticos podem também reduzir o tempo de trânsito intestinal.

Em alguns estudos, é reportado que os prebióticos reduzem sintomas de desconforto intestinal, tais como distensão e dor abdominal e flatulência. Alguns prebióticos também têm demonstrado bloquear recetores e sinais pró-inflamatórios durante episódios inflamatórios no intestino delgado e estômago, melhorando assim a função intestinal. Na Europa, foi concedida à inulina derivada da chicória uma alegação de saúde aprovada, em relação ao suporte positivo na função intestinal. Como acontece com a generalidade das fibras alimentares, o rápido

consumo de elevados teores de certos prebióticos pode provocar alguns problemas, tais como flatulência, embora estes efeitos secundários geralmente diminuam se o consumo for reduzido ou quando ocorrer habituação por parte do organismo.

Estudos de determinadas estirpes probióticas demonstraram um impacto na função intestinal, em termos de normalização do tempo de trânsito intestinal e na frequência de evacuação - a redução de auto-reporte de sintomas de menor desconforto digestivo pode também estar relacionado com este facto. A melhoria da frequência de evacuação e do tempo de trânsito intestinal pode reduzir a atividade putrefativa, conforme indicado por estudos que encontraram níveis reduzidos de produtos da fermentação proteolítica, tais como o cresol e indóis.

Estes efeitos reguladores das fezes são considerados benéficos para a saúde intestinal uma vez que reduzem o risco de obstipação. Dado que a ingestão de fibra, praticamente a nível global, é inferior às recomendações nos países desenvolvidos, é provável que uma melhoria da função das fezes seja importante para a população em geral. Para além disso, o número de pessoas que reportam problemas digestivos é extremamente elevado - em alguns estudos representam 80% das mulheres.

## **Melhoria da Digestão da Lactose com Probióticos**

Como discutido na secção Fermentação Bacteriana e Metabolismo (página 9), muitos microrganismos fermentam a lactose, o dissacárido presente no leite e em muitos produtos à base de leite. Embora os lactente dependam da lactose, que contribui entre 30% a 40% para a energia do leite materno, muitas populações em todo o mundo têm uma elevada proporção de adultos que não é capaz de digerir este glúcido. A expressão da enzima lactase vai diminuindo gradualmente na maioria dos seres humanos na idade adulta, com a excepção dos Caucasianos e de algumas populações da África Oriental e Ocidental. A intolerância à lactose é uma condição em que a fermentação da lactose não digerida no cólon resulta em dor abdominal, distensão abdominal, ruído abdominal da digestão e efeito laxante. Existem evidências de que as bactérias vivas do iogurte e alguns probióticos podem compensar a falta de lactase endógena no intestino humano pela metabolização da lactose no intestino delgado. A medida típica da melhoria da digestão da lactose é a redução na excreção de hidrogénio pela respiração (o hidrogénio na respiração geralmente aumenta quando hidratos de carbono não digeridos atingem o cólon e são fermentados). Esta melhoria de digestibilidade reduz os sintomas relacionados com a intolerância à lactose em alguns indivíduos com dificuldades na digestão deste dissacárido.

## **Síndrome de Intestino Irritável**

A síndrome do intestino irritável (SII) é uma condição dolorosa e aflitiva caracterizada por uma série de sintomas, tais como dor abdominal, distensão abdominal,

hábitos intestinais alterados associados à obstipação e/ou diarreia. Uma vez que sintomas deste género ocorrem de tempos em tempos na população em geral, um conjunto específico de critérios, conhecidos como critérios de Roma, foi desenvolvido de forma a suportar o diagnóstico consistente de SII. Nos países industrializados, o SII pode afetar entre 5% a 20% da população adulta, com taxas mais elevadas em mulheres e idosos. Recentemente, tem havido interesse no papel dos processos inflamatórios como potencial causa de SII. Num determinado conjunto de indivíduos, as infeções intestinais anteriores demonstraram ter um papel no aparecimento da SII (SII pós-infeccioso). Além disso, em alguns estudos, níveis mais baixos de bifidobactérias têm sido observados em indivíduos com SII, comparativamente a indivíduos saudáveis. Devido à falta de uma terapia adequada para a SII e à identificação de uma microbiota anormal em indivíduos com SII, tanto os probióticos como os prebióticos têm sido investigados pela sua capacidade em ajudar os indivíduos afetados no controlo desta condição. Diversas preparações de probióticos têm demonstrado reduzir o *score* global de sintomas (soma de *scores* de sintomas individuais) e a dor abdominal. Contudo, não foram observadas alterações em sintomas como diarreia, obstipação ou distensão abdominal.

Em outros estudos, algumas estirpes não demonstraram efeito ou resultaram num agravamento dos sintomas. Embora poucos estudos tenham investigado o efeito de prebióticos nos sintomas da SII, alguns mostraram que baixas doses levam a uma melhoria da condição, enquanto que doses mais elevadas levam a uma

exacerbação de sintomas percebidos. Assim, é necessária investigação adicional para perceber se os prebióticos e os probióticos fornecem ou não benefícios consistentes àqueles com SII.

### ***Absorção mineral***

Estudos em humanos e em animais têm demonstrado que alguns prebióticos contribuem para a melhoria da absorção mineral. Uma grande quantidade de dados mostra aumento da absorção de cálcio, crescimento e massa esquelética em ratos, com alguns estudos mostrando maior absorção de magnésio e ferro. Evidências adicionais sobre a melhoria da absorção mineral está também disponível em alguns estudos com porcos, que são considerados um melhor modelo que os roedores para a extrapolação para humanos. Diversos estudos de intervenção em humanos de prebióticos específicos mostram consistentemente um aumento da absorção de cálcio. Um estudo de intervenção de longa duração em adolescentes, avaliou os efeitos na saúde óssea de uma combinação de oligofrutose e inulina de cadeia longa (50:50). Depois de um ano, a densidade mineral óssea e o conteúdo mineral foram significativamente superiores em certos locais dos ossos no grupo de adolescentes suplementados. De forma a perceber se este efeito é comum a todos os prebióticos ou se é exclusivo da formulação estudada, será necessário proceder a um estudo

clínico adicional. Vários mecanismos subjacentes têm sido propostos. Estes incluem os efeitos dos AGCC, que reduzem o valor do pH luminal, aumentando assim a solubilidade do cálcio e melhorando a sua absorção. Outros mecanismos

propostos são o aumento da área de absorção e a interação com as junções de oclusão do lúmen intestinal.

### ***Saúde metabólica, Gestão do Peso e Ingestão Alimentar***

A alimentação e o estilo de vida não estão sozinhos no que toca à influência do risco de obesidade. A composição da microbiota intestinal pode também ser responsável. Consequentemente, não é surpresa que prebióticos e probióticos sejam investigados em relação à saúde metabólica e obesidade. A diabetes está intimamente ligada às taxas de obesidade uma vez que um elevado índice de massa corporal é o fator de risco mais crítico. Inúmeros estudos em roedores com fibras prebióticas específicas, maioritariamente frutanas, têm demonstrado efeitos consistentes, reduzindo a ingestão alimentar e diminuindo a massa gorda, mas não necessariamente o peso corporal. Em vários estudos, este efeito tem sido associado ao impacto dos AGCC no cólon distal pela ativação do gasto energético no tecido adiposo castanho. Contudo, a evidência geral reunida num número cada vez maior de estudos em humanos, mais uma vez essencialmente com frutanas, é inconsistente, embora o consumo diário de prebióticos tenha efeitos promissores na redução do apetite e na manutenção ou diminuição do peso corporal e da massa gorda.

Os mecanismos envolvidos incluem a modulação da microbiota que reduz a circulação de lipopolissacáridos, o que pode contribuir para a redução de processos inflamatórios locais e sistêmicos. Paralelamente, níveis aumentados de AGCC ou uma alteração no perfil dos ácidos biliares pode induzir a produção de hormonas da saciedade por células enteroendócrinas que fortalecem a permeabilidade intestinal. Particularmente o acetato, produzido na fermentação de alguns prebióticos, está fortemente envolvido na melhoria da sensibilidade à insulina e à homeostasia da glicose - observado em estudos em humanos. Alguns destes estudos examinaram a composição da microbiota intestinal, em que modificações desta composição foram observadas. Alguns probióticos podem ser benéficos na gestão do peso. Embora o seu consumo não leve à perda de peso, eles podem contribuir para a sua manutenção. De forma semelhante aos prebióticos, este efeito pode ser mediado pela influência em hormonas da saciedade e da fome.

### **Saúde Mental via Eixo Intestino-Cérebro**

Estão a surgir evidências substanciais de que a microbiota intestinal influencia o comportamento através do eixo intestino-cérebro (Figura 8). O sistema nervoso entérico no intestino é a segunda maior rede nervosa a seguir ao cérebro. Especialmente em modelos animais, fortes evidências indicam que a manipulação da microbiota intestinal e de metabolitos bacterianos específicos, tais como os indoís e os AGCC, podem melhorar a expressão de importantes neurotransmissores, influenciar o *stress* e ansiedade e ajudar nas funções

cognitivas. Estudos recentes também observaram o efeito atenuante de metabolitos bacterianos na

inflamação cerebral, o que melhorou a saúde mental. A evidência existente sugere que em ambiente experimental os probióticos e os prebióticos podem afetar positivamente o *stress* e a ansiedade entre seres humanos. Contudo, mais investigação é necessária para confirmar estes resultados preliminares.

### **Infeção Gastrointestinal**

O intestino delgado é o principal alvo de muitas infeções GI, causadas por rotavírus, espécies de *Salmonella* e alguns tipos de *E. coli*. Já em 1916, foi reportado que *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* foi eliminada do trato GI de indivíduos saudáveis quando estirpes da microbiota intestinal normal foram introduzidas. Os probióticos estão, desde há muito, associados a uma suposta capacidade de neutralizar bactérias patogénicas mediante a chamada exclusão competitiva. Este processo de exclusão refere-se à competição por espaço e nutrientes ou pela produção de AGCC, bacteriocinas ou peróxido de hidrogénio. Estudos controlados recentes testaram estirpes potencialmente benéficas pela sua capacidade de redução dos níveis de bactérias patogénicas.

A primeira linha de tratamento para os sintomas como a diarreia é a hidratação oral - e nem outro tratamento alimentar deve ser substituído por este, especialmente em recém-nascidos e lactentes. Contudo, alguns probióticos podem ser usados como adjuvantes sob supervisão médica quando adequado. Alguns probióticos parecem ser mais efetivos na melhoria de sintomas quando a diarreia resulta de uma infeção vírica (em vez de bacteriana) e são usados em quantidades suficientes no início da infeção.

Em termos de suscetibilidade reduzida à infecção, alguns estudos descobriram um reduzido risco de infecção em crianças principalmente em países em desenvolvimento e em idosos institucionalizados ou hospitalizados. A eficácia está claramente relacionada com a estirpe, de forma que algumas são eficazes e outras não.

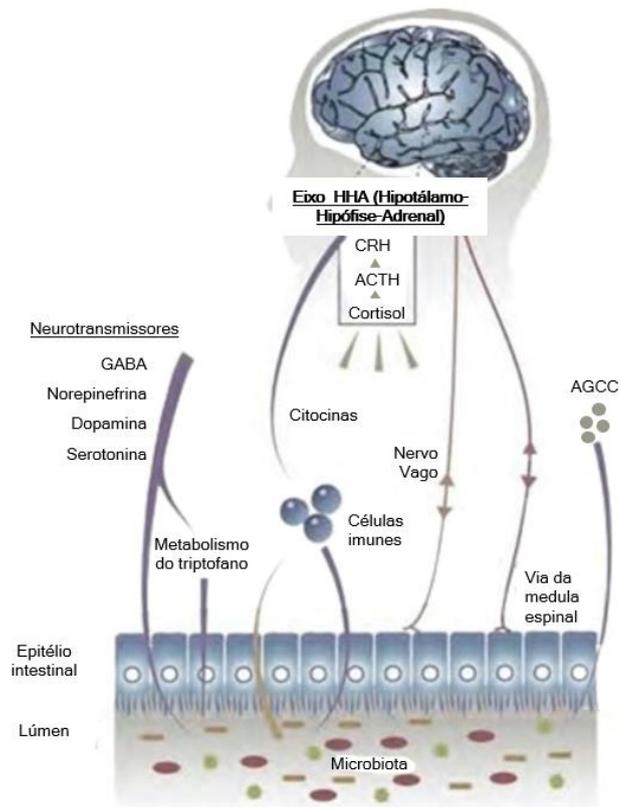
Alguns antibióticos podem desregular significativamente a microbiota comensal, resultando em efeitos secundários que incluem a DAA. Estima-se que a incidência de DAA seja de 25% para alguns antibióticos e por vezes pode levar a que doentes não completem o curso do tratamento. Existem evidências de que alguns probióticos reduzem o risco de DAA. Na verdade várias meta-análises concluíram que o risco para DAA pode até ser reduzido para metade em adultos ou idosos, enquanto que o efeito em crianças é menos consistente. Os efeitos observados referem-se a um número limitado de estirpes probióticas específicas. No que diz respeito aos prebióticos, foi demonstrado que a administração de FOS seguida de um tratamento de antibiótico reduziu a recorrência de DAA de mais de 30% no grupo controlo para menos de 10% no grupo prebiótico. Uma vez que esta ocorrência reduzida de DAA não foi associada à diminuição de indivíduos a testar positivo para *C. difficile*, pode-se sugerir que o prebiótico teve um efeito estabilizador na microbiota, promovendo o retorno à eubiose.

A infecção por *C. difficile* é uma causa frequente de diarreia em populações institucionalizadas, por exemplo hospitais ou lares. É normalmente associada ao uso de antibióticos mas pode também estar relacionado com outros fatores de risco, como idade

superior a 65 anos ou um sistema imunitário comprometido por doença, medicação ou cirurgia GI. Estudos apontam para que os probióticos possam reduzir o risco de infecção por *C. difficile* ou reduzir a severidade ou duração dos sintomas em adultos.

Uma bactéria conhecida como *Helicobacter pylori* está presente no estômago de uma pequena proporção de jovens adultos mas em cerca de 50% de pessoas com 60 anos ou mais. Esta bactéria coloniza a camada mucosa próxima do epitélio gástrico e pode causar gastrite aguda (i.e. dor, distensão abdominal, náuseas e vômitos), que pode levar a gastrite crónica e úlceras pépticas. O tratamento envolve a administração a longo prazo de antibióticos fortes. Embora os probióticos não acelerem a erradicação de *H. pylori*, vários estudos demonstraram que eles reduzem os efeitos secundários do tratamento, melhorando assim a adesão ao tratamento. Além disso, os probióticos podem contribuir para um distúrbio menor da microbiota durante a terapia de erradicação de *H. pylori*.

**FIGURA 8.** Vias de comunicação entre os micróbios intestinais e o cérebro, incluindo o nervo vago, AGCC, citocinas, e triptofano. ACTH, hormona adrenocorticotrófica; CRH, hormona libertadora de corticotrofina.



Reimpresso com permissão de Elsevier, Gastroenterology Clinics of North America "The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease" Dinan TG, Cryan JF, Copyright © 2017, Mar;46(1):77-89, 10.1016/j.gtc.2016.09.007 .

A microbiota de recém-nascidos pré-termo é menos diversificada e difere em termos de composição daquela de recém-nascidos saudáveis e de termo. Em particular, bifidobactérias potencialmente benéficas não estão bem estabelecidas no intestino neonatal de recém-nascidos pré-termo. A microbiota é ainda mais desafiada por bactérias do ambiente hospitalar, e o uso comum de antibióticos em recém-nascidos pré-termo aumenta o risco de enterocolite necrosante (ECN). Vários hospitais implementaram o uso de probióticos na sua prática clínica, uma vez que muitos ensaios demonstraram que várias estirpes probióticas e combinações das mesmas podem reduzir o risco de ECN. Embora a Sociedade Europeia para a Gastroenterologia Hepatologia e Nutrição Pediátrica (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition - ESPGHAN) e a Associação Americana de Gastroenterologia tenham recomendado, apenas em determinadas condições, certos probióticos para reduzir as taxas de ECN, estudos adicionais são necessários para otimizar a escolha das estirpes e das doses de probióticos. Para além disso, o uso de micróbios vivos numa população tão suscetível faz da confirmação da segurança e qualidade um objetivo primordial.

## **Impacto na Função Imunológica, Inflamação e Resposta a Infecções**

Animais axénicos (livres de germes) têm, como já mencionado, um sistema imunológico e um epitélio GI sub-desenvolvidos, resultando na resistência reduzida à infecção comparada com animais convencionais. É, assim, aceite que organismos comensais são vitais para a maturação do sistema imunitário e da função da barreira intestinal. Além disso, há uma evidência crescente que os AGCC e os indóis produzidos pela microbiota têm um efeito positivo na imunidade, inflamação e resposta à infecção. O potencial dos probióticos e prebióticos terem impacto nas respostas imunológicas e na redução do risco de infecções tem sido objeto de vários estudos em humanos. De acordo com estes resultados, juntamente com as evidências de estudos mecanísticos que mostram alterações em certos parâmetros imunológicos, a ideia de que o efeito dos probióticos e prebióticos no sistema imunológico pode traduzir-se em benefícios mensuráveis à saúde é corroborada.

O impacto dos probióticos ou dos prebióticos na eficácia da vacinação é um modelo útil para testar se estes suportam a imunidade. É possível que as evidências documentadas possam ser aceites para fundamentar alegações de saúde sobre alimentos pela EFSA. Além disso, uma resposta melhorada à vacina pode ser um benefício por si só, dado que respostas pobres a vacinas são um problema, especialmente na sociedade envelhecida de hoje em dia. Diversos estudos demonstraram que prebióticos específicos poderiam melhorar os títulos de anticorpos

para várias vacinas, como hepatite B, gripe e sarampo, tanto em humanos como em animais. Em jovens adultos, a suplementação oral de inulina de cadeia longa mostrou aumentar a eficácia de uma vacina contra a Hepatite B. Comparativamente a outras vacinas, a vacinação contra a Hepatite B é menos eficaz e requer múltiplas doses para proporcionar uma resposta adequada. Isto faz da vacinação um excelente modelo para demonstrar os efeitos no aumento da imunidade dos prebióticos, dado que os estudos podem ser conduzidos com poucos voluntários e durante períodos de tempo mais curtos.

Estudos animais têm demonstrado de forma convincente que certas estirpes de probióticos podem tanto melhorar a resposta imunológica a uma vacina como reduzir o risco de subseqüente infecção. Os estudos em humanos são mais escassos, mas cada vez mais ensaios bem controlados têm vindo a ser conduzidos. Alguns estudos reportaram que a resposta a vacinas contra a gripe, o tétano, a cólera ou doenças da infância pode ser potenciada por probióticos selecionados, medida pelo número de indivíduos que responderam à vacina, pelo aumento no nível de imunoglobulinas séricas ou pelas maiores respostas dos linfócitos. Em termos de eficácia do probiótico, os efeitos são estirpe-dependentes, e no caso da gripe, os efeitos também dependem da especificidade da estirpe patogénica. Um estudo animal também mostrou efeitos promissores de um simbiótico na melhoria das respostas de anticorpos a uma vacina, bem como na redução dos sintomas de infecção oral por Salmonella.

Vários estudos que incluíram diferentes faixas etárias investigaram o potencial impacto dos probióticos na suscetibilidade à infecção das vias aéreas superiores (IVAS), na duração e sintomas da mesma. Os estudos foram conduzidos usando uma variedade de estirpes, alguns reportaram incidência reduzida ou duração mais curta e a maioria revelou efeitos na sintomatologia. A evidência é convincente mas requer que o consumo de probióticos comece muito antes do início e ao longo da temporada da IVAS. Curiosamente, os estudos têm mostrado que, para além de uma melhor qualidade de vida, o consumo de probióticos também leva à redução dos custos de saúde associados às IVAS.

As evidências têm também aumentado para prebióticos específicos tais como as frutanas e os HMOs em fórmulas suplementadas para lactentes e em suplementos prebióticos para crianças e idosos. Estudos observaram uma reduzida suscetibilidade para a IVAS e uma redução na sinusite e febre associada nos grupos suplementados com prebiótico comparativamente com os grupos controlo. Esta melhoria pode estar relacionada com a produção de AGCC e com efeitos nas células epiteliais GI.

Tem também havido interesse no uso de probióticos na medicina urogenital. Certas estirpes probióticas têm demonstrado melhorar a recuperação de vaginose bacteriana durante o tratamento antibiótico. Os mecanismos potencialmente envolvidos neste efeito incluem antagonismo antimicrobiano, recuperação do equilíbrio na microbiota dominada por lactobacilos ou uma resposta imunológica melhorada.

### **Condições alérgicas**

Uma alergia pode ser definida em termos simples como uma reação imunológica inapropriada ou uma reação exacerbada a um antigénio estranho inofensivo (maioritariamente proteínas ou péptidos). Em termos médicos, a alergia é descrita como uma reação de hipersensibilidade mediada por anticorpos específicos (IgE) e por mecanismos de base celular. Alergias comuns incluem reações a certos tipos de proteína de origem alimentar (por exemplo leite, ovos, amendoins, nozes, soja, trigo/cereais, peixe, crustáceos e camarões) ou alergias do foro ambiental como o pólen (rinite alérgica), ácaros e pêlo de animal. Alergias alimentares são mais comuns em bebés e crianças do que em adultos. A forma mais séria de alergia, que resulta em anafilaxia (que pode ser fatal quando a garganta ou o trato respiratório incham e restringem a respiração) é rara, embora seja uma preocupação para toda a vida. Sintomas alérgicos menos severos são mais comuns - cerca de 2% para alergias alimentares e até 30% para alergias respiratórias - e podem diminuir substancialmente a qualidade de vida das pessoas alérgicas.

A prevalência de alergia tem aumentado na sociedade moderna. Há evidência crescente que a natureza da microbiota adquirida na infância no período pós-natal tem uma importante influência na maturação do sistema imunológico. Algumas evidências indicam que crianças com atopia tendem a ter um grau de disbiose, com mais clostrídios e menos *Bifidobacterium* spp. ao nível de género e espécie, comparativamente com crianças sem atopia. Além disso, parece que lactentes amamentados com leite materno são menos propensos a condições alérgicas. Neste sentido, tem

sido sugerido que os prebióticos podem ajudar a reduzir o risco de desenvolver atopia ou reduzir os sintomas associados a eczema atópico ou a rinite alérgica. O acompanhamento de uma intervenção revelou evidências promissoras de que fórmulas infantis suplementadas com prebióticos podem não só reduzir a suscetibilidade à atopia, mas também que os benefícios persistem até aos dois anos de idade. Para além disso, alguns estudos encontraram níveis reduzidos de IgE e algumas frações de IgG em lactentes com elevado risco de alergia, que foram alimentados com fórmula suplementada durante 6 meses.

Existem vários estudos sobre o impacto dos probióticos no desenvolvimento de sintomas alérgicos em lactentes de alto risco. De acordo com estes estudos, é claro que a mãe deve iniciar o consumo de probióticos antes do nascimento. Após o nascimento, o lactente deve continuar a consumir o probiótico por 6 meses a 2 anos. Resultados mostraram uma diminuição do risco de eczema a partir dos 2 anos de idade e geralmente indicam um efeito específico da estirpe. Estudos anteriores e em curso também se focaram na gestão e redução dos sintomas alérgicos. No que diz respeito ao uso de probióticos no tratamento de sintomas do eczema atópico, os resultados não revelaram um benefício convincente para a saúde. Contudo, os sintomas de rinite alérgica parecem ser positivamente influenciados pelo consumo de probióticos. A diferença do resultado entre estas duas condições alérgicas provavelmente reflete a complexidade do espectro da doença alérgica e o facto de uma variedade de desenhos experimentais ter sido usada. No que respeita aos

prebióticos, lactentes que receberam fórmula suplementada com uma mistura de prebióticos (GOS, inulina e oligossacáridos derivados da pectina) mostraram alterações bifidogénicas e um risco diminuído para eczema atópico, que aparentemente persistiu por 5 anos. Além disso, uma combinação simbiótica de um probiótico com uma mistura de prebióticos com FOS de chicória e inulina de cadeia longa revelou melhorias na atopia de recém-nascidos com alergia ao leite de vaca.

### ***Condições Inflamatórias Crônicas do Intestino***

As DII são condições sérias, normalmente sem uma causa clara. Estas doenças incluem a doença de Crohn (DC), que pode afectar ambos os intestinos, delgado e grosso, e a colite ulcerosa (CU), que é restrita ao intestino grosso. As DII estão associadas a uma quebra da função barreira normal promovida pelo revestimento epitelial do intestino e pelo seu muco associado. Se é a inflamação que causa a rutura da barreira ou se é a rutura da barreira que desenvolve a inflamação não é claro. A partir de alguns estudos, é sabido que, comparativamente com animais normais, os animais axénicos não são suscetíveis a DII experimentais e a presença de bactérias comensais pode desencadear ou exacerbar condições inflamatórias intestinais. Consequentemente, a DC e a CU podem resultar numa resposta imunitária inadequada da mucosa à microbiota GI em indivíduos geneticamente suscetíveis. Há também algumas evidências a partir de estudos clínicos de que o equilíbrio de diferentes grupos de bactérias comensais pode ser alterado em doentes com DII.

Inúmeros estudos em animais com probióticos e prebióticos demonstraram um impacto positivo no risco e gestão de DII. Contudo, os seus efeitos nos doentes depende do tipo de DII. Enquanto que evidência clínica mostra que não são efetivos no prolongamento da remissão de DC, outros dados promissores indicam que alguns probióticos são úteis na extensão da remissão da CU. Numa outra condição inflamatória intestinal, conhecida como bolsite, que pode ocorrer após cirurgia de tratamento de CU, uma mistura específica de probióticos parece ser efetiva na manutenção da sua remissão. O potencial dos prebióticos e simbióticos na gestão de DII, principalmente pela redução de marcadores inflamatórios, tem sido observada em vários pequenos estudos com frutanas. Contudo, por agora, ainda não é possível tecer conclusões finais sobre o efeito dos prebióticos e probióticos nas DII. É importante ressaltar que nenhum dos estudos realizados até agora levantou preocupações sobre questões de segurança em doentes com DII nas doses testadas.

### ***Cancro do Cólon***

Em estudos epidemiológicos, o cancro do cólon tem sido associado a dietas pobres em fibra, pelo que o potencial dos prebióticos na redução do risco de cancro do cólon tem sido, naturalmente, investigada, principalmente usando técnicas *in vitro* e modelos animais. Resultados de estudos em animais, com consequências clínicas como danos no ADN, focos de criptas aberrantes e tumores de cólon, sugerem que os prebióticos podem reduzir o risco de cancro de cólon, o que é suportado pela ampla evidência *in vitro*. Além disso, tem sido reportado que alguns probióticos reduzem a expressão de enzimas microbianas ativadoras de carcinogénicos e o nível de

carcinogénicos fecais nos humanos. Os simbióticos foram investigados em poucos estudos em animais e demonstraram-se mais efetivos que os prebióticos ou probióticos, individualmente. Num estudo simbiótico em humanos, observou-se uma redução nos danos do ADN e na proliferação celular em biópsias do cólon. Os potenciais mecanismos do efeito dos prebióticos no risco para o cancro do cólon têm sido identificados em estudos em animais e incluem alterações nas actividades das enzimas bacterianas do intestino, o que modifica a fermentação dos produtos, e a regulação da apoptose (morte celular programada - neste caso de células pré-cancerígenas). Os AGCC que resultam da fermentação de fibras alimentares, incluindo os prebióticos, são conhecidos por modularem o sistema imunológico, que pode ter alguma ação inibitória no desenvolvimento do cancro. Carecem evidências de que os probióticos ou prebióticos possam reduzir o risco de cancro do cólon em seres humanos, as quais requerem ensaios em humanos prospectivos, multicêntricos e robustos.

# PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS: MECANISMOS DE AÇÃO

---

## Mecanismo Geral

Acredita-se que os probióticos, os prebióticos e os simbióticos funcionam em larga medida mediante efeitos diretos e indiretos nas funções do hospedeiro e/ou na microbiota intestinal ou ambiente, respectivamente. No caso dos probióticos, os microrganismos vivos são consumidos numa gama de doses variável entre  $\sim 10^8$  e  $10^{12}$  células/dia, dependendo do produto. Este elevado número de micróbios tem o potencial de ter um grande impacto no trato GI superior, onde os microrganismos estão presentes em densidades mais baixas, mas acredita-se que o impacto se estenda até ao cólon. Os prebióticos melhoram o crescimento da microbiota nativa endógena específica e os seus produtos metabólicos. Além disso, os prebióticos podem estimular o crescimento de probióticos específicos quando combinados com simbióticos. Assim, os probióticos e os prebióticos partilham muitos mecanismos de ação em comum, mediados por um impacto nos micróbios que habitam o intestino do hospedeiro. Os mecanismos por detrás dos efeitos na saúde relacionados com a ação individual dos probióticos e prebióticos (Figuras 9A e 9B) foram descritos anteriormente na secção sobre efeitos na saúde.

Através da estimulação de organismos comensais, os probióticos e os prebióticos atuam e interagem com o hospedeiro por dois modos de ação principais ou mediante uma combinação de ações:

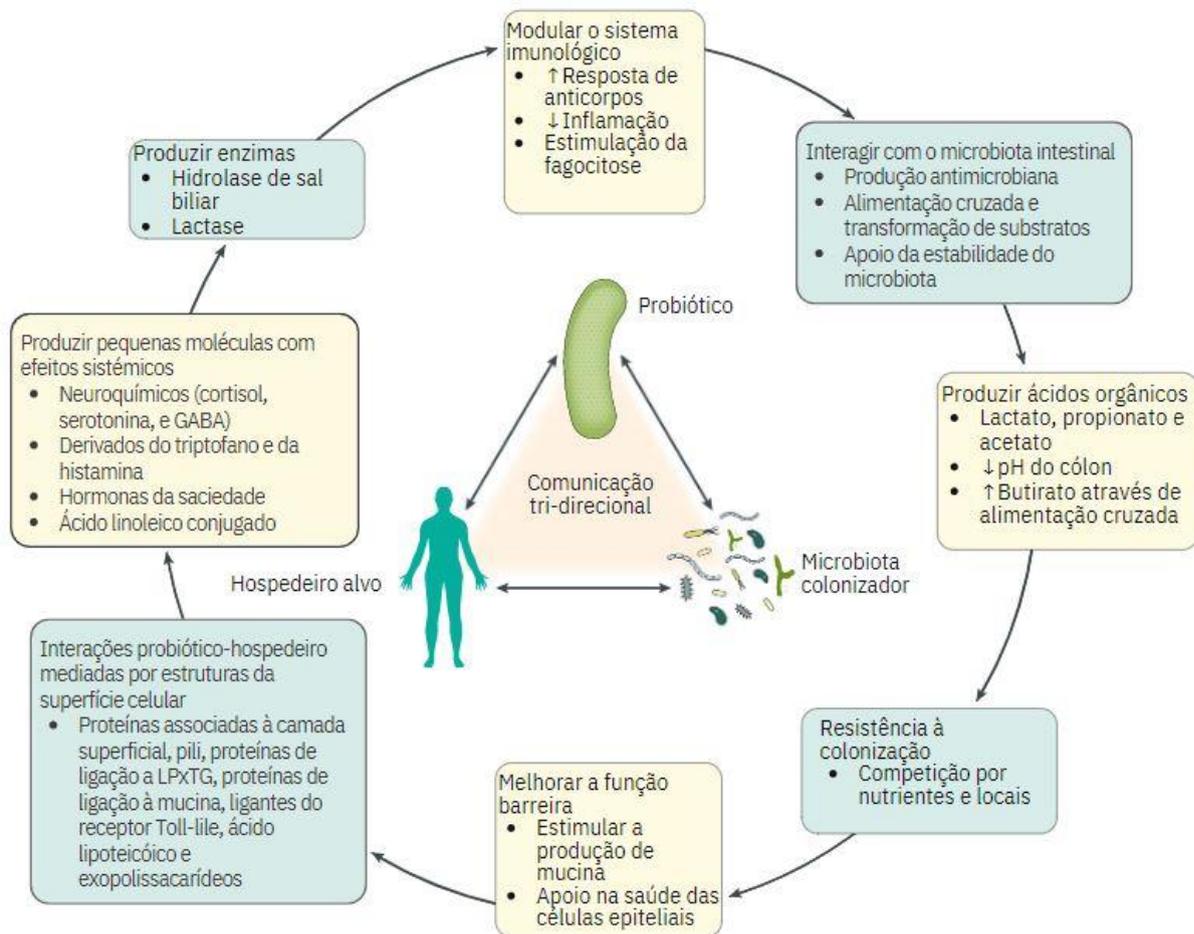
- Impacto dos microrganismos ou dos seus metabolitos/enzimas no trato GI do hospedeiro e na sua microbiota (Figura 10A)
- Interações com o hospedeiro (Figura 10B)
  - Interação com as células do hospedeiro e o sistema imunológico
  - Impacto dos metabolitos microbianos na homeostasia metabólica do hospedeiro
  - Impacto dos metabolitos na saúde óssea
  - Modulação da função cerebral e saúde

## Trato GI e o seu Microbiota

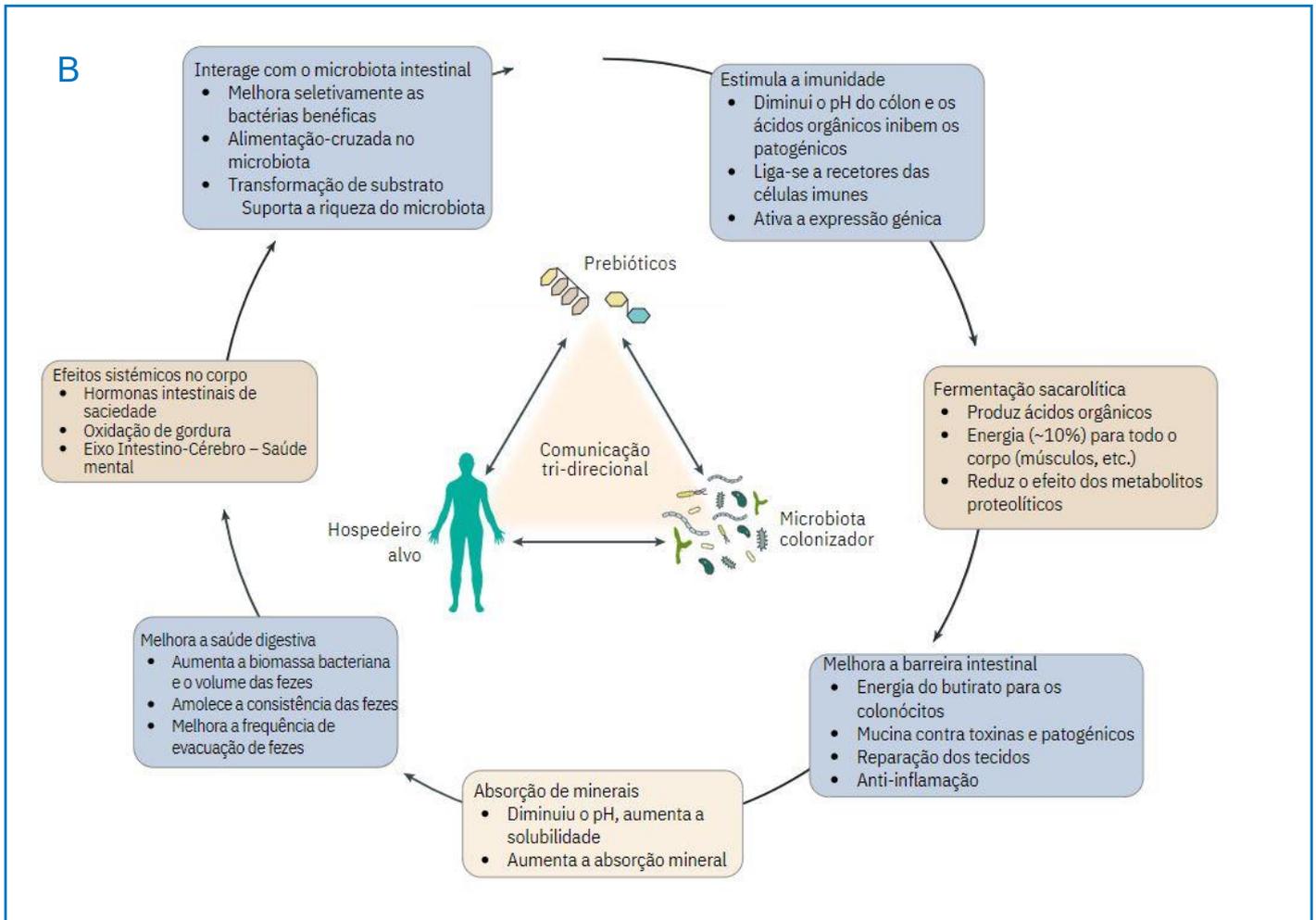
A maioria dos micróbios, incluindo as bifidobactérias e lactobacilos no cólon, fermentam preferencialmente hidratos de carbono não digeríveis que escapam à digestão no trato GI superior, resultando na produção de AGCC e na redução do valor de pH do cólon. As bifidobactérias fermentam frutanas usando a sua enzima  $\beta$ -frutofuranosidase, a qual ou não existe ou tem baixa actividade em outras bactérias, o que dá às bifidobactérias uma vantagem competitiva quando expostas a frutanas no intestino humano. Algumas espécies de *Bifidobacterium* são capazes de fermentar HMOs, pois expressam as fucosidases e sialidases necessárias para a sua fermentação. De forma semelhante, a presença de  $\beta$ -galactosidase nos lactobacilos ou estreptococos dá-lhes uma vantagem competitiva na fermentação de GOS e de goma acácia. O metabolismo de frutanas prebióticos por bifidobactérias produz inicialmente os compostos ácidos acetato e lactato. A alimentação cruzada (*cross-feeding*) destes produtos de fermentação para outras espécies dá origem aos AGCC, butirato e propionato, que também são formados diretamente a partir da fermentação de outros hidratos de carbono provenientes da dieta.

**FIGURA 9.**

Mecanismos de ação dos probióticos e dos prebióticos.

**A**

Probióticos. Há diversos mecanismos que impulsionam os benefícios dos probióticos para a saúde do hospedeiro. Em alguns casos, os efeitos são indiretos, p.e. metabólitos resultantes da interação com a microbiota residente (*cross-feeding* com outros microrganismos residentes). Em outros casos, as interações são diretas, p. e. com as células imunes do hospedeiro. De um modo geral, os benefícios clínicos proporcionados por probióticos podem resultar da ação combinada de diversos mecanismos. GABA, ácido gama-aminobutírico.



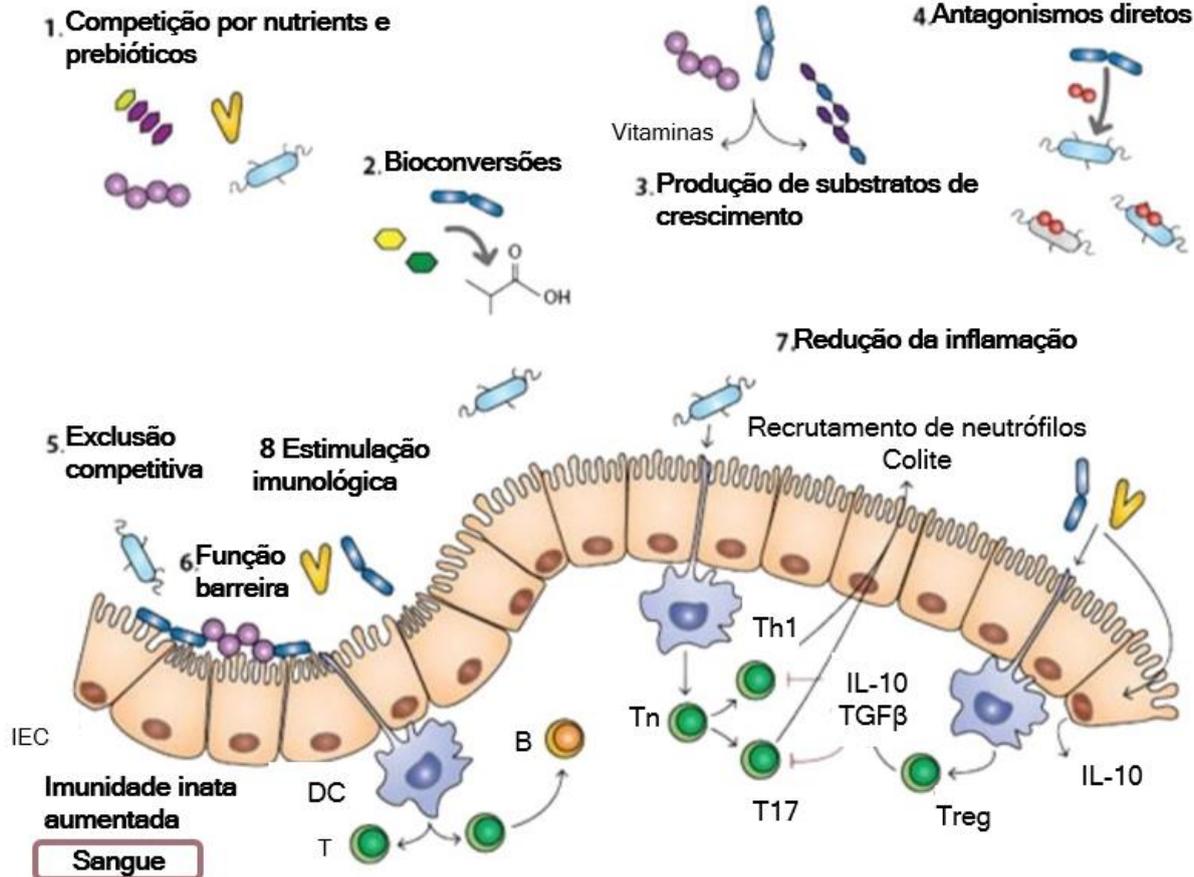
**Prebióticos.** Diversos mecanismos estão envolvidos nos benefícios dos prebióticos para a saúde do hospedeiro. A chave é a estimulação seletiva da microbiota intestinal, tal como as bifidobactérias e a produção de metabolitos como os ácidos orgânicos ou os ácidos gordos de cadeia curta, que interagem com o hospedeiro. Estes mecanismos em conjunto promovem benefícios tais como a melhoria da saúde digestiva, da imunidade, da absorção mineral, da oxidação lipídica e da saúde cerebral.

Reimpressa (A) e modificada (B) com permissão de Springer Nature Customer Service Centre GmbH: Springer Nature, Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology "Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic" Sanders ME et al., Copyright ©2019, Oct; 16(10):605-616, doi: 10.1038/s41575-019-0173-3. Epub 2019 Jul 11

**FIGURA 10.**

Mecanismos de ação dos probióticos e prebióticos.

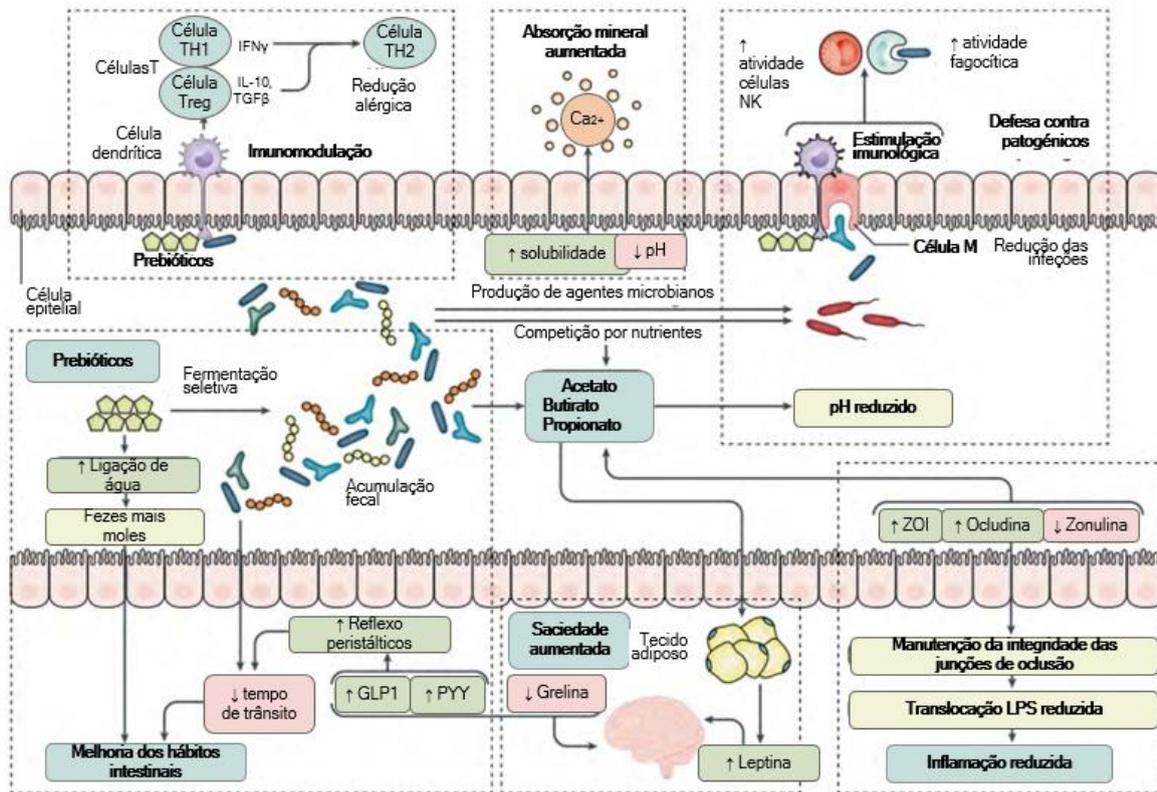
**A**



Mecanismos de ação dos probióticos. Diagrama esquemático ilustrativo dos mecanismos potenciais ou conhecidos pelos quais as bactérias probióticas podem influenciar a microbiota.

Modificada com permissão de Hindawi Publishing Corporation, Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases "The Human Microbiome and Infectious Diseases: Beyond Koch", Paul W. O'Toole and Jakki C., Copyright © 2008, doi.org/10.1155/2008/175285, Epub 2008 Dec 03

B



Mecanismos de ação dos prebióticos. A premissa é a de que prebióticos que entram no intestino são utilizados seletivamente. Este passo aumenta o crescimento bacteriano e a funcionalidade de gêneros ou espécies específicas. Como resultado de ambos os efeitos, os benefícios para a saúde podem acumular-se. O aumento de volume fecal e a melhoria dos hábitos intestinais ocorrem devido ao crescimento bacteriano. A regulação imunológica pode ser influenciada por um aumento da biomassa dos componentes das paredes celulares das bactérias. Os produtos metabólicos incluem ácidos orgânicos, que baixam o valor de pH do intestino e têm efeitos concomitantes sobre patógenos microbianos e absorção de minerais. Os produtos metabólicos podem também influenciar a integridade epitelial e a regulação hormonal. As bactérias que respondem à ingestão de prebióticos podem influenciar a composição da microbiota pela produção de agentes antimicrobianos (por exemplo, peptídeos) e por interações competitivas, possivelmente reduzindo infecções e bactérias com lipopolissacarídeos (LPS). GLP1, peptídeo semelhante ao glucagon-1; Célula M, célula microfold; célula NK, célula natural killer; PYY, peptídeo YY; TGF $\beta$ , fator transformador de crescimento  $\beta$ ; célula TH1, célula auxiliar tipo 1; célula TH2, célula auxiliar tipo-2; célula Treg, célula T reguladora; ZO1, zonula oclusiva 1.

Reimpressa com a permissão de Springer Nature Customer Service Centre GmbH: Springer Nature, Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology "Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic" Sanders ME et al., Copyright © 2019, Oct; 16(10):605-616, doi: 10.1038/s41575-019-0173-3. Epub 2019 Jul 11

Um valor de pH mais baixo no cólon permite a multiplicação e sobrevivência de microrganismos comensais que preferem condições ácidas e geralmente inibem a capacidade de alguns patogênicos de aderir, crescer, translocar através do epitélio ou colonizar o trato GI.

A barreira intestinal tem um papel importante na proteção contra a entrada de substâncias perigosas. Uma barreira intestinal disfuncional, ou um intestino permeável, é associado a várias doenças e distúrbios, tais como infecções causadas por patogênicos intestinais, DII, SII, obesidade, DC, sensibilidade ao glúten não celíaca, alergias alimentares e até doenças autoimunes tais como a diabetes tipo 1. Estudos *in vitro* sugerem que os probióticos e os prebióticos podem melhorar a função barreira do epitélio intestinal pelo aumento da resistência das junções de oclusão, possivelmente pela influência na produção de proteínas destas junções (p.e. ocludinas e claudinas) que regulam a passagem de pequenas moléculas e íons através do espaço entre as células epiteliais. O aumento da expressão de genes que codificam as proteínas das junções de oclusão foi demonstrado num estudo em humanos em que os indivíduos receberam o probiótico *L. plantarum* WCFS1. Alguns estudos *in vivo* com prebióticos apontam para uma melhoria da função barreira do intestino. Além disso, o aumento da produção de mucina e consequente espessamento da camada mucosa é benéfico para a barreira intestinal. Isto ajuda a proteger as células epiteliais da potencial translocação de patogênicos e pode potencializar a eliminação de patogênicos do trato GI. As evidências da cultura celular mostram que um aumento na produção de mucinas pode resultar de um aumento da

expressão gênica em células caliciformes produtoras de muco que revestem o trato GI. Também tem sido demonstrado que alguns prebióticos têm um efeito direto em patogênicos bacterianos, ligando-se a estes e neutralizando-os - efeito “armadilha” - ou alterando o perfil de glúcidos das células, que servem de âncoras para as bactérias nas células epiteliais intestinais, aos quais os patogênicos têm assim menor probabilidade de se ligar.

Muitas bactérias produzem peptídeos/proteínas antimicrobianas como as bacteriocinas que reduzem a sobrevivência de microrganismos adversários pela inibição da sua formação de poros ou síntese da parede celular. Estudos *in vitro* demonstraram que as bacteriocinas produzidas por bactérias probióticas, tais como estirpes de lactobacilos e de *Bifidobacterium*, reduzem a capacidade dos microrganismos patogênicos, como a *E. coli* 0157:H7, de aderir ou invadir células intestinais cultivadas. A produção de bacteriocinas após administração de prebióticos já foi também reportada. Este pode ser um dos mecanismos pelo qual os probióticos e os prebióticos diminuem a taxa de infecção em humanos e animais e aumentam a sobrevivência de ratos tratados com uma dose letal de patogênico em ensaio desafio. Estudos que modificaram bactérias probióticas de forma a estas deixarem de produzir bacteriocinas, têm mostrado evidências adicionais deste mecanismo. Em estudos *in vitro*, tem-se observado que estes microrganismos perdem a sua capacidade de prevenir a aderência e translocação de patogênicos e/ou de reduzir as taxas de infecção/de melhorar a sobrevivência de animais infectados. Além disso, foi demonstrado *in vitro* que os probióticos alteram a expressão gênica de certos patogênicos, reduzindo assim a sua virulência.

Os probióticos e os prebióticos podem também melhorar a capacidade das células de Paneth especializadas no intestino de produzirem peptídeos antibacterianos conhecidos como defensinas, incluindo  $\alpha$ - e  $\beta$ -defensinas e catelicidinas. Estas defensinas são ativas contra bactérias, fungos e vírus e estabilizam a função barreira do intestino. O efeito putativo é suportado por estudos em cultura de células epiteliais intestinais *in vitro* (p.e. Caco-2), mostrando que certos probióticos e prebióticos podem estimular a expressão de mRNA de  $\beta$ -defensina humana e a secreção de peptídeos. Estudos *in vitro* em animais mostraram que alguns probióticos e prebióticos podem competir com patogênicos por locais recetores nas células epiteliais ou na camada mucosa, e assim prevenir a sua aderência e translocação. Pelo contrário, outros probióticos podem ligar-se diretamente ao agente patogénico, reduzindo assim a sua capacidade de colonizar o intestino. Existem evidências em estudos em animais de que nutrir certas estirpes probióticas e prebióticos pode reduzir muito a capacidade de patogênicos como *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* e *E. coli* patogénica de translocar e invadir o fígado e o baço. Além disso, evidência *in vitro* mostra que as mesmas estirpes probióticas têm capacidades semelhantes à de alguns patogênicos em aderir às células. A influência na translocação de patogênicos em modelos de animais infetados também tem sido demonstrada para alguns prebióticos.

A fermentação sacarolítica de prebióticos à base de hidratos de carbono reduz concomitantemente os efeitos potencialmente adversos da fermentação de proteínas e outros processos, que dão origem a compostos

contendo azoto e enxofre, como a amónia, N-nitroso, azo-compostos e sulfetos. Muitos destes produtos, especialmente sulfeto de hidrogénio e compostos nitrosos, são tóxicos para as células intestinais e estão envolvidos na etiologia de cancro colorretal. Da mesma forma, a fermentação sacarolítica modula o metabolismo dos ácidos biliares após o consumo de gorduras alimentares. As bactérias promovem a desconjugação e a desidroxilação dos ácidos biliares primários secretados pelo hospedeiro em ácidos biliares secundários, como o ácido deoxicólico e o ácido litocólico, alterando a sua afinidade com os recetores e, conseqüentemente, o seu impacto no metabolismo - por exemplo sensibilidade à insulina, metabolismo lipídico e gasto energético - e imunidade do hospedeiro. Embora os exatos mecanismos subjacentes ainda não estejam perfeitamente claros, sabe-se que o metabolismo bacteriano está envolvido na formação de trimetilamina (TMA) a partir de colina e carnitina. Os prebióticos têm vindo a mostrar que reduzem a formação de TMA e o seu metabolito hepático óxido de trimetilamina (TMAO - *trimethylamine oxide*), que tem sido associado a aterosclerose. Um estudo em humanos reportou que oligossacáridos prebióticos de arabinosilana (AXOS - *Arabino Xylo-Oligo Saccharides*) reduziram o TMAO sérico.

## Interações com o hospedeiro

O mais complexo dos mecanismos pelos quais os probióticos e os micróbios endógenos estimulados podem actuar é a interação com as células imunológicas GI e o tecido linfóide de forma a modular as respostas inflamatórias e imunológicas do hospedeiro. Com isto, há potencial para que o impacto vá para além do intestino (Figura 9).

O sistema imunológico dos mamíferos consiste em dois tipos de imunidade: a imunidade inata (ou imediata não específica) e a imunidade adquirida (ou adaptativa específica). Ambas são extremamente complexas e envolvem células (imunidade celular) e outros componentes secretados no sangue, como os anticorpos e citocinas. Estes dois tipos de imunidade actuam em conjunto para proteger o hospedeiro de microrganismos patogénicos (bactérias, vírus e fungos) e outros materiais estranhos (antígenos), bem como células tumorais que surgem no hospedeiro. Para mais informações sobre este tema, pode consultar a Monografia Concisa do ILSI Europe sobre Nutrição e Imunidade no Homem (*"Nutrition and Immunity in Man"*).

Por intermédio do chamado *"cross-talk"* das células epiteliais bacterianas, parece que os micróbios ingeridos e endógenos podem afetar as respostas inatas e adaptativas do sistema imunológico do hospedeiro. A interação entre células microbianas (comensais, probióticos ou patogénicos) e as células do hospedeiro é mediada pela interação com recetores específicos, tais como os recetores do tipo

Toll (*toll-like receptors* - TLR) associados a células que revestem o trato GI de mamíferos. A ativação destes recetores inicia uma cascata de sinais imunológicos concertados, levando a diferentes respostas. Por exemplo, a resposta pode assegurar populações equilibradas de células T auxiliares (Th1 vs. Th2) maduras e células T-reguladoras, que permite uma resposta adequada a potenciais patogénicos e antígenos alimentares. Uma resposta inadequada das células T, como acontece na resposta alérgica, será mais provável na ausência de ação suficiente das células T-reguladoras. Além disso, a activação das vias imunológicas, pode também resultar na diferenciação das células B e na produção de anticorpos protetores, tais como IgA, que são secretados no lúmen intestinal. Na mesma linha de investigação, a ingestão de estirpes probióticas específicas ou prebióticos em estudos em humanos e em animais demonstrou aumentar as citocinas anti-inflamatórias, tais como a interleucina IL-10 e TGF- $\beta$ , e diminuir citocinas pré-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ . Tem sido proposto que estas alterações no balanço das citocinas possa ser um mecanismo pelo qual prebióticos e probióticos possam ser capazes de mitigar DII bem como doenças autoimunes tais como a diabetes tipo 1.

Vários probióticos e alguns prebióticos ou simbióticos modulam a actividade de células fagocitárias (neutrófilos e macrófagos) e células *natural killer* (NK) (linfócitos não-B e não-T) em animais e humanos. Os TLRs, também

chamados de receptores de proteína G em certos glóbulos brancos, podem sofrer ação tanto de probióticos como de prebióticos. Adicionalmente, os prebióticos podem impactar o sistema imune indiretamente, uma vez que os AGCC resultantes do metabolismo microbiano podem interagir com vários receptores membranares no intestino e no sangue (TLRs e GPCRs) (receptores tipo Toll e receptores acoplados à proteína G).

Embora estudos em humanos tenham descoberto alterações em biomarcadores, tais como os níveis de citocinas, e no número e actividade de células imunológicas, é ainda de extrema importância que os estudos em humanos meçam resultados clínicos. Medições clínicas, tais como a redução da incidência de infeção ou a melhoria da resposta imune a uma vacina, podem então ser associadas a medidas de biomarcadores imunes humorais ou celulares. Ainda que os resultados de estudos em animais não possam ser extrapolados para humanos, os modelos animais representam uma forma valiosa para compreender a complexa cascata de sinalização subjacente a uma resposta imunológica protetora.

Metabólitos derivados de bactérias no intestino podem ter um impacto na saúde, pela modulação da fisiologia de órgãos distantes, tais como o cérebro e o fígado, o músculo esquelético e o osso. É possível que os AGCC, particularmente o butirato e o propionato, sejam mediadores da produção e ação das hormonas da fome e da saciedade, por exemplo aumentando o peptídeo YY (PYY) e a oxintomodulina e diminuindo a produção de grelina por células tipo-endócrinas no intestino. Os AGCC podem também induzir a expressão

do peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1), o que, por sua vez, desencadeia outras vias de transdução de sinal em tecidos periféricos, por exemplo, aumentando a secreção de insulina e a utilização de glicose e reduzindo a síntese de colesterol e lípidos no fígado, ambos com grandes implicações para a saúde metabólica. Em leitões desmamados, a administração oral de AGCC é conhecida por atenuar a deposição de gordura pela redução da lipogénese e aumento da lipólise de diferentes tecidos - evidências adicionais de que os AGCC são um mediador da saúde metabólica.

Os prebióticos são conhecidos por promoverem a absorção de minerais e oligoelementos, incluindo o cálcio, resultando no aumento do conteúdo mineral ósseo em todo o corpo e da densidade da massa óssea. Os mecanismos que contribuem para a absorção de cálcio podem envolver a acidificação do conteúdo do lúmen pelos AGCC que aumentam a solubilidade do cálcio, o efeito trófico dos AGCC no tamanho da superfície de absorção da mucosa, e a interação com as junções de oclusão do epitélio intestinal. Além disso, os AGCC podem influenciar a remodelação óssea através da inibição da reabsorção óssea por redução da diferenciação dos osteoclastos.

A microbiota intestinal pode modular o desenvolvimento, a estrutura e a função cerebral e influenciar emoções e comportamentos. Os micróbios do intestino podem comunicar com o sistema nervoso através de uma variedade de rotas, incluindo o nervo

vago pela produção de neurotransmissores (Figura 8). Os probióticos, os prebióticos, e os simbióticos regulam a produção de ácido gama amino-butírico (GABA), serotonina, glutamato, e fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor* - BDNF), os quais desempenham importantes funções no controlo do equilíbrio excitatório-inibitório neural, do humor, das funções cognitivas e nos processos de aprendizagem e de memória. Por exemplo, um estudo em ratos mostrou que a ingestão de *L. rhamnosus* JB-1 regulou o comportamento emocional e a expressão do recetor GABA central via nervo vago. Descobriu-se que certas bactérias regulam a produção de neurotransmissores. Por exemplo, os lactobacilos e as *Bifidobacterium* spp produzem GABA; *Escherichia*, *Bacillus* e *Saccharomyces* spp produzem noradrenalina; *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* e *Enterococcus* spp podem produzir serotonina; *Bacillus* produzem dopamina; e lactobacilos produzem acetilcolina. As citocinas tais como a IL-1 e a IL-6, produzidas pela interação entre micróbios e células imunes, podem viajar via corrente sanguínea até ao cérebro para modular o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e libertar cortisol, que é o activador mais potente do sistema de *stress*. Estudos em humanos até à data suportam a ideia de que a microbiota intestinal é alterada durante uma grande depressão e que prebióticos e probióticos podem ter um impacto nos sintomas da depressão e ansiedade.

## CONCLUSÕES GERAIS

---

A ciência continua a expandir em torno dos conceitos de probiótico e de prebiótico. A investigação global actual tem contribuído grandemente para a compreensão do papel de microrganismos comensais GI na sua extraordinária relação de simbiose com os humanos. A continuidade da investigação sobre a microbiota intestinal irá sem dúvida levar a uma melhor percepção do impacto dos probióticos e dos prebióticos na saúde humana.

Os probióticos podem compensar, substituir ou acrescentar à microbiota intestinal e, assim, impactar o hospedeiro direta ou indiretamente mediante interações com a microbiota intestinal e/ou o hospedeiro. Os probióticos podem também atuar independentemente da microbiota. Os prebióticos são projetados para melhorar a microbiota intrínseca, estimulando seletivamente os grupos considerados importantes para a eubiose. Os efeitos dos prebióticos e probióticos podem ser localizados no trato GI ou sistêmicos, fornecendo benefícios à saúde do hospedeiro.

As últimas décadas de investigação demonstraram os potenciais benefícios para a saúde dos probióticos e dos prebióticos e contribuíram para a nossa compreensão acerca dos mecanismos pelos quais estes efeitos são obtidos. O impacto mais comumente reportado dos probióticos e dos prebióticos é o suporte da função intestinal, incluindo a frequência de evacuação, consistência das fezes, a redução da incidência de DAA e diarreia infecciosa. Continuam a surgir evidências de que os probióticos e os

prebióticos influenciam o sistema imunológico, indicando que estes podem aumentar a resistência a infeções, principalmente as do trato GI, trato respiratório, e que ajudam a mitigar alergias, particularmente em lactentes e crianças pequenas. Evidências adicionais realçam o potencial dos probióticos e dos prebióticos no impacto de outras condições do trato GI, tais como CU, bolsite, e SII. No caso dos prebióticos, um papel bem estabelecido no aumento da absorção de cálcio ainda precisa ser documentado como um benefício comprovado para a saúde óssea. O papel emergente dos prebióticos e dos probióticos no controlo do apetite e na gestão do peso também pode ser muito importante. Outra área de interesse em expansão quer para os prebióticos quer para os probióticos é o seu potencial papel anti-inflamatório para além do intestino, indicando benefícios para a saúde cardiovascular, controlo da obesidade, prevenção da síndrome metabólica e saúde mental.

Um facto extremamente importante a ter em consideração é que os benefícios reportados dos probióticos devem ser considerados específicos de cada estirpe, a não ser que seja demonstrado de outra forma. Os prebióticos, dependendo do tipo e da estrutura, terão também efeitos específicos da substância em questão. É vital que futuros estudos em humanos tenham isto em consideração. Além de estabelecerem os efeitos de cada ingrediente, estes estudos também devem ter como objetivo melhorar a nossa compreensão acerca dos mecanismos de ação e possivelmente estabelecer as bases para marcadores biológicos validados.

Esta monografia é uma tentativa de resumir a ciência e os princípios por detrás dos prebióticos e dos probióticos usados atualmente nos alimentos. É de realçar que estes ingredientes podem ser prontamente incorporados numa dieta equilibrada e que há um corpo crescente de evidência sobre os benefícios para a saúde já estabelecidos ou potencialmente novos.

## ABREVIATURAS

AGCC	Ácidos Gordos de Cadeia Curta	<i>Short Chain Fatty Acids</i>
AGCR	Ácidos Gordos de Cadeia Ramificada	<i>Branched Chain Fatty Acids</i>
APCs*	Células Apresentadoras de Antígeno	<i>Antigen Presenting Cells</i>
AXOS*	Oligossacáridos de Arabinosilana	<i>Arabino Xylo-Oligo Saccharides</i>
BDNF*	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
CU	Colite Ulcerosa	<i>Ulcerative Colitis</i>
DAA	Diarreia Associada a Antibióticos	<i>Antibiotics-Associated Diarrhea</i>
DC	Doença de Crohn	<i>Crohn's Disease</i>
DII	Doença Inflamatória Intestinal	<i>Inflammatory Bowel Disease</i>
ECN	Enterocolite Necrosante	<i>Necrotising Enterocolitis</i>
EFSA*	Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar	<i>European Food Safety Authority</i>
FDA*	Administração de Alimentação e Fármacos	<i>Food and Drug Administration</i>
FOS*	Frutoligossacáridos - tipicamente aplicados a misturas de DP3-DP9	<i>Fructo-Oligosaccharides - typically applied to mixtures of DP3-DP9</i>
GABA*	Ácido Gama-Aminobutírico	<i>Gamma-Aminobutyric Acid</i>
GALT*	Tecido Linfóide Associado ao Intestino	<i>Gut-Associated Lymphoid Tissue</i>
GI	Gastrointestinal	<i>Gastrointestinal</i>
GLP-1*	Peptídeo Semelhante ao Glucagon-1	<i>Glucagon-Like Peptide 1</i>
GOS*	Galactooligossacáridos - tipicamente aplicados a misturas de DP3-DP9	<i>Galacto-Oligosaccharides - typically applied to mixtures of DP3-DP9</i>
GP	Grau de Polimerização, i.e. número de monómeros numa molécula	<i>Degree of Polymerisation i.e. the number of monomers in a molecule</i>
GRAS*	Geralmente Reconhecido Como Seguro	<i>Generally Recognized As Safe</i>
HMO*	Oligossacárido do Leite Humano	<i>Human Milk Oligosaccharide</i>
IL	Interleucina	<i>Interleukin</i>
IPA*	Associação Internacional de Probióticos	<i>International Probiotics Association</i>
ISAPP*	Associação Internacional Científica para os Probióticos e Prebióticos	<i>International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics</i>
IVAS	Infeção das Vias Aéreas Superiores	<i>Upper Respiratory Tract Infection</i>
PQS	Presunção Qualificada de Segurança	<i>Qualified Presumption of Safety</i>
PYY*	Peptídeo YY	<i>Peptide YY</i>
SII	Síndrome do Intestino Irritável	<i>Irritable Bowel Syndrome</i>
TLR*	Recetores do tipo Toll	<i>Toll Like Receptors</i>
TMA*	Trimetilamina	<i>Trimethylamine</i>
TMAO*	Óxido de Trimetilamina	<i>Trimethylamine Oxide</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colónias	<i>Colony Forming Units</i>

\*Ao longo do texto da presente monografia utilizam-se acrónimos em Inglês, que são usados em termos científicos em diferentes línguas, incluindo a Língua Portuguesa.

## **GLOSSÁRIO**

---

### ***Anticorpo***

Uma proteína específica produzida no sangue ou em tecidos como parte da resposta imunológica a um antigénio estranho, tal como uma bactéria ou toxina, ou uma proteína alimentar que interage com o antigénio inactivando-o, formando, assim, a base de imunidade.

### ***Antigénio***

Uma substância, normalmente um peptídeo ou uma proteína, que o corpo reconhece como estranha e que pode provocar uma resposta imunológica (p.e. antigénio bacteriano, antigénio alimentar ou toxina).

### ***Comensal***

Tem origem do latim “mesa comum”. Significa que dois organismos vivem em comunidade de uma forma que é benéfica para ambos, ou pelo menos, não é prejudicial a nenhum deles. Assim, as bactérias comensais vivem no intestino humano e a sua relação pode ser neutra ou benéfica.

### ***Citocinas***

Proteínas de baixo peso molecular (que não anticorpos) produzidas por vários tipos de células e envolvidas na comunicação célula-a-célula e no controlo da resposta imunológica e inflamatória. Citocinas incluem interferões, interleucinas e linfocinas.

### ***Disbiose***

A condição da microbiota intestinal em que um ou mais microrganismos potencialmente prejudiciais estão presentes em quantidades elevadas, criando assim uma situação propensa a doenças ou distúrbios notáveis, tais como fezes líquidas, infeções intestinais e inflamações.

### ***Eubiose***

Formalmente referida como “normobiose” caracteriza a composição de uma microbiota intestinal estável e equilibrada num indivíduo saudável. Há uma compreensão incompleta sobre o que constitui a eubiose e assim, não existe uma definição geral em termos de composição ou função bacteriana.

### ***Fermentação***

A oxidação anaérobica de compostos orgânicos para a produção de energia metabólica na ausência de oxigénio como recetor de eletrões. Equivalentes de redução são libertados como hidrogénio, amónia, sulfeto de hidrogénio, metano ou álcoois. Por exemplo, a oxidação de hidratos de carbono pode produzir ácidos gordos de cadeia curta, etanol, ácido láctico e/ou gases, e também energia na forma de ATP.

### ***Micróbio/microrganismo***

Organismos pequenos, geralmente unicelulares, como as bactérias, os arqueões, os fungos - tais como leveduras, e bolores, que também podem ser pluricelulares - as algas unicelulares e plâncton. Embora as definições variem, nós consideramos que os micróbios não incluem vírus.

### ***Microbiota***

O conjunto de todos os micróbios que são encontrados numa região particular ou *habitat*- assim a microbiota intestinal descreve toda a população microbiana que é encontrada no intestino ou no trato gastrointestinal. O termo “microflora” já não é usado.

### ***Oligossacárido***

Um hidrato de carbono que consiste em 3-10 unidades de monossacáridos unidos por ligações glicosídicas. Alguns são prebióticos.

### ***Polissacárido***

Um hidrato de carbono que compreende 10 ou mais unidades de monossacáridos.

### ***Prebiótico***

Um substrato que é seletivamente utilizado por microrganismos hospedeiros, que conferem um benefício à saúde.

### ***Probiótico***

Microrganismos vivos que, quando administrados nas quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro.

### ***Simbiótico***

Uma mistura que inclui microrganismos vivos e substratos utilizados seletivamente por microrganismos hospedeiros e que confere um benefício à saúde do hospedeiro.

### ***Taxonomia***

A ciência que identifica espécies e as organiza numa classificação.

## FONTES BIBLIOGRÁFICAS E LEITURA ADICIONAL

---

Binda, S. *et al.* (2020). Criteria to Qualify Microorganisms as 'Probiotic' in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11:1662.

Blaak, E. E., *et al.* (2020). Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Beneficial Microbes*, 11(5):411-455.

Borewicz, K., *et al.* (2019). The effect of prebiotic fortified infant formulas on microbiota composition and dynamics in early life. *Scientific reports*, 9(1):1-13.

Cani, P.D. & Delzenne N.M. (2011). The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacology & Therapeutics*, 130(2):202-212.

Canfora, E.E., *et al.* (2019). Gut microbial metabolites in obesity, NAFLD and T2DM. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(5):261-273.

Dang, A.T., & Marsland, B.J. (2019). *Microbes*, metabolites, and the *gut-lung* axis. *Mucosal Immunology*, 12(4):843-850.

Delgado, G.T.C., & Tamashiro, W.M.D.S.C. (2018). Role of prebiotics in regulation of microbiota and prevention of obesity. *Food Research International*, 113:183-188.

Dutch Microbiome Project: <https://www.systemsgenetics.nl/project/lifelines-deep/>

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

EFSA (2016). Guidance on the scientific requirements for health claims related to the immune system, the gastrointestinal tract and defence against pathogenic microorganisms. *EFSA Journal*, 14:4369.

Flemish Gut Flora project <http://www.vib.be/en/research/Pages/The%20Flemisch%20Gut%20Flora%20project.aspx>

Hiel, S., *et al.* (2020). Link between gut microbiota and health outcomes in inulin-treated obese patients: Lessons from the Food4Gut multicenter randomized placebo-controlled trial. *Clinical Nutrition*, 39(12):3618-3628.

Gibson, G.R., *et al.* (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8):491-502.

Hill, C., *et al.* (2017). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8):506-514.

Human Microbiome Project, National Institutes of Health, USA: [www.hmpdacc.org](http://www.hmpdacc.org)

ISAPP infographics (<https://isappscience.org/for-consumers/infographics/>) and videos (<https://isappscience.org/for-consumers/videos/>) addressing prebiotics, and probiotics, and synbiotics.

King, C.H., et al. (2019). Baseline human gut microbiota profile in healthy people and standard reporting template. *PloS one*, 14(9):e0206484.

Kleerebezem, M., et al. (2019). Understanding mode of action can drive the translational pipeline towards more reliable health benefits for probiotics. *Current Opinion in Biotechnology*, 56:55-60.

Martin-Gallausiaux, C., et al. (2021). SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *Proceedings of the Nutrition Society*, 80(1):37-49.

MetaHit - Metagenomics of the human intestinal tract: <http://www.metahit.eu/>

Moeller, A. H., et al. (2016). Cospeciation of gut microbiota with hominids. *Science*, 353(6297), 380-382.

Musilova, S., et al. (2014). Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. *Beneficial Microbes*, 5(3):273-283.

O'Toole, P.W. et al. (2017). Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nature Microbiology*, 2(5):1-6.

Sanders, M.E., et al. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16(10):605-615.

Swanson, K.S., et al. (2020). Effect of fructans, prebiotics and fibres on the human gut microbiome assessed by 16S rRNA-based approaches: a review. *Beneficial microbes*, 11(2):101-129.

Swanson, K.S., et al. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(11):687-701.

The American Gut Project: <http://humanfoodproject.com/americangut/>

The Million Microbiome of Humans Project (MMHP): <https://en.mgitech.cn/news/114/>

van den Akker, C.H.P., et al. (2020). Probiotics and Pre-term Infants: A Position Paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition and the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Working Group for Probiotics and Prebiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 70(5):664-680.

World Gastroenterology Organisation Practice Guideline: Probiotics and Prebiotics. (2017). <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>

Zheng, J., et al. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4):2782-2858.

## MONOGRAFIAS CONCISAS DO ILSI EUROPE

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

As monografias Concisas do ILSI Europe podem ser descarregadas em: <https://ilsi.eu/publications/concise-monograph-series/>

O ILSI Europe também publica Relatórioa nas suas Séries de Relatórios. Os relatórios do ILSI Europe podem ser descarregados em: <https://ilsi.eu/publications/report-series/>

Predominantemente, o ILSI Europe publica artigos e anais em periódicos revisados por pares. A maioria deles pode ser descarregada em: <https://ilsi.eu/publications/publications/>

Av. E. Mounier 83 / B.6. B-1200 Brussels  
T +32 (0)2 771 00 14 – F +32 (0)0 762 00 44

[www.ilsieurope.eu](http://www.ilsieurope.eu)

The International Life Sciences Institute (ILSI) European branch  
*Collaboration for safe, nutritious and sustainable food*



@ILSI\_Europe



ILSI Europe



ILSI Europe

EU Transparency Register Identification Number: 241834336293-06

