

MONOGRAFIA PROBIÓTICO

20 bi

Lactobacillus acidophilus NCFM® – *Lactobacillus paracasei* Lpc-37™
Bifidobacterium lactis BI-04™ – *Bifidobacterium lactis* Bi-07™
Bifidobacterium bifidum Bb-02™
em cápsulas



Eduardo Antonio André

CRM 33682 (SP)

Doutor em Gastroenterologia pela FMUSP.

Pós-Doutor em Gastroenterologia pela
Universidade de Londres - Reino Unido.

Microbiota Gastrointestinal

Homens e animais hospedam uma enorme variedade de microrganismos, em sua maior parte bactérias, que habitam as regiões que proporcionam acesso através dos orifícios corpóreos. Esta composição, denominada microbiota, é adquirida logo após o nascimento e persiste ao longo da vida, influenciando funções fisiológicas, bioquímicas e imunológicas¹.

Comunidades microbianas específicas existem na cavidade oral, no trato respiratório, no tubo digestivo, na vagina e na pele em decorrência das propriedades físicas e químicas distintas nesses locais. A maior população desses microrganismos, entretanto, é encontrada nas regiões do íleo e dos cólons onde se alcançam densidades populacionais de 10^{11} (100 trilhões) seres vivos por grama de conteúdo luminal².

As necessidades de energia e carbono para manutenção da microbiota colônica são provenientes dos carboidratos, proteínas e gorduras não digeridas no intestino delgado, componentes de secreção intestinal, principalmente mucinas, e de resíduos do epitélio intestinal.

No estômago, pelas características do pH baixo, as populações dos microrganismos são escassas porém, tanto suas densidades quanto diversidades aumentam à medida que progridem do intestino delgado (10^3 microrganismos/ml de conteúdo luminal) ao cólon³.

Reconhecem-se atualmente, cerca de 500 a 1000 diferentes espécies na microbiota intestinal humana sendo o predomínio de anaeróbios⁴. É importante, no entanto, saber que em recém-nascidos vertebrados o trato gastrointestinal é estéril, porém a colonização por microrganismos surge rapidamente após o nascimento².

Portanto, a primeira inoculação de bactérias através de cavidade oral do recém-nascido ocorre durante seu nascimento. Na amamentação **lactobacilos** e **bifidobactérias**, são ingeridas e já estão presentes na língua dos recém-nascidos no primeiro dia de vida, associando-se ao *Streptococcus salivaris*, com propriedade de ácido resistência. As **bifidobactérias** são organismos anaeróbios, pleomórficos com capacidade de metabolização dos carboidratos da dieta, síntese e excreção de vitaminas lipossolúveis⁵ e são os organismos predominantes nos cólons de crianças sob amamentação (95%) proporcionando proteção contra infecções⁶.

Nos adultos o trato gastrointestinal abriga organismos como bactérias, archaeas e eucariotas. As archaeas constituem um grupo de microrganismos unicelulares e sem núcleo definido enquanto os eucariotas são organismos com células contendo núcleo. Sabe-se que as bactérias que habitam o intestino humano possuem a maior densidade celular de todos os ecossistemas pertencendo, em sua grande maioria, aos gêneros Bacteroides (48%) e Firmicutas (51%). Os primeiros incluem Bacteroides e os Firmicutas os gêneros *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, dentre outros. Na microflora normal, identificaram-se 395 bactérias e um filotipo archae, através de estudo estrutural molecular⁷. A importância relacionada à seleção de organismos específicos é o benefício para o hospedeiro visto que a atividade bacteriana colaborativa faz-se necessária para o metabolismo dos nutrientes que proporciona o fornecimento de energia ao hospedeiro, implicando na mesma ação de expressão destas sobre bactérias que não são benéficas ao organismo⁸.

Probióticos

Há vários séculos a utilização de probióticos baseia-se em propostas de aumento da longevidade e de um trato digestório saudável. O termo **probiótico** provem da língua grega, significando *para vida* e teve sua utilização a partir da década de 60. No início do século 20 surgiram sugestões de que as modificações da flora intestinal por bactérias adequadas, substituindo organismos prejudiciais à saúde, conceituam-se como probióticos^{9,10}.

A Organização Mundial da Saúde definiu probióticos como **"organismos vivos que ao serem administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro"**¹¹.

Historicamente, credita-se a Elie Metchnikoff, russo ganhador do prêmio Nobel no início do século 20, a primeira publicação sobre probióticos onde descrevia maior longevidade dos indivíduos do leste europeu que tinham hábito de utilizar leite fermentado por bactérias ácido lácticas. Responsabilizava, em sua teoria, que a produção de substâncias tóxicas no cólon, por agentes proteolíticos, colaboravam no processo de envelhecimento e que o consumo de leite fermentado recobriria a mucosa colônica com bactérias protetoras reduzindo o efeito danoso ao intestino, particularmente pela redução do pH intestinal, que suprimindo tais bactérias retardariam ou impediriam a proteólise por tais agentes, aumentando a longevidade¹².

Os probióticos constituem-se, em sua maioria, de bactérias ou brifas, contidos como microrganismos isolados ou associados. Os mais utilizados são provenientes de bactérias ácido lácticas, principalmente *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, sendo importante ressaltar que seus efeitos são mais comumente estabelecidos por cepas determinadas de forma a reconhecer que benefícios de uma podem ser creditados a outras, mesmo quando de espécies únicas visto potenciais benefícios serem, comumente, individuais^{13,14}.

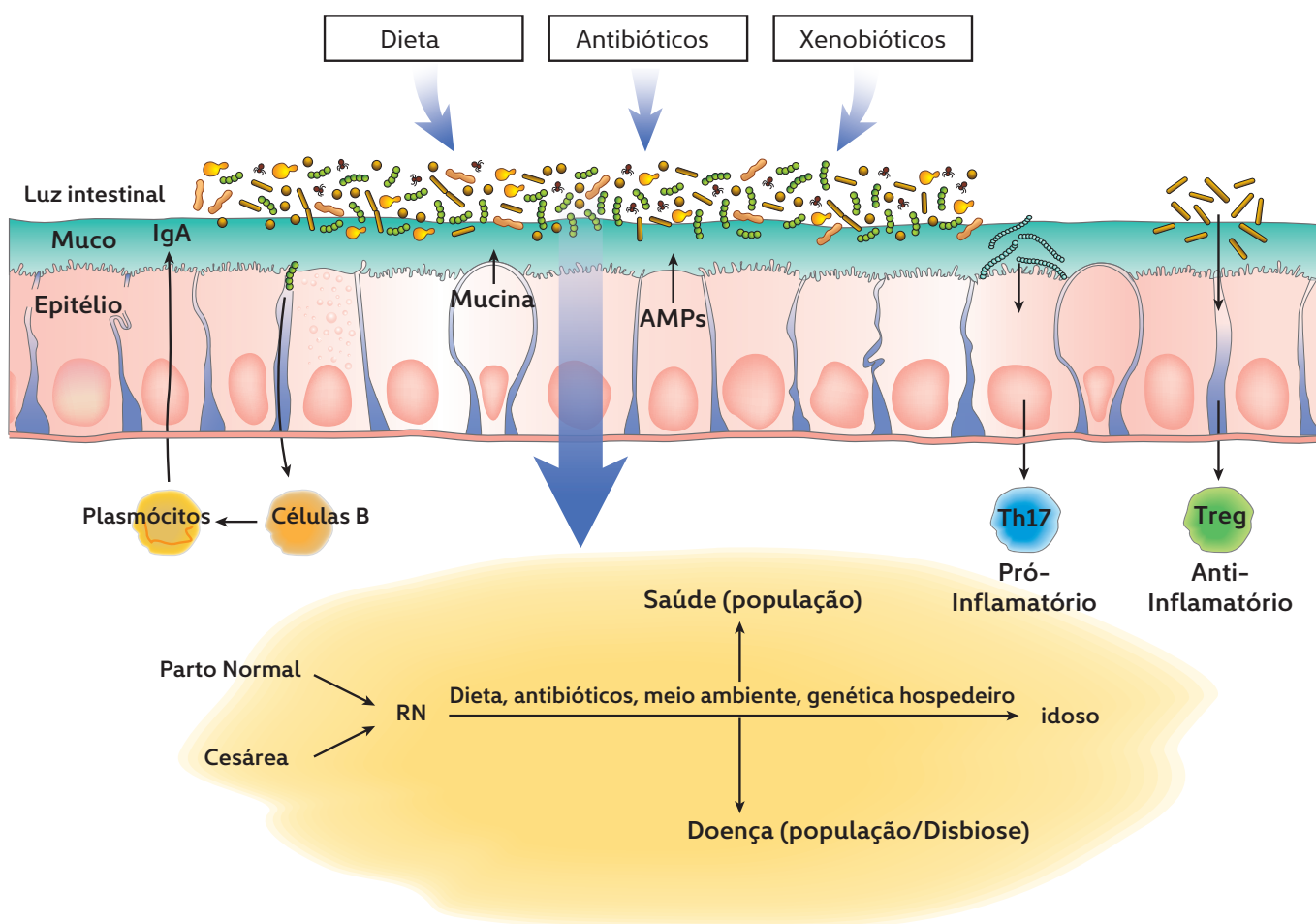
Princípios fundamentais para utilização de probióticos baseiam-se em que os mesmos sejam provenientes de cepas eficientes e seguras para seres humanos, que permaneçam viáveis pelo tempo preconizado para utilização e, principalmente, não possuam riscos de patogenicidade¹⁵.

A importância da associação de diferentes organismos relaciona-se, principalmente, à possível ação sinérgica para supressão de organismos patogênicos¹⁷.

Farmacologia

Diversos mecanismos de ação são atribuídos aos probióticos, particularmente **lactobacilos** e **bifidobactérias**, que além da produção de ácido láctico, fornecem ácido acético e ácido propiônico, responsáveis por redução do pH intestinal, supressão do crescimento de organismos patogênicos, bem como o restabelecimento da flora intestinal¹⁸.

O Microbioma Humano na Saúde e na Doença



Adaptado de: Gastroenterology 2014;146,6.

Substâncias como o peróxido de hidrogênio, ácidos orgânicos, bacteriocinas e biosurfactantes também são produzidos pelos probióticos e com ação contra agentes patogênicos. Espécies de *Lactobacillus* mostram-se capazes de secretar compostos com baixo peso molecular que possuem propriedade de inibição de bactérias Gram positivas, Gram negativas e anaeróbicas¹⁹.

Outro mecanismo dos probióticos para redução de patógenos no trato GI e também nas vias urinárias é por competição de adesão ao epitélio²⁰, demonstrados por **lactobacilos** contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*^{21,22}. Modulação da produção de mucinas intestinais pelas células epiteliais, com características de glicoproteínas de alto teor molecular, e a estabilização da barreira mucosa, reduzindo a permeabilidade intestinal, são também exercidas como efeito protetor pelos probióticos¹⁸.

Além de suas funções de proteção locais no trato GI, importante efeito de imunomodulação tem sido observado com utilização dos probióticos, tanto em animais de experimentação quanto em humanos. O aumento da resposta imune é demonstrado pela atividade fagocítica linfocitária e por macrófagos²³, bem como pelo aumento de imunoglobulina A e estímulo de produção de citocinas²⁴.

Crianças que apresentavam quadros diarreicos agudos causados por rotavírus, obtiveram redução do quadro diarreico ao receberem lactobacilos ao tempo em que se constatou aumento das imunoglobulinas IgA, IgG e IgM²⁵.

Inúmeros benefícios a diversas condições de saúde têm sido atribuídos aos probióticos fazendo-se, portanto, necessário reconhecer sua eficácia, segurança e adequada escolha aos tratamentos propostos. Indicações para uso incluem diarreias agudas, diarreias associadas ao uso de antimicrobianos, infecção pelo *Clostridium difficile*, diarreia do viajante, síndrome do intestino irritável, doenças inflamatórias intestinais, infecções geniturinárias e alergias.

Frente ao amplo espectro de condições para tratamento com probióticos a importância de sua disponibilização adequada é fundamental. Isto implica em viabilidade, que é sua capacidade de sobrevivência ao longo do trato gastrointestinal e a colonização, ainda que temporária, nos tecidos para a preservação de concentrações que sejam eficientes para cada tipo de cepa. **Estão bem estabelecidas as necessidades de ingesta de bilhões de organismos para que se modifique com benefícios o microambiente intestinal, com dosagens de 1 a 20 bilhões de unidades formadoras de colônias (UFC) por dia para os lactobacilos^{26,27}.**

Efeitos adversos e segurança

Na maioria das vezes a administração oral dos probióticos é segura e com boa tolerabilidade, esporadicamente relatando-se flatulência que costuma ser fugaz^{27,28}. Embora exista possibilidade teórica de infecções sistêmicas, que poderiam ocorrer por translocação bacteriana intestinal ou fungemia, o risco estimado de bacteremia causada por **lactobacilos** é inferior a 1 por 1 milhão de pessoas que os utilizam e de fungemia por *Saccharomices*, aproximadamente, 1 a cada 5,6 milhões de usuários^{29,30}. Existe, ainda, sugestão de eventual transferência antimicrobiana dos probióticos a bactérias que teriam potencial patogênico, entretanto, não se tem observação ou relato dessa condição³¹.

Possíveis fatores de risco, denominados maiores, foram referidos em revisão da literatura para condições de comprometimento imunológico grave, tais como quadros consumptivos ou neoplasias ou recém-nascidos prematuros. Relataram-se fatores de risco menores para situações como cateteres venosos centrais, alterações da superfície epitelial intestinal, doenças cardiológicas valvares, administração de probióticos via jejunostomia e, mais recentemente, quando da utilização em pancreatite aguda grave com objetivo de prevenção de infecções^{32,33}.

Interação de drogas

Atenção à administração concomitante de probióticos e de antimicrobianos deve-se ao fato que os microrganismos vivos dos probióticos podem ter redução numérica e, consequentemente, de sua eficácia. **Recomenda-se, portanto, sua utilização em período superior a 2 horas após utilização do antibiótico.**

Pacientes sob tratamento com drogas imunossupressoras como azatiopina, ciclosporina, tacrolimus e antineoplásicos, também devem utilizar, quando houver a recomendação médica, probióticos com cautela pelos riscos eventuais de infecção por oportunismo para colonização de agentes inoportunos^{34,35}.

O Porquê das Formulações de Probióticos com Multicepas

O benefício da formulação com múltiplas cepas de probióticos é a oferta de bactérias com propriedades de sinergismo de ação que podem proporcionar maior eficácia na prevenção e também no tratamento da disbiose intestinal, principalmente quando desencadeada pelo uso de antimicrobianos.

Diversos fatores possíveis de aumentar a eficácia dos probióticos com várias cepas administradas simultaneamente, relacionam-se às diferentes capacidades antimicrobianas desses agentes tais como produção de ácidos orgânicos fracos, bacteriocinas, peróxido de hidrogênio, coagregação de moléculas com propriedade de bloquear a disseminação de patógenos e/ou de biosurfactantes capazes de inibir a adesão, além de estimulação da produção e mucosecreção de IgA pelo hospedeiro.

A proposta da associação de diferentes cepas bacterianas baseia-se na fundamentação de maior eficácia e consistência de ação do que na utilização de cepas únicas, acrescido do fato de que tais probióticos apresentam possibilidades de diferentes efeitos entre indivíduos que os utilizam. Muitas vezes os probióticos são utilizados para condições patológicas distintas sabendo-se que suas propriedades são específicas de cada cepa, havendo sugestões que além da menor chance de colonização do trato GI por um único probiótico, diferentes doenças necessitariam de diferentes cepas³⁶. Desta forma, considerações foram feitas sugerindo-se que os probióticos deveriam possuir combinações de cepas distintas que, assim, se completariam oferecendo propriedades sinérgicas e melhor benefício à saúde^{37,38}.

Diversas condições clínicas que se apresentam com diarreia têm sido tratadas com probióticos. Algumas causas frequentes de diarreias em crianças são tratadas com antimicrobianos favorecendo modificações do ecossistema intestinal. Antibióticos, desta forma, podem proporcionar alterações da flora intestinal, ou disbiose, que podem resultar no surgimento de microrganismos oportunistas ou resistentes, induzindo diarreias. Estudo para avaliar a eficácia dos probióticos em crianças que receberam antibióticos demonstrou que associação de diferentes cepas, incluindo **lactobacilos** e **bifidobactérias**, teriam maior capacidade na prevenção do desequilíbrio da microbiota do que probióticos com cepas isoladas³⁹.

Assim, da mesma forma que a combinação de probióticos demonstra importante atividade antimicrobiana, haveria possibilidade de que determinadas combinações de cepas poderiam ter sua eficácia diminuída. Estudos *in vitro*, no entanto, que simularam condições *in vivo* puderam demonstrar que tais associações mostram-se de grande benefício, exceto quando da presença do *Lactobacillus plantarum* que inibiu a eficiência de tais associações⁴⁰. Portanto, os efeitos de benefícios dos probióticos encontram-se relacionados ao gênero espécie e cepas específicas, de forma que a adequada associação de diferentes espécies e cepas tornam-lhes mais eficientes que os constituídos por uma única cepa⁴¹.

Formulações probióticas multicepas podem ser mais funcionais, efetivas e consistentes do que formulações probióticas com uma única cepa.

Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistain and multispecies probiotics – A comparison of functionality and efficacy, 2004. Inter J Food Microbiology, 96:219-233

Mecanismos de Ação dos Probióticos Multiespécies

Fatores de potencialização da associação de diferentes espécies de probióticos capazes de aumentar sua eficácia, relacionam-se ao incremento de resistência de colonização no ecossistema intestinal contra agentes intestinais patogênicos; maior probabilidade de sobrevivência em seu trajeto ao cólon; formação de nichos que limitam agentes patogênicos; modificações do pH intraluminal favorecendo o crescimento de bactérias acidofílicas e, também, a própria produção de carboidratos, dos quais existem cepas que se beneficiam de sua suplementação. Tabela 1.

Probióticos com múltiplas espécies de lactobacilos e bifidobactérias podem ser mais efetivos na prevenção de disbiose provocada por antibióticoterapia do que outras formulações probióticas.

Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistain and multispecies probiotics – A comparison of functionality and efficacy, 2004. Inter J Food Microbiology, 96:219-233.

Tabela 1 - Diferenças entre Probióticos Constituídos por Múltiplas Cepas e por Cepas Únicas

Probióticos Multiespécies	Probiótico com Cepas Únicas
Colonização	
Aumento de chance de colonização • criação de nicho probiótico; • redução de atividades antagônicas da microflora endógena contra outras cepas sensíveis • indução de pH ótimo • criação de nicho anaeróbico • aumento da adesividade	• cepa deve sobreviver a todas as barreiras do hospedeiro e à própria microflora endógena
Benefícios à Saúde	
• efeitos aditivos das propriedades de cepas específicas: colonização de diferentes nichos • efeitos sinérgicos de cepas diferentes com propriedades específicas; efeito probiótico total pode ser maior que a soma de propriedades individuais; • inter-relação positiva entre cepas e aumento da atividade biológica • simbiose entre diferentes cepas (diferentes metabolismos)	• efeito probiótico limitado às propriedades específicas da cepa

Adaptado de Timmerman e col⁴⁹

Probióticos contendo uma única cepa têm pouca probabilidade de colonizar com sucesso o trato gastrointestinal.

Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistain and multispecies probiotics – A comparison of functionality and efficacy, 2004. Inter J Food Microbiology, 96:219-233.

Portanto, o princípio do benefício dos probióticos constituídos por diferentes espécies e cepas baseia-se na demonstração de que suas combinações de características favoráveis são superiores aos com cepas únicas. Exemplificando-se, é sabido que enquanto o gênero *Lactobacillus* tem ação preferencialmente no intestino delgado, as **bifidobactérias** atuam predominantemente no intestino grosso.

Probióticos constituídos por diferentes cepas têm o propósito de adicionar efeitos sinérgicos de cepas isoladas quando de suas associações, pela simbiose, caracterizada pela propriedade de aumento de crescimento ou metabolismo das cepas⁴². Esta diversidade de cepas, quando associadas, demonstram maior capacidade de oferta de produtos benéficos ao organismo, como já mencionado, produção de bacteriocinas, inibição de proliferação de agentes patogênicos, inibidores de adesividade tecidual, produção de muco e de IgA, entre outros⁴³.

A combinação de diferentes espécies, quando adequadamente realizada, oferece benefícios de sinergismo capazes de proporcionar maior atividade dos probióticos e à simbiose entre cepas distintas sugerindo-se que estas apresentam vantagens sobre às constituídas por cepas isoladas⁴³.

20 bi

A maioria dos probióticos utilizados atualmente constitui-se de **lactobacilos** ou **bifidobactérias**. Seus benefícios relacionam-se à redução de riscos para determinadas entidades patológicas e/ou para melhora de funções fisiológicas para preservação da saúde.

Entre os principais benefícios à saúde, os probióticos relacionam-se ao bem estar gastrointestinal, regulação fisiológica, assim como na modulação da resposta imunológica na dependência direta de cada cepa e da resposta individual de cada pessoa.

Alguns quesitos devem ser preenchidos para que se alcance o efeito benéfico dos probióticos, principalmente relacionados ao aumento de ação no intestino após ter sido ingerido e também para manutenção, ou sobrevivência, do número adequado de colônias ao alcançar esse segmento do trato gastrointestinal. Assim:

1. O organismo deve ser totalmente identificado por gênero, espécie e cepa
2. Deve ser seguro para consumo
 - não patogênico ou carreador de genes de resistência aos antibióticos
 - não ser degradável na mucosa intestinal ou por conjugação aos ácidos biliares
3. Deve sobreviver ao trânsito intestinal: tolerância ao ácido e à bile
4. Deve aderir à superfície mucosa e colonizar o intestino, mesmo que em tempo breve
5. Deve possuir efeitos salutareos documentados:
 - produzir substâncias antimicrobianas e antagonizar bactérias patogênicas
 - deve ter benefício documentado em pelo menos estudos de fase 2
6. Deve manter estabilidade durante processamento e armazenamento

Adaptado de: Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gerssawin ME. Probiotics and immunity. J Gastroenterol 2009;44:26-46.³⁶

Encontra-se bem estabelecida a proposta de que a maneira correta de avaliar os probióticos é através de estudos *in vitro* e *in vivo* das cepas utilizadas, principalmente por estudos realizados em humanos.

A formulação probiótica contendo *Lactobacillus acidophilus* NCFM®, *Lactobacillus paracasei* Lpc-37, *Bifidobacterium lactis* Bl-04 e *Bifidobacterium lactis* Bi-07 demonstrou, em estudo, redução da incidência, duração e severidade de diarreia associada a antibiótico (DAA) e alguns sintomas associados, bem como redução na incidência de diarreia associada a *Clostridium difficile* (DADC) de forma dose dependente.

Arthur C. Ouwehand*, Cai Donglianb, Xu Weijianb, Morgan Stewartc, Jiayi Nid, Tad Stewarte, Larry E. Millerc
Probiotics reduce symptoms of antibiotic use in a hospital setting: A randomized dose response study

Lactobacillus acidophilus NCFM®, *Lactobacillus paracasei* Lpc-37, *Bifidobacterium lactis* Bl-04 e *Bifidobacterium lactis* Bi-07 são cepas amplamente estudadas e com demonstração de seus benefícios em revisões científicas qualificadas⁴⁴⁻⁴⁷.

Características das Espécies

Lactobacillus acidophilus é um Gram positivo não esporulado, homofermentativo, catalase negativo, que habita todo trato gastrointestinal (GI) e vagina em humanos. Encontra-se em diversos produtos lácteos fermentados, sendo amplamente utilizado em produtos probióticos pelos benefícios demonstrados por diferentes cepas de *L. acidophilus*.

Seleção e Taxonomia

Sabe-se que o grupo de organismos reconhecido como *L. acidophilus* é bastante heterogêneo. Estudos de hibridização DNA-DNA mostram 6 diferentes espécies, divididos em grupos por analogia do DNA. Embora o grupo A₁ seja designado como *L. acidophilus*, dificuldades de diferenciação fenotípica incluem-no como pertencente ao “grupo *L. acidophilus*”. Desta forma, o verdadeiro tipo A1, com confirmação por métodos fenotípicos e genotípicos, é o *Lactobacillus acidophilus* NCFM® que inclui a sequência de genes 16S rRNA e hibridização por técnica espécie-específica e sequência genômica total (figura 2).



Figura 2 – Microscopia eletrônica do *L. acidophilus* NCFM®

Lactobacillus acidophilus NCFM® foi isolado em humanos no início de 1970 e o nome NCFM® derivado de “*North Carolina Food Microbiology*”, laboratório de pesquisa da Universidade Estadual da Carolina do Norte (NCSU) onde ocorreu seu primeiro isolamento bem sucedido.

***L. acidophilus* NCFM®**

Várias designações de cepas para *L. acidophilus* NCFM® ou para colônias isoladas de suas culturas são encontradas em referências literárias. Pelos padrões de DNA, NCFM®, NCK56, NCK45, N₂, RL 8KR, RL 8KS e RL 8 K são, essencialmente, idênticas.

Dessas espécies, o ***L. acidophilus* NCFM®** é a **única com determinação genômica sequenciada**, tendo-se identificado várias regiões de importância para sua função probiótica tanto na manutenção quanto na recomposição da flora gastrointestinal (GI). Tais genes permitem propriedades para produção de bacteriocina, ação no metabolismo de açúcar e de prebióticos⁴⁸, aderência às células humanas⁴⁹, ação sobre o metabolismo da lactose e tolerância a estresses fisiológicos relevantes e resistência ao ácido e à bile⁵⁰⁻⁵².

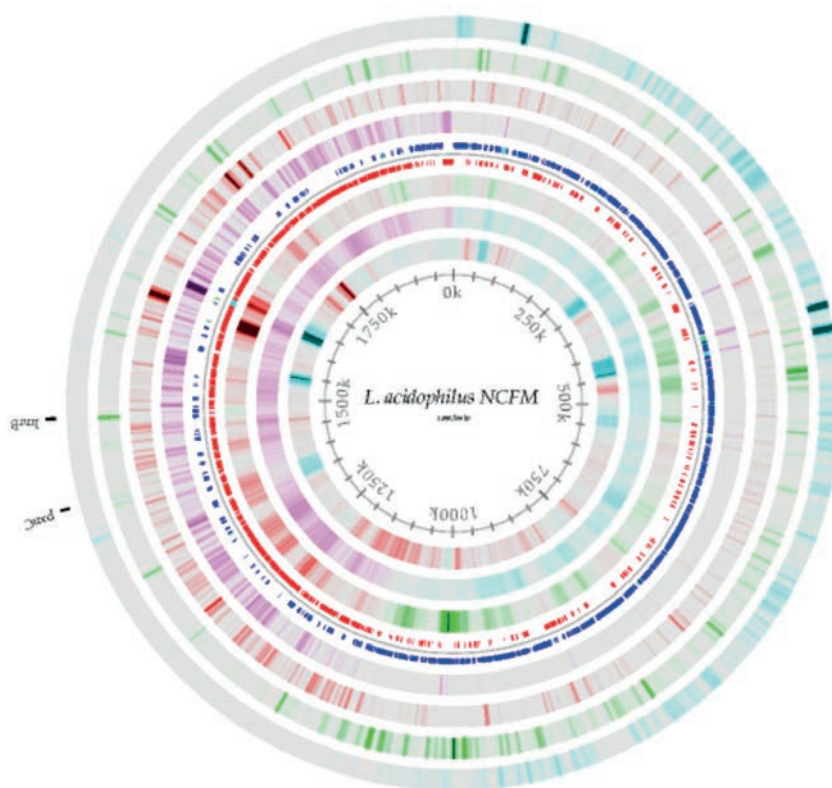


Figura 3 - Atlas Genômico do *L. acidophilus* NCFM®

Através da reconstrução genômica da via metabólica verifica-se a adaptação do *L. acidophilus* NCFM® ao ambiente do trato GI e suas modificações genéticas avaliadas para estabelecimento da função probiótica, relacionada a produtos de genes específicos, a determinação funcional de probiótico⁵³⁻⁵⁶. Essas mesmas informações genômicas são também utilizadas não só para o desenvolvimento de métodos de identificação de cepas, mas também para melhora do processo de industrialização.

Identificação da cepa

Para documentação de atividade probiótica de determinada cepa é fundamental que esta não esteja sujeita a modificações genéticas ou fisiológicas durante seu processamento a fim de manter sua qualidade, pureza e consistências. Assim, utilizam-se técnicas para congelamento das bactérias evitando-se risco de modificações genéticas assim como preservação de sua integridade.

A identificação da bactéria é realizada através de sequenciamento genético do gene 16S rRNA.

Segurança para Consumo

Bactérias ácido lácticas são consideradas adequadas e seguras para consumo humano. Vários estudos demonstram essa segurança, com raros casos de infecções a elas associadas^{57,58}.

Estudo observacional realizado na Finlândia não constatou nenhum caso de bacteremia em período de 10 anos de segmento⁴⁸.

Mais especificamente o *L.acidophilus* consumido em leites fermentados e outros produtos alimentares há várias décadas, foi citado e listado como produto seguro nos Estados Unidos e na Europa pelos "Inventory of Microorganisms With Documented History of the in Human Food" e pelo "European Food Safety Authority (EFSA)", respectivamente^{59,60}.

Essa segurança tem sido constatada particularmente em mais de 30 anos de utilização em bilhões de alimentos e complementos contendo *L. cidophilus* NCFM®. Em projeto realizado pela União Europeia (EU – funded PROSAFE Project) foi possível demonstrar-se além de segurança a inexistência de resistência antimicrobiana adquirida ao *L.acidophilus* (NCFM). Ao longo do período de estudo a análise de sua sequência genômica permitiu confirmar a ausência de elementos genéticos transferíveis relacionados à resistência aos antibióticos⁵⁰.

Propriedades do *L.acidophilus* Relacionados à Saúde

Lactobacillus acidophilus NCFM® tem sido extensivamente estudado, experimentalmente e em humanos *in vitro* demonstraram-se características indicativas de seus benefícios e propriedades como resistência ao ácido e à bile, aderência às superfícies oral e intestinal, atividade antimicrobiana e capacidade de ligação a várias toxinas do meio ambiente.

Fortes evidências dos benefícios dos probióticos são observados principalmente pela funcionalidade da cepa.

Importância da Microbiota Intestinal para a Saúde

O trato GI humano é um ecossistema extremamente complexo, representando a maior área de contacto do hospedeiro com o meio ambiente. Este, constitui-se do epitélio de revestimento, células imunológicas e pela microbiota que nele reside.

Embora a função primária do trato GI tenha sido por muitos anos considerada como de digestão e absorção de nutrientes para excreção de seus produtos finais, mais recentemente tem surgido reconhecimento de várias outras funções essenciais ao bem estar.

O trato digestório abriga extensa população microbiana, numericamente ultrapassando em 10 vezes o número de todas as células do corpo humano. Estima-se que a constituição dessa microbiota seja de, pelo menos, 1000 espécies, com 95 a 99% destas pertencentes a 10 gêneros de bactérias.

Várias espécies dessa microbiota são benéficas ao organismo, embora existam aquelas com potencial de prejuízo ou mesmo sem função adequadamente estabelecida.

Concentrações elevadas de certos gêneros, principalmente *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* estão, geralmente, associadas a um trato gastrointestinal saudável

A microbiota intestinal participa de vários processos metabólicos, principalmente da fermentação de carboidratos não digeridos a ácidos graxos de cadeia curta, do metabolismo lipídico e da síntese de vitaminas.

Outra importante função da microbiota é a estimulação da maturação do sistema imunológico e de proteção contra organismos patogênicos. Situações de desequilíbrio dessa complexa comunidade microbiana, por fatores fisiológicos ou ambientais, podem predispor a quadros infecciosos e a doenças imunoinflamatórias e o restabelecimento da microbiota faz-se benéfica ao organismo.

Cepas probióticas específicas têm sido utilizadas para otimização da composição e atividade da microbiota intestinal para redução de risco de diversas doenças ou condições desfavoráveis ao hospedeiro ^{61,62}.

Resistência ao Ácido e à Bile

Pela definição de probióticos os microrganismos devem ser viáveis quando ingeridos para oferecer benefício à saúde, implicando em sua sobrevivência no trato GI para colonização transitória da mucosa intestinal. É, portanto, muito importante sua tolerância ao meio ácido do estômago e aos sais biliares no intestino delgado.

Estudos *in vitro* demonstram que o *L. acidophilus* NCFM® é extremamente resistente às condições de baixo pH e também capaz de sobrevivência às concentrações de bile no duodeno (Tabela 2)

Tabela 2 – Características do *L. acidophilus* NCFM®*

Tolerância ácida	++++ > 90% sobrevivência em ácido hidroclorídrico e pepsina (1%) em pH 3,5 por 1h a 37° C
Tolerância aos sais biliares	++++ > 90% sobrevivência em meio contendo sais biliares a 37° C
Resistência à pepsina	+++ > 60% de sobrevivência em meio contendo pepsina 0,3% em pH2 por 1h
Resistência à pancreatina	++++ > 60% de sobrevivência em meio contendo pancreatina a 0,1% em pH 8 por 2hs

Legenda: ++++ excelente; +++ muito boa; ++ boa; + discreta

*Dados de pesquisa do produto

Aderência à Mucosa Intestinal

Embora a aderência não seja pré-requisito como propriedade probiótica, a interação com a mucosa intestinal é considerada importante por diversas razões. Aderindo à mucosa a cepa probiótica pode prolongar seu tempo de permanência no intestino auxiliando a modulação imunológica e protegendo contra patógenos intestinais por limitar sua capacidade de colonização local. Estudos *in vitro* confirmam a capacidade de *L.acidophilus* NCFM® de aderir a diferentes linhagens de células epiteliais humanas^{63,64}, além de sua potencialização pela adição de cálcio⁶⁴.

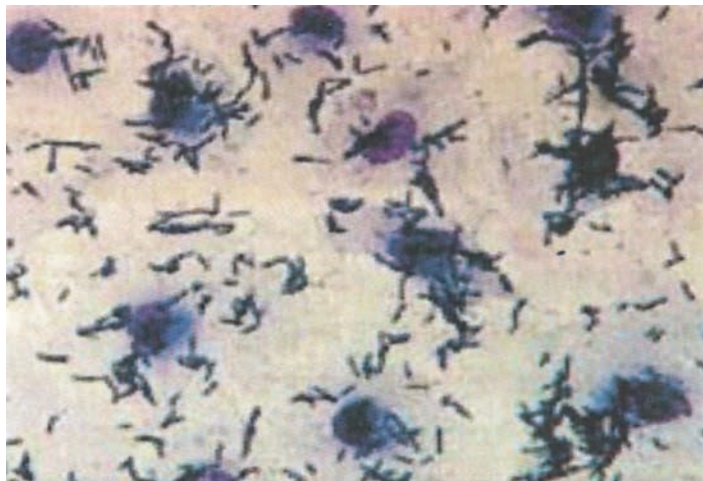


Figura 4 - *L.acidophilus* NCFM® demonstra forte aderência à células epiteliais humanas fetais no sistema Ca^{2+}

Análises genômicas do *L.acidophilus* NCFM® demonstram genes importantes no processo de aderência incluindo proteínas ligadoras de muco, fibrinonectina, além de outras com essa capacidade. Estudos que utilizaram linhagens celulares CaCo-2 e HT-29, indicativos de potencial de ligação à mucosa intestinal, demonstraram muito boa aderência do *L.acidophilus* NCFM® às culturas de células intestinais⁶⁵.

Concernente à cavidade oral, o *L.acidophilus* NCFM® demonstra capacidade de resistência à saliva por 24 hs sugerindo-se, assim, sua contribuição à manutenção da saúde da cavidade oral⁶⁶, porta de entrada ao tubo digestivo. Em seu trajeto, a proteção probiótica será fundamental à modulação terapêutica da microbiota entérica visto sua capacidade de inibição, competição e eliminação de patógenos, dependentes de cada cepa bacteriana.

“O mecanismo atribuído às cepas contra microrganismos patogênicos, dependem de sua capacidade de produção de compostos de inibição, competição por locais de adesão ou nutrientes, inibição da produção ou ação de toxinas bacterianas, capacidade de ligação aos patógenos e estimulação do sistema imunológico”

Diversos estudos têm demonstrado atividade antagonística do *L.acidophilus* NCFM® contra agentes patogênicos gastrointestinais comuns, provenientes de alimentos contaminados⁶⁷⁻⁷⁶, efeito protetor contra infecções ocasionadas experimentalmente pela *Candida albicans*⁷⁷⁻⁷⁹, redução de marcadores tumorais⁸⁰⁻⁸⁴ e redução da dor abdominal⁸⁵.

Estudos em humanos, onde para caracterização dos benefícios dos probióticos exige-se capacidade de sobrevivência e manutenção de atividade no trato GI, demonstra-se a sobrevivência e influência do *L.acidophilus* NCFM® sobre a microbiota pelo aumento da quantidade mensurada de lactobacilos nas fezes de adultos saudáveis⁸⁶, além de preservação dos níveis de bifidobactérias e bactérias produtoras de sulfetos⁸⁷ (Tabela 3).

Tabela 3 - Influência do *L.acidophilus* NCFM® sobre lactobacilos fecais

Lactobacilos fecais	Basal	Administração de NCFM®	Seguimento
	2 semanas	2 semanas	2 semanas
	4,6 log de ufc/g	4,6 log de ufc/g	4,6 log de ufc/g
	Sem <i>L.acidophilus</i>	<i>L.acidophilus</i> dominante	<i>L.acidophilus</i> frequente

ufc = unidades formadoras de colônias⁸⁶

A ingestão de *L.acidophilus* NCFM® em leite desnatado não fermentado demonstrou aumento significativo do número de **lactobacilos** nas fezes de indivíduos do sexo masculino saudáveis⁸⁸ e, também, em crianças⁸⁹.

Diversos benefícios têm sido demonstrados com o *L.acidophilus* NCFM®:

- 1. redução da atividade de enzimas fecais (azoredutase, nitroredutase e β-glicoromilase) conversoras de pró-carcinógenos em substâncias carcinogênicas^{82,90}, inclusive em humanos^{82,91,92};
- 2. aumento da tolerância à lactose reduzindo diarreia, flatulência, distensão abdominal e cólicas, por incremento de sua digestão (figura 5)^{93,94};

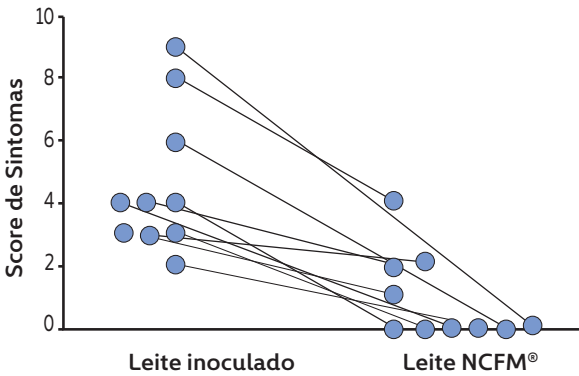


Figura 5 – Redução dos sintomas de intolerância a lactose.

3. redução do supercrescimento bacteriano no intestino delgado, com habilidade para restabelecimento da fisiologia intestinal (figura 6)⁹⁵⁻⁹⁸;

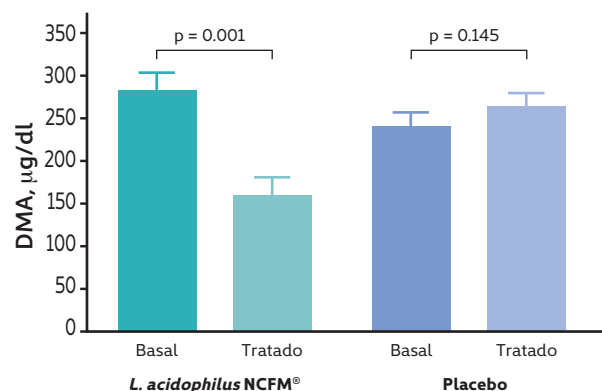


Figura 6 – Redução de dimetilaminas em pacientes com super crescimento bacteriano intestinal

4. redução de quadros diarreicos, mesmo em indivíduos imunossuprimidos⁹⁹;
5. estabilização da microbiota durante tratamento com antimicrobianos, reduzindo modificações da mesma e mantendo níveis significativamente mais altos de bifidobactérias após terapêutica antibiótica¹⁰⁰.

Benefícios à Modulação do Sistema Imune

O sistema imunológico humano é altamente eficiente e complexo sendo seu funcionamento adequado muito importante para proteção contra agentes infecciosos e doenças não infecciosas. **Considera-se, atualmente, o trato GI como maior “órgão” imunológico do corpo humano, contendo 80% de todas as células produtoras de anticorpos e a microbiota, consequentemente, fundamental ao sistema imunológico do nosso organismo**^{101,102}.

Ao nascimento esse sistema ainda é funcionalmente imaturo e a exposição aos antígenos essencial para seu desenvolvimento na mucosa GI e, consequentemente, manutenção da homeostasia da imunidade. Antígenos microbianos oriundos da microbiota e do meio ambiente promovem a maturação do tecido linfóide associado ao intestino (GALT) e a resistência às doenças.

Aumento da incidência de doenças autoimunes e atopias encontram-se relacionadas à reduzida exposição a agentes infecciosos em sociedades desenvolvidas ao mesmo tempo que evidências significativas de estimulação e regulação de vários aspectos imunológicos naturais e adquiridos são obtidos com cepas específicas de probióticos.

Esses probióticos possuem, portanto, capacidade de modulação imune melhorando resposta de vacinação oral, reduzindo duração ou risco de determinadas infecções, assim como, proporcionando alívio de sintomas alérgicos e de outras condições imunológicas¹⁰¹. Sugere-se que citocinas podem ser moduladas por probióticos específicos sendo, portanto, importante que se demonstre sua relevância à saúde.

Estudos *in vitro* têm sido amplamente utilizados para definir a capacidade de expressão de citocinas pelos probióticos e, assim, seus efeitos imunológicos. Pela determinação de impacto das bactérias interagindo com células mononucleares do sangue periférico e expressão de citocinas (PMBCs) obtém-se informações úteis da capacidade de cada cepa para equilíbrio da imunidade.

Investigações com *L.acidophilus* NCFM® relacionadas à sua capacidade de induzir secreção de PMBC de citocinas, como interleucinas (IL) 10 e 12, mostraram resultados compatíveis com respostas Th1 e prevenção de tumores, viroses e função antialérgica¹⁰³.

Demonstrou-se também, capacidade de regulação do fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e interferon gama (IF- γ), citocinas relacionadas à imunidade celular fora do trato GI, permitindo-se concluir que o *L.acidophilus* NCFM[®] promoveu maturação de células tipo Th1 pela regulação de TNF α e IF- γ além de moderar a expressão da IL-10 sobre IL-2.

Quando células dendríticas da medula óssea foram empregadas para verificação das propriedades imunomoduladoras do *L.acidophilus* NCFM, estímulos provocaram a maturação dessas células com adequação de funções, como a secreção de quimiocinas^{104,105}, e ligação do probiótico a receptores específicos capazes de regulação das funções imunológicas dessas células¹⁰⁶.

Expressão da Ciclo-oxigenase e Permeabilidade Intestinal

Estruturas proteicas entre as células, denominadas “*tight junctions*”, responsabilizam-se pela preservação da permeabilidade intestinal. Aumento da permeabilidade associa-se, frequentemente, a doenças alérgicas e inflamatórias, como as doenças inflamatórias intestinais (DII).

Estudo do efeito *in vitro* e cepas probióticas sobre patógenos, *E.coli* 0157:H7, na integridade da barreira mucosa e na expressão das cicloxigenases 1 e 2 (COX) demonstrou manutenção dos níveis basais de COX-1 e COX-2 quando se emprega o *L.acidophilus* NCFM[®] e diminuição dos níveis de COX-1 e aumento dos níveis de COX-2 pela *E. coli* patogênica¹⁰⁷, enquanto o benefício obtido por essas enzimas para preservação da funcionalidade intestinal decorre de redução da atividade anormal da COX-2 e manutenção ou aumento da COX-1, como obtido pelo *lactobacilo*.

Em animais de experimentação houve estímulo à produção de IgA naqueles vacinados com toxina colérica e que recebiam *L.acidophilus* NCFM[®], demonstrando respostas de imunidade local e sistêmica¹⁰⁸, além da produção de anticorpos aos antígenos de *C. albicans*⁷⁷, sugerindo que a flora bacteriana comensal desempenha função na resposta humoral de proteção, também, contra candidíase. Determinados probióticos têm propriedades, portanto, de aumentar ou suprimir respostas antígeno-anticorpo quando administrados e com sítio de ação na superfície do trato GI¹⁰⁹.

Outros efeitos sobre a imunidade relacionam-se a resposta contra o B.anthraxis e também pelo aumento de atividade de células tipo “natural killer”^{110,111}.

Em estudos realizados com indivíduos saudáveis que receberam *L.acidophilus* NCFM[®] ou maltodextrina como placebo em semana anterior à vacinação oral com toxina colérica demonstrou-se tendência ao aumento de IgA naqueles que receberam o probiótico (p=0,09) (Figura 7), caracterizando a capacidade de melhora no sistema de defesa do organismo pela ativação de resposta imune e proteção contra infecções¹¹². (Figura 7)

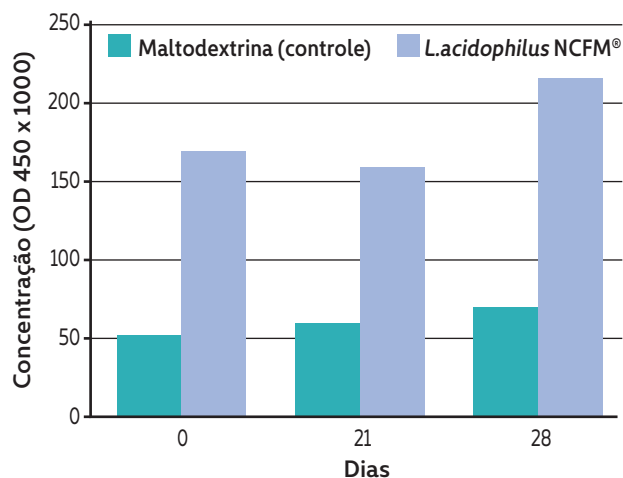


Figura 7 - Níveis de IgA em humanos vacinados após suplementação com *L. acidophilus* NCFM[®] comparado com placebo

Resistência aos Antimicrobianos

A resistência aos antimicrobianos é propriedade dos microrganismos geralmente originada pela ausência de marcador antibiótico específico ou como consequência de seleção natural. Sua definição faz-se pela habilidade de bactérias que são capazes de sobreviver, ou mesmo crescer, na presença de substâncias que inibiriam ou eliminariam outra bactéria, por capacidades intrínseca, inerente ou adquirida, tratando-se de condição preocupante em épocas atuais.

Análise do genoma do *L.acidophilus* NCFM® confirma a inexistência de elementos genéticos transferíveis relacionados à resistência aos antibióticos⁵⁰.

Outras Propriedades dos Probióticos Relacionadas à Saúde

Sabe-se que nos seres humanos o acúmulo de ácido oxálico pode predispor a diversas condições patológicas, como hiperoxalúria, litíase renal, cardiomiopatias e arritmias cardíacas. Por outro lado, demonstra-se que o *L.acidophilus* NCFM® possui plena atividade de degradação do oxalato sugerindo-se, assim, seu benefício a esses pacientes^{113,114}.

Utilização e Estabilidade

Consenso geral propõe que os probióticos devam ser consumidos em número suficiente para oferecer benefício à saúde. É, também, reconhecido que cepas distintas e diferentes efeitos necessitam de diferentes dosagens.

Dessa forma, a suplementação com *L.acidophilus* NCFM® mostra-se atrativa e promissora por razões que incluem:

- comprovadas à saúde;
- disponibilidade do produto de alta contagem e congelado seco;
- sistema patenteado de estabilização que demonstra enorme benefício em produtos não líquidos¹¹⁵;
- excelente estabilidade em produtos como leite, iogurte, formulações como pós, cápsulas e comprimidos¹¹⁶⁻¹²³.

O *L.acidophilus* NCFM® caracteriza-se por sua segurança e não interferência nas propriedades de outros produtos, demonstradas por crescente número de estudos, utilização por mais de 3 décadas nos Estados Unidos e há mais de 15 anos na Europa e outros países.

Lactobacillus paracasei LPC-37

Lactobacillus paracasei Lpc-37 é uma cepa isolada de derivados do leite considerado adequado e seguro para consumo humano^{124,125}. Seu consumo foi considerado seguro por observação de sua comercialização por mais de 15 anos, não se evidenciando resistência antimicrobiana adquirida em estudo patrocinado pela União Europeia (PROSAFE).

Sua resistência ao pH ácido é grande e à bile, encontrada no duodeno, considerada moderada (Tabela 4).

Tabela 4 - Características do L. paracasei LPC-37

Tolerância ácida	++++ 80-90% de sobrevivência no ácido hidroclorídrico e pepsina (1%) em pH3 por 1h a 37° C
Tolerância aos sais biliares	+ < 60% sobrevivência em meio contendo 0,3% sais biliares
Resistência à pepsina	+ < 60% sobrevivência em meio contendo 0,3% pepsina em pH2 por 1 hora
Resistência à pancreatina	++++ > 60% sobrevivência em meio contendo 0,9% pancreatina em pH 8 por 2hs

++++ excelente +++ muito boa ++ boa +regular

Lpc-37 demonstra excelente capacidade de aderência a linhagens de células epiteliais humanas (CaCo-2) em estudos *in vitro* e também capacidade de inibição de agentes patogênicos como *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocitogenes*, provavelmente por sua capacidade de produção de ácidos, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e outras substâncias com capacidade de ação antibiótica.

Estudo realizado em humanos com formulação de 5 cepas, incluindo o *L. paracasei* Lpc-37, para investigar a capacidade desta para estabilização da microbiota intestinal, durante e após antibioticoterapia, verificou-se que a utilização da associação de cepas reduzia o efeito de modificação da população microbiana pelos antibióticos, além de favorecer a manutenção de níveis significativamente maiores de **bifidobactérias**, comparado ao grupo placebo, duas semanas após o término da terapêutica com antibióticos¹²⁶.

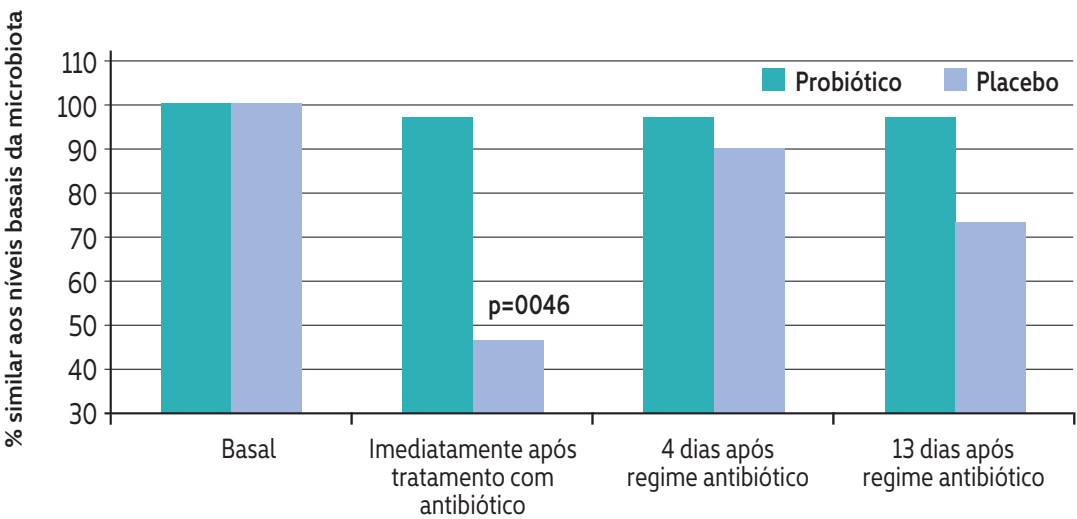


Figura 8 – A combinação dos probióticos *L.paracasei* Lpc-37 protege a microbiota fecal do desequilíbrio causado pelos antibióticos, como indicado pela grande diferença da microbiota do grupo placebo comparado à composição da microbiota basal.

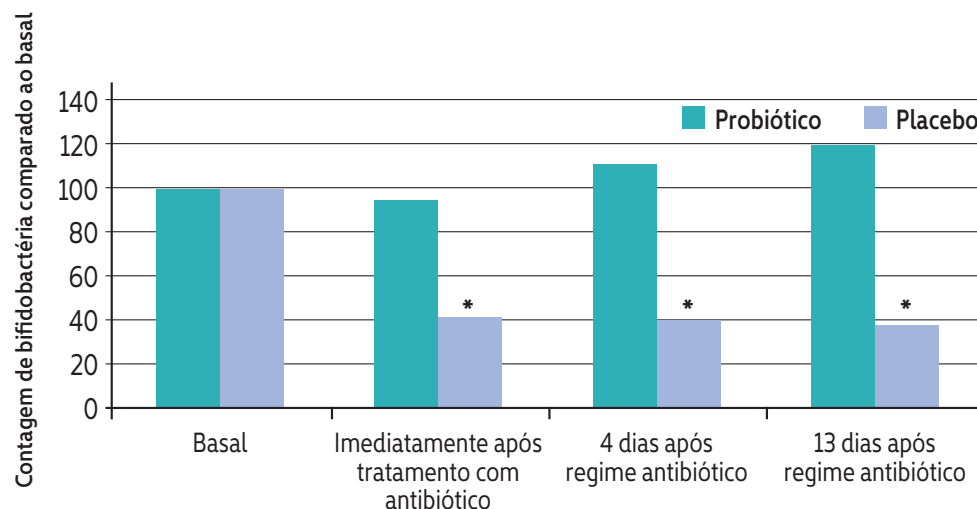


Figura 9 – A associação de probióticos contendo *L.paracasei* Lpc-37 proporciona a manutenção dos níveis de bifidobactérias nas fezes de indivíduos que utilizaram antibióticos (*p=0,030)

Aspectos relacionados à sua participação na modulação do sistema imunológico, pôde ser avaliado por estudos *in vitro*, *in vivo* e em seres humanos. *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 demonstrou capacidade de indução de IL-10, TNF- α e IFN- γ e maior excreção de IL-12, denominada resposta tipo Th1, importante reação de resposta antitumoral, antiviral e antialérgica.

Estudos em humanos que receberam modelo de vacinação oral do cólera foi possível contar que a suplementação com Lpc-37 resultou em indução relativamente maiores de IgG do que no grupo controle indicativa da capacidade de estimulação de imunidade específica pelo probiótico¹²⁷.

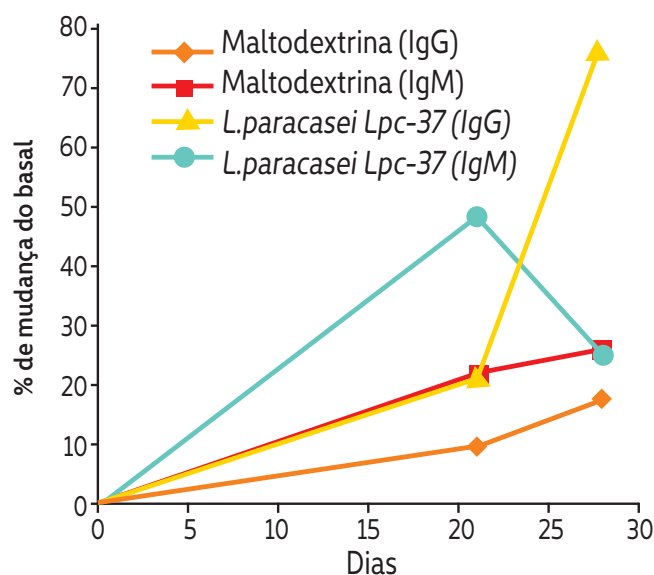


Figura 10 – Alteração relativa das titulações IgG e IgM em humanos com vacinação oral após suplementação com *L.paracasei* Lpc-37

Benefícios à saúde com a subespécie Lpc-37 relacionaram-se ao mais rápido restabelecimento da microbiota intestinal após utilização de antibióticos e também nas respostas imunológicas específicas quando combinado a outras cepas.

***Bifidobacterium lactis* BI-04 e BI-07**

As **bifidobactérias** foram inicialmente descritivas nas fezes de crianças sob aleitamento materno, por Meile e col¹²⁸ em 1899, e recentemente reclassificada como *Bifidobacterium animalis* sub espécie *lactis*¹²⁹.

Bifidobacterium lactis BI-04 e BI-07 são geneticamente caracterizadas por métodos de genotipagem por sequenciamento do gene RNA e reação de cadeia de polimerase (PCR) para primeiras espécies específicas¹³⁰. Ambas são de origem humana, com grande crescimento no leite.

Diversos estudos demonstram segurança e benefícios na utilização dessas cepas¹³¹⁻¹³⁵ tendo a Autoridade Europeia para Segurança de Alimentos determinado que as **bifidobactérias** fossem incluídas na listagem de produtos com Qualificação de Segurança Presumida¹³⁶ pela inexistência de atividades toxigênicas ou metabólicas da *Bifidobacterium lactis*.

Estudos *in vitro* demonstram que as cepas BI-04 e BI-07 são extremamente resistentes ao pH ácido e capazes de sobreviver à bile no duodeno.

***Bifidobacterium bifidum* Bb-02**

A cepa *Bifidobacterium bifidum* Bb-02, ocorre naturalmente no trato digestivo humano e, tem tido suas propriedades probióticas comprovadas. Assim, entre outras coisas, tem sido utilizada para obter o equilíbrio natural da flora intestinal ou - por exemplo, após tratamentos com antibióticos.

Esta cepa é encontrada naturalmente no tubo digestivo humano, com propriedades probióticas comprovadas, principalmente na manutenção da flora intestinal sob situações de possíveis disbioses como ocorre nas infecções intestinais. Embora variando individualmente, a microbiota colônica humana pode modificar-se também por fatores ambientais, dietéticos ou microbiológicos. Alterações da própria funcionalidade intestinal podem ocorrer com o progredir da idade, aumentando o risco das infecções gastrointestinais por substituições das populações bacterianas colônicas, particularmente pela redução das bifidobactérias e aumento do gênero *Clostridium* e enterobactérias¹³⁷⁻¹⁴⁰.

Os principais benefícios demonstrados com a *B. Bifidum* Bb-02 associada a outros probióticos, e até mesmo prebióticos, relacionam-se à prevenção de situações comuns, como **diarreias do viajante** e também em quadros de **gastroenterites agudas, abreviando seu período de duração**. Sua associação, portanto, proporciona sinergismo de ação entre diferentes cepas probióticas, aumentando o benefício ao paciente pelo reestabelecimento do equilíbrio natural da flora intestinal¹³⁷⁻¹⁴⁰.

Aderência à Mucosa Intestinal

Embora não seja um pré-requisito para um probiótico, a propriedade de aderência à mucosa é importante por prolongar o tempo de permanência do microrganismo junto à mucosa intestinal e, assim, interagindo com o sistema imune intestinal adequar a resposta imune para proteção contra entéricos. Essa aderência, *in vitro*, tem sido determinada por linhagens celulares Caco-2 e HT-29, consideradas e demonstradas como potencial de adesão do BI-04 e do BI-07¹⁴¹⁻¹⁴³.

Os efeitos protetores probióticos contra patógenos gastrointestinais são de grande importância e referem-se à produção de compostos inibitórios para esses agentes, competição por locais de aderência ou por ofertas nutricionais, inibição da produção ou da ação de toxinas, habilidade de convívio com patógenos e estimulação do sistema imune, demonstrando-se tais propriedades dessas duas cepas de **bifidobactérias** por estudos *in vitro*^{141,142}.

Além de ação protetora a microbiota desempenha função corroborante positiva na vacinação oral, na redução de risco ou na duração de quadros infecciosos e, também, na melhora de sintomas alérgicos. Estudos realizados *in vitro* para definir o efeito dos probióticos sobre a produção de citocinas demonstram capacidade dessas **bifidobactérias** em induzir secreção de interleucinas -10 e 12, com propriedades anti-inflamatórias^{143,144}. Em voluntários saudáveis que receberam vacinação oral com vacina colérica, a suplementação com *B. lactis* BL-04 proporcionou indução de IgG mais rapidamente que placebo, indicando propriedade específica de estimulação da imunidade.

É crescente a atenção com estabilização da microbiota intestinal em períodos anterior e posterior à antibioticoterapia, sendo que estudos realizados com *B. lactis* Bi-07 demonstraram propriedade de redução das alterações ocasionadas, nestas, por antibióticos assim como na preservação do número de **bifidobactérias** no período de 2 semanas após a utilização de antibióticos¹⁴⁴.

Estudo duplo cego, randomizado, placebo controlado com 243 crianças, com idade entre 12 e 36 meses, empregando formulações com cepas distintas incluindo *Bifidobacterium lactis* Bi-07, *Lactobacillus acidophilus* NCFM® e *Lactobacillus reuteri*, demonstrou redução estatisticamente significativa na incidência e na frequência de episódios de diarreia no grupo que recebeu probiótico comparado ao grupo placebo¹⁴¹.

A utilização *B. lactis* Bi-07 como suplemento nutricional simbiótico, junto ao *L. acidophilus* NCFM® e a frutoligossacarídeos, para crianças com idade entre 1 e 10 anos permitiu demonstração, em dois estudos, de benefício e segurança para crianças sob tratamento com antibióticos¹⁴² e, também, utilidade para avaliação da duração da doença e aspectos antropométricos, crescimento em relação à altura, peso e índice peso/altura, este incluindo crianças no Brasil¹⁴³.

Sempre consideradas de importância, os aspectos de segurança encontram-se bem estabelecidos para probióticos e para simbióticos contendo *B. lactis* BL-04 e Bi-07 para adultos e crianças, mesmo como complementação nutricional para estas últimas¹⁴⁴.

Resumos dos benefícios

Grande Número de estudos *in vitro* e *in vivo* confirmam benefícios à saúde oferecidos pelas propriedades probióticas dos *B. Lactis* BL-04 e Bi-07

Conclusão

Vários estudos confirmam os principais benefícios como:

* Melhora da função gastrointestinal e do bem estar

- melhora do nível de bactérias benéficas à saúde
- facilita digestão e bem estar
- redução do desconforto gastrointestinal
- manutenção da microflora saudável
- efeito benéfico à flora intestinal
- redução de sintomas relacionados à intolerância à lactose
- sobrevivência adequada no intestino
- alta tolerabilidade gastrointestinal
- potente adesão às membranas das células intestinais
- proteção contra patógenos intestinais

* Modulação da função imunológica

- melhora da resposta imune específica
- influência na regulação imunológica por indução de interleucina-12 e indução do fator de necrose tumoral *in vitro*
- potencial de redução dos sintomas de infecções respiratórias
- segurança de utilização

Probióticos constituídos por diferentes cepas têm o propósito de adicionar efeitos sinérgicos de cepas isoladas quando de suas associações, pela simbiose, caracterizada pela propriedade de aumento de crescimento ou metabolismo das cepas. Esta diversidade de cepas, quando associadas, demonstram maior capacidade de oferta de produtos benéficos ao organismo, como já mencionado, produção de bacteriocinas, inibição de proliferação de agentes patogênicos, inibidores de adesividade tecidual, produção de muco e de IgA, entre outros.

A combinação de diferentes espécies, quando adequadamente realizada, oferece benefícios de sinergismo capazes de proporcionar maior atividade dos probióticos e à simbiose entre cepas distintas sugerindo-se que estas apresentam vantagens sobre às constituídas por cepas isoladas.

Referências

- Gordon HA & Pesti L. The genobiotic animal as a tool in the study of host microbial relationships. *Bacteriol Rev* 35:390-429, 1971.
- Tannock, GW 1995. Normal Microbiota. An Introduction to Microbes Inhabiting the Human Body. Chapman and Hall, London.
- Drasar, BS & Hill, MJ. 1974. Human Intestinal Flora. Academic Press, London.
- Xu, J & Gordon, JL. 2003. Honor the symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:10452-10459.
- Macfarlane DT, Cumming JH. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *BMJ* 1999; 318:999-1003.
- Bullen CL, Willis AT. Resistant to the breast-fed infant gastroenteritis. *BMJ* 1971; 3:338-343.
- Withman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:6578-6583.
- Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307:1915-1920.
- Senok AC, Ismael AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:958-966.
- Screzemeier J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics and symbiotics – approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(suppl): 361S-364S.
- Guidelines for the evaluation of probiotics in food: report of a joint FAO/WHO Working Group. London, Ontario, Canada: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization; 2002.
- Gordon S, Elie Metchnikoff: father of natural immunity. *Eur J Immunol* 38:3257-3264, 2008.
- Santosa S, Farnworth E, Jones PJ. Probiotics and their potential health claims. *Nutr Rev* 2006; 64:265-274.
- Alvarez-Olmos MJ, Oberhelman RA. Probiotics agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1567-1576.
- Vanderhoof JA, Young RJ. Probiotics in the United States. *Clin Infect Dis* 2008; 46 (suppl 2):S67-72.
- Borchers AT, Selmi C, Meyers JF, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol* 2009; 44:26-46.
- Vanderhoof JA, Young RJ. Current and potential uses of probiotics. *Am J Allergy Asthma Immunol* 2004; 93 (suppl 3):S33-37.
- Doron S, Gorbach SL. Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. *Expert Rev Anticancer Ther* 2006; 6:261-275.
- Silva M, Jacobus N, Denek C, et al. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31:1231-1233.
- MacIntyre A, Cynett TC. Probiotics: the benefits of bacterial cultures. *Compr Ther* 2005; 31:181-5.
- Chan RC, Reid G, Irvin RT et al. Competitive exclusion of uropathogens from human uroepithelial cells by *Lactobacillus* whole cells and cell wall fragments. *Infect Immun* 1985; 47:84-9.
- Mack DR, Michail S, Wei S et al. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence *in vitro* by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol* 1999; 276:G941-50.
- Reid G, Jass J, Sebulsky MT, et al. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16:658-72.
- Scarpellini E, Cazzato A, Lauritano C, et al. Probiotics: which and when? *Dig Dis* 2008; 26:175-82.
- Kaila M, Isolauri E, Soppi E, et al. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatrics Res* 1992; 32:141-4.
- Cremonini F, Di Caro S, Nista EC et al. Meta-analysis: the effects of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:1461-7.
- Kliger B, Cohns R. Probiotics. *Am Fam Physician* 2008; 78:1073-8.
- Probiotics Med Lett Drugs Ther 2007; 49:66-8.
- Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel E, et al. Safety of probiotics that contain *Lactobacillus bifidobacteria*. *Clin Infect Dis* 2003; 36:775-80.
- Karpa KD. Probiotics for *Clostridium difficile* diarrhea: putting it into perspective. *Ann Pharmacother* 2007; 41:1284-7.
- Snyderman DR. The safety of probiotics. *Clin Infect Dis* 2008; 46 (suppl 2):S104-11.
- Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1256-64.
- Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 651-9.
- Natural Medicines. Comprehensive Database. *Lactobacillus* monograph. www.naturaldatabase.com
- Natural Medicine Comprehensive Database. *Bifidobacteria* monograph. www.naturaldatabase.com.
- Famularo G, De Simone C, Matteuzzi D, Piovano F. 1999. Traditional high potency probiotic preparation for oral bacteriotherapy. *Bio Drugs* 12, 455-470.
- Sanders ME. 1993. Summary of conclusions from a consensus panel of experts on health attributes of lactic cultures-significance to fluid milk-products containing cultures. *J Dairy Sci* 76:1819-1828.
- Rolfe RD. 2000. The role of probiotics cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 130, 3965-4025.
- Zoppi G, Cinquetti M, Benini A, Bonamini E, Minelli EB. 2001. Modulation of the intestinal ecosystem by probiotics and lactulose in children during treatment with ceftriaxone. *Curr Ther Res* 62:418-435.
- Smibert RM, Krieg NR. 1994. Phenotypic characterization. In: Minelli EB, Murray RGE, Wood WA, Krieg NR (Eds), *Methods for General and Molecular Bacteriology*. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp 607-654.
- Sanders ME, Huin J, Veld JHJ. 1999. Bringing a probiotic containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie Van Leeuwenhoek* 76, 293-315.
- Drago L, Gismondo RM, Lombardi A, de Haen C, Gozzini L. 1977. Inhibition of *in vitro* growth of enteropathogens by new *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin. *FEMS Microbiol Lett* 153, 455-463.
- Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistain and multispecies probiotics – A comparison of functionality and efficacy, 2004. *Inter J Food Microbiology*, 96:219-233.
- Ouweland AC and Lahtinen, S. (2009). *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. In: Handbook of probiotics and prebiotics. Lee, YK & Salminen, E (eds.) John Wiley & Sons.
- Sanders ME and Klaenhammer TR (2001). The scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® functionality as probiotic. *J. Dairy Sci* 84:319-331.
- Anonymous. (2005). Bugs CV. *Microbiologist*; 6(2):36.
- Reid G (1999). The scientific basics for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl. Environ. Microbiol* 65:3763-3766.
- Barrangou R, Alterman E, Hutkins R, Cano R & Klaenhammer TR. (2003). Functional and comparative genomic analyses of an operon involved in fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus acidophilus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:8957-8962.
- Buck BL, Azcarate-Peril MA and Klaenhammer TR (2009). Role of autoinducer-2 on the adhesion ability of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Appl. Microbiol* 107(1):269-279.
- Alterman E, Russell WM, Azcarate-Peril MA, Barrangou R, Buck BL, McAuliffe O, Southner N, Dobson A, Duong T, Callanan M, Lick S, Hamrick A, Cano R and Klaenhammer TR. (2005). Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(11):3906-12.
- Azcarate-Peril MA, Altermann E, Hoover-Fitzula RL, Cano RJ and Klaenhammer TR. (2004). Identification and inactivation of genetic loci involved with *Lactobacillus acidophilus* acid tolerance. *Appl. Environ. Microbiol* 70(9):5315-22.
- Azcarate-Peril MA, McAuliffe O, Altermann E, Lick S, Russell WM and Klaenhammer TR (2005). Microarray analysis of a two-component regulatory system involved in acid resistance and proteolytic activity in *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol* 71:5794-5804.
- Goh YJ, Azcarate-Peril MA, O'Flaherty S, Durmaz E, Valence F, Jardin J, Lortal S and Klaenhammer TR. (2009). Development and Application of a upp-Based Counter selective Gene Replacement System for the Study of the S-Layer Protein SlpX of *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. *Appl. Environ. Microbiol* 75:3093-3105.
- O'Sullivan O, O'Callaghan J, Sangrador-Vegas A, McAuliffe O, Slaterry L, Kaleta P, Callanan M, Fitzgerald GF, Ross R & Beresford T. (2009). Comparative genomics of lactic acid bacteria reveals a niche-specific gene set. *BMC Microbiol* 9:50doi: 10.1186/1471-2180-9-50.
- Pfeiler EA, Azcarate-Peril MA, & Klaenhammer TR. (2007). Characterization of a novel bile inducible operon encoding a two component regulatory system in *Lactobacillus acidophilus*. *J. Bacteriol* 189(13):4624-4634.
- Azcarate-Peril MA, Tallon R & Klaenhammer TR. (2009). Temporal gene expression and probiotic attributes of *Lactobacillus acidophilus* during growth, in milk. *J Dairy Sci* 92:870-88.
- Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schreemmer J, Vaara M & Valtonen V. (2003). Safety of probiotics that contain *Lactobacilli* or *bifidobacteria*. *Clin Infect Dis* 36:775-780.
- Gueimonde M, Ouweland AC & Salminen S (2004). Safety of probiotics. *Scand. J. Nutr* 48(1):42-48.

59. Mogensen G, Salminen S, O'Brien J, Ouwehand AC, Holzapfel W, Shortt C, Fonden R, Miller GD, Donohue D, Playne M, Crittenden R, Salvadori B e Zink R. (2002). Inventory of microorganisms with a documented history of safe use in food. Bulletin of the International Dairy Federation 377:10-19.
60. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS microorganisms intentionally added to food or feed (2009 update). EFSA Journal 2009; 7(12):1431-1492pp. doi: 10.2903/j.efsa.2009.1431. Available online: www.efsa.europa.eu
61. Tannock GW (Ed) Probiotics and Prebiotics Scientific Aspects Caister Academic Press, 2005.
62. Ouwehand AC e Vaughan EE (eds). Gastrointestinal Microbiology Informa Healthcare. 2006
63. Greene JD e Klaenhammer TR. (1994). Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells. Appl. Environ. Microbiol. 60: 4487-4494.
64. Kleeman EG e Klaenhammer TR. (1982). Adherence of Lactobacillus species to human fetal intestinal cells. J. Dairy Sci. 65:2063-2069.
65. Weiss GM e Jespersen L. (2008). Gene expression in Lactobacillus acidophilus during passage through an *in vitro* gastro-intestinal tract model. In: TNO Beneficial Microbes Conference: Abstracts of Lectures and Posters. TNO, Holland p.84.
66. Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH e Tenovuo J. (2006). Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria *in vitro*. Oral Microbiol Immunol 21: 326-332.
67. Gilliland SE e Speck ML (1977). Antagonistic action of Lactobacillus acidophilus toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. J. Food Protect. 40:820-823.
68. Ouwehand AC e Vesterlund S. (2004). Antimicrobial components from lactic bacteria. Microbiological and functional aspects. New York; Marcel Dekker:375-395.
69. Barefoot SF e Klaenhammer TR. (1984). Purification and characterization of the Lactobacillus acidophilus bacteriocin lactacin B. Antimicrob. Agents Chemotherapy 26:328-334.
70. Barefoot S and Klaenhammer TR. (1983). Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by Lactobacillus acidophilus. Appl. Environ. Microbiol. 45:1808-1815.
71. Dobson AE, Sanoký-Dawes RB e Klaenhammer TR. (2007). Identification of an operon and inducing peptide involved in the production of lactacin B by Lactobacillus acidophilus. Journal Applied Microbiology 103:1766-1778.
72. Collado MC, Meriluoto J, Saminen S. (2009). Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. Eur Food Res Technol. 226(5):1065-1073.
73. Collado MC, Meriluoto J e Salminen S. (2007). Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. Letters in Applied Microbiology. 45:454-460.
74. Kim YH, Ahn YT e Kim HU. (2000). A study on the growth inhibition of Bacillus cereus by lactobacilli. J. Animal Sci & Technol (Kor.) 42(3): 331-338.
75. Kim EA, Baik SC e Gung WH. (2002). A study on growth inhibition of Escherichia coli and Salmonella typhimurium by lactic acid bacteria. J. Animal Sci & Technol (Kor.) 44(4):491-498.
76. Glass MD, Courtney PD, Lejeune JT e Ward LA. (2004). Effects of Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus reuteri cell-free supernatans on Cryptosporidium viability and infectivity *in vitro*. Food Microbiol. 21:423-429.
77. Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dohnalek M, Farmer J, Roberts L, Hilty M e Balish E. (1977). Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on candidiasis in immunodeficient mice. Infect Immun. 65(10):4165-4172.
78. Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dohnalek M, Hilty M e Balish E. (2000). Probiotic effects of feeding heat-killed Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei to Candida albicans colonized immunodeficient mice. J. Food Prot. 63(5):638-644.
79. Wagner RD, Earner T, Roberts L, Farmer J, Dohnalek M, Hilty M e Balish E. (1998). Variable biotherapeutic effects of Lactobacillus acidophilus isolates on orogastric and systemic candidiasis in immunodeficient mice. Rev. Iberoam Micol 15:271-276.
80. Goldin BR e Gorbach SL. (1977). Alterations in faecal microflora enzymes related to diet age, Lactobacillus supplements and dimethylhydrazine. Cancer; 40:421-426.
81. Goldin BR e Gorbach SL. (1980). Effect of Lactobacillus acidophilus dietary supplements on 1,2 dimethylhydrazine dihydrochloride induced intestinal cancer in rats. J. Natl. Cancer Inst. 64(2): 263-265.
82. Goldin BR e Gorbach SL. (1984). The effect of oral administration on Lactobacillus and antibiotics on intestinal bacterial activity and chemical induction of large bowel tumors. Dev Indust Microbiol. 25:139-150.
83. Rao C, Sanders ME, Indranie C, Simi B e Reddy BS. (1999). Prevention of colonic preneoplastic lesions by the probiotic Lactobacillus acidophilus NCFM® in F344 rats. Inst. J. Oncol. 14:939-944.
84. Varcoe JJ, Krejcarek G, Busta F e Brady L. (2003). Prophylactic feeding of Lactobacillus acidophilus NCFM® to mice attenuates overt colonic hyperplasia. J. Food Prot. 66(3):457-465.
85. Rousseaux C, Thuru X, Gelot A, Barnich N, Neut C, Dubuquoy L, Dubuquoy C, Merour E, Geboes K, Chamallard M, Ouwehand A, Leyer G, Carcano D, Colombel JF, Arditi D e Desreumaux P. (2007). Lactobacillus acidophilus modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. Nature Medicine 13(1):35-37.
86. Sui J, Leighton S, Busta F e Brady L. (2002). 16S ribosomal DNA analysis of the fecal lactobacilli composition on human subjects consuming a probiotic. Strain Lactobacillus acidophilus NCFM®. J. Appl. Microbiol. 93:907-912.
87. Varcoe JJ, Zook C, Sui J, Leighton S, Busta F e Brady L. (2002). Variable response to exogenous Lactobacillus acidophilus NCFM® consumed in different vehicles. J. Appl. Microbiol. 93:900-906.
88. Gilliland SW, Speck ML, Nauyok CF e Giesbrecht FG. (1978). Influence of consuming nonfermented milk containing Lactobacillus acidophilus on fecal flora of healthy males. Dairy Sci, 61:1-10.
89. Larsen N, Vogensen FK, Michaelsen K e Jakobsen M. The effect of L. acidophilus NCFM® and B. lactis Bi-07 on the diversity of lactobacilli and bifidobacteria in the human intestinal tract. 3rd International Probiotic Conference 4-7 June 2008. High Tatras, Slovakia.
90. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJM, Welling GW, Smart J e Gopal PK. (2000). Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing Lactobacillus rhamnosus DR20. ASPL. Environ Microbiol. 66(6):2578-2588.
91. Goldin BR, Swenson L, Dwyer J, Sexton M e Gorbach SL. (1980). Effect of diet and Lactobacillus acidophilus supplements on human fecal bacterial enzymes. J. Natl. Cancer Inst. (64(2)):255-261.
92. Goldin BR e Gorbach SL. (1984). The effect of milk and Lactobacillus feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. Am. J. Clin Nutr. 39:56-761.
93. Nielsen JW e Gilliland SE. (1992). The lactose hydrolyzing enzyme from Lactobacillus acidophilus. Cult Dairy Prof. 27(1):20-27.
94. Kim HS e Gilliland SE. (1983). Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. J. Dairy Science. 66(5):959-966.
95. Xu J e Gordon J. (2003). Honor thy Symbionts. Proc. Nat. Acad. Sci 100(18):10452-10459.
96. Dunn SR, Simenoff ML, Ahmed KE, Gaughan WJ, Eltayeb BO, Fitzpatrick MED, Emery SM, Ayres JW e Holt KE. (1998). Effect of oral administration of freeze-dried Lactobacillus acidophilus on small Bowel bacterial overgrowth in patients with end stage kidney disease: reducing uremic toxins and improving nutrition. Int. Dairy J. 8:545-553.
97. Simenoff ML, Dunn SR, Zollner GP, Fitzpatrick MED, Emery SM, Sandine WE e Ayres JW. (1996). Biomodulation of the toxic and nutritional effects of small bowel bacterial overgrowth in end-stage kidney disease using freeze-dried Lactobacillus acidophilus. Mineral and Electrolyte Metab. 22:92-96.
98. Simenoff ML e Dunn SR. (1996). Altered gut flora in uremia. J Renal Nutr. 6:68-74.
99. Heiser CR, Ernst JA, Barrett JT, French N, Schutz M e Dube MP. (2004). Probiotics soluble fiber and L-Glutamine (GLN) reduce nelfinavir (NFV)- or lopinavir/ritonavir (LPV/r)- related diarrhea. J. Int. Assoc. Physicians AIDS Care (Chic Ill);3(4):121-129.
100. Engelsen AL, Korzenik JR, Pittler A, Sanders ME, Klaenhammer TR, Leyer G e Kits CL. (2009). Probiotics to minimize the disruption of faecal microbiota in healthy subjects undergoing antibiotic therapy. Journal of Medical Microbiology. 58:663-670.
101. Gil HS e Prasad J. Probiotics Immunomodulation and Health Benefits. In Bösze A (Ed.), Bioactive Components of Milk Springer 2008.
102. Sansonetti PJ. (2004). War and peace at mucosa surfaces. Nat. Rev. Immunol. 4:953-964.
103. Foligne B, Nutton S, Grangette C, Dennin J, Brassart D, Mercenier A and Pot B. (2007). Correlation between *in vitro* and *in vivo* immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. World Journal of Gastroenterology 13(2):236-243.
104. Foligne B, Zoumpopoulou G, Dewulf J, Ben Younes A, Chareyre F, Sirard JC, Pot B e Grangette C. (2007). A Key Role of Dendritic Cells in Probiotic Functionality. PLoS ONE 2(3): e313.
105. Zoumpopoulou G, Tsakalidou E, Dewulf J, Pot B e Grangette C. (2009). Differential crosstalk between epithelial cells, dendritic cells and bacteria. In J. Food Micro, 131:40-51.
106. Konstantinov SR, Smidt H, de Vos WM, Bruijens SC, Singh SK, Valence F, Molle D, Lortal S, Altermann E, Klaenhammer TR e van Kooyk Y. (2008). S layer protein A of Lactobacillus acidophilus NCFM® regulates immature dendritic cell and T cell functions. Proc. Natl. Acad. Sci. 105(49):10474-9.
107. Putaala H, Salusjärvi T, Nordström M, Saareinen M, Ouwehand AC, Bech-Hansen E e Rautonen N. (2008). Effect of four probiotic strains and Escherichia coli O157:H7 on tight junction integrity and cyclo-oxygenase expression. Res in Microbiol 159:692-698.
108. Tejada-Simon MV, Lee JH, Ustunol Z and Pestka JJ. (1999). Ingestion of yogurt containing Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium to potentiate immunoglobulin A. Responses to cholera toxin in mice. J. Dairy Sci. 82:649-660.
109. Wagner RD, Dohnalek M, Hilty M, Vazquez-Torres A e Balish E. (2000). Effects of probiotic bacteria on humoral immunity to Candida albicans in immunodeficient bg/bg-nu/+ mice. Rev Iberoam Micol 17:55-59

110. Mohamadadeha M, Duong T, Sandwick SJ, Hoover T e Klaenhammer TR. (2009). Dendritic cell targeting of *Bacillus anthracis* protective antigen expressed by *Lactobacillus acidophilus* protects mice from lethal challenge. *PNAS* 106(11):4331-4336.
111. Cai M, Cui A, Huang Q e Huang JK. (2008). Animal studies on enhancement of immune function by dietary probiotic supplementation of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* Bi-07. *Chinese Journal of Microecology* 20(1):17-19.
112. Paineau D, Carcano D, Leyer G, Darquy S, Alyanakian MA, Simoneau G, Bergmann JF, Brassart D, Bornet F e Ouwerhand AC. (2008). Effects of seven potential probióticos strains on specific immune responses in health adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunol Med Microbiol* 53(1):107-113.
113. Turróni S, Vitali B, Bendazzoli C, Candela M, Gotti R, Federici F, Pirovano F e Bigidi P. (2007). Oxalate consumption by lactobacilli: evaluation of oxalyl-CoA decarboxylase and formyl-CoA transferase activity in *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Applied Microbiology* 103:5,1600-1609.
114. Azcarate-Peril MA, Bruno-Barcena JM, Hassan HM, Klaenhammer TR. (2006). Transcriptional and functional analysis of oxalyl-coenzyme A (CoA) decarboxylase and formyl-CoA transferase genes from *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol.* 72(3):1891-1899.
115. U.S. patent 6.653.062/PCTWO 02/09515 AI
116. Gilliland SE, Reilly SS, Kim GB e Kim HS. (2002). Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a yogurt-like product. *Food Sci* 67(8):3091-3095.
117. Hughes DB e Hoover DG. (1995). Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. *J. Dairy Sci.* 78:268-276.
118. Sanders ME, Walker DC, Walker KM, Aoyama K e Klaenhammer TR. (1996). Performance of commercial cultures in fluid applications. *J Dairy Sci.* 79:943-955. (Strain LHI=NCFM®).
119. Iturriria-Laverty K, Tong PS e Sanders ME. (1999). Microbiological stability of probiotic and starter bacteria in commercial yogurt and cottage cheese. *J. Dairy Sci* 82(Suppl1):6. Abstract D3.
120. Trahan CE. (2008). *Lactobacillus acidophilus* NCFM® Survival in Acidified Yogurts. MS thesis North Carolina State University.
121. Danisco Technical Memorandum 3514:HOWARU® Premium probióticos for chocolate confectionary. (2007).
122. Danisco Technical Memorandum 2093: Probiotic Cheese. (2008).
123. Danisco Technical Memorandum 2088:HOWARU® Dophilus Premium probióticos for fermented milk and yogurt. (2007).
124. Mogensen G, Salminen S, O'Brien J, Ouwerhand AC, Holzapfel W, Shortt C, Fonden R, Miller GD, DFonohue D, Playne M, Crittenden R, Salvadori B e Zink V. (2002). Inventory of microorganisms with a documented history of safe use in food. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 377:10-19.
125. List of taxonomic units proposed for QPS status
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/sc_op_ej87_aps_en.pdf
126. Engelbrekton AL, Korzenik JR, Sanders ME, Clement BG, Leyer G, Klaenhammer TR e Kitts CL. (2006). Analysis of treatment effects on the microbial ecology of the human intestine. *FEMS Microbiol Ecol* 57:239-250.
127. Paineau D, Carcano D, Leyer G, Darquy S, Alyanakian MA, Simoneau G, Bergmann JF, Brassart D, Bornet F e Ouwerhand AC. (2008). Effects of seven potential probiotic strain on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 53(1), 107-113.
128. Meile L, Ludwig W, Rueger U, Gut C, Kaufmann P, Dasen G, Wenger A e Teubert M. (1997). *Bifidobacterium lactis* sp. Nov., a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. *Syst.Appl. Microbiol.* 20:57-64.
129. Masco L, Ventura M, Zink R, Huys G e Swings J. (2004). Polyphasic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* subsp. nov. *Int. J. System. Evol. Microbiol.* 54:1137-1143.
130. Vehtura V e Zink R. (2002). Rapid identification, differentiation and proposed new taxonomic classification of *Bifidobacterium lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(12):6429-6434.
131. Aguirre M e Collins MD. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infections. *J. Appl. Bact.* 75:95-107.
132. Gasser F. (1994). Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections. *Bull. Inst. Pasteur* 92:45-67.
133. Salminen S, von Wright A, Moreli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Sacelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE e Mattila-Sandholm T. (1998). Demonstration of safety of probióticos a review. *Int. J. Food Prot.* 44:93-106.
134. Boyle RJ, Robins-Browne RM e Tang ML. (2006). Probiotic use in clinical practice what are the risks? *Am. J. Clin. Nutr.* 83(6):1256-64.
135. Barriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Mateau P, Schrezenmeir J, Vaara M e Valtonen V. (2003). Safety of probióticos that contain lactobacilli of bifidobacteria. *Clin.Infect.Dis.* 36:775-780.
136. List of taxonomic units proposed for QPS status http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/sc_op_ejS87_qps_en.pdf
137. Bartosch S, Woodmansey EJ, Paterson JCM, McMurdo MET, Macfarlane GT. Microbiological Effects of Consuming a Synbiotic Containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, and Oligofructose in Elderly People, Determined by Real-Time Polymerase Chain Reaction and Counting of Viable Bacteria *Clin Inf Dis* 2005; 40: 28-37.
138. Lovat LB. Age related changes in gut physiology and nutritional status. *Gut* 1996; 38: 306-9
139. Gavini F, Cayuela C, Antoine JM, et al. Differences in the distribution of bifidobacterial and enterobacterial species in human fecal microflora of three different (children, adults, elderly) age groups. *Microb Ecol Health Dis* 2001; 13: 40-5
140. Gorbach SL, Nahas L, Lerner PI, Weinstein L. Studies of intestinal microflora. I. Effects of diet, age, and periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in man. *Gastroenterology* 1967; 53: 845-55
141. Engelbrekton AL, Korzenik JR, Pittler A, Sanders ME, Klaenhammer TR e Kitts CL. (2007). A randomized, double blind, controlled trial of probióticos to minimize the disruption of fecal microbiota in healthy subjects undergoing antibiotic therapy. Manuscript submitted.
142. Bartosch S, Woodmansey EJ, Paterson JCM, McMurdo MET e Mcfarlane GT. (2005). Microbiological effects of consuming a synbiotic containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis* and oligofructose in elderly persons, determined by real-time polymerase chain reaction and counting of viable bacteria. *Clinical Infectious Disease*. 40:28-37.
143. Foligne B, Nutton S, Grangette C, Dennin V, Goudercourt D, Poiret S, Dewulf J, Brassart D, Mercenier A, e Pot B. (2007). Correlation between *in vitro* and *in vivo* immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. *World Journal of Gastroenterology*. 13(2):236-243.
144. Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, Gionchetti P, Rizello F, Caramelli E, Matteussi D e Campieri M (2003). Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 38:165-172
145. Delcour J, Ferain T, Deghorain M, Palumbo E e Hols P. (1999). The biosynthesis and functionality of the cell wall of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76(1-4):159-84.
146. Schrezenmeir J, Heller K, McCue M, Lam W, Burrow H, Kindling-Rohracker M, Fischer W, Sengespeik HC, Comer GM e Alarcon P. (2004). Benefits of Oral Supplementation With and Without Synbiotics in Young Children With Acute Bacterial Infections. *Clinical Pediatrics* 43:239-249.
147. Fisberg M, Maulén-Radován IE, Tormo R, Carrascoso MT, Giner CP, Martín FA, Belinchón PP, Costa CM, Pérez MP, Caro JG, Garibay EMV, Aranda JAG, Pó IMA, da Silva Guerra AJM, Martínez SV, MacCue M, Alarcón PA e Comer GM. (2002). Effect of Oral Nutritional Supplementation with or without Synbiotics on Sickness and Catch-up Growth in Preschool Children. *International Pediatrics* 17(4):216-222.
148. Foligne B, Nutton S, Grangette C, Dennin V, Goudercourt D, Poiret S, Dewulf J, Brassart D, Mercenier A e Pot B. (2007). Correlation Between *in vitro* and *in vivo* immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. *World Journal of Gastroenterology*. 13(2):236-243.

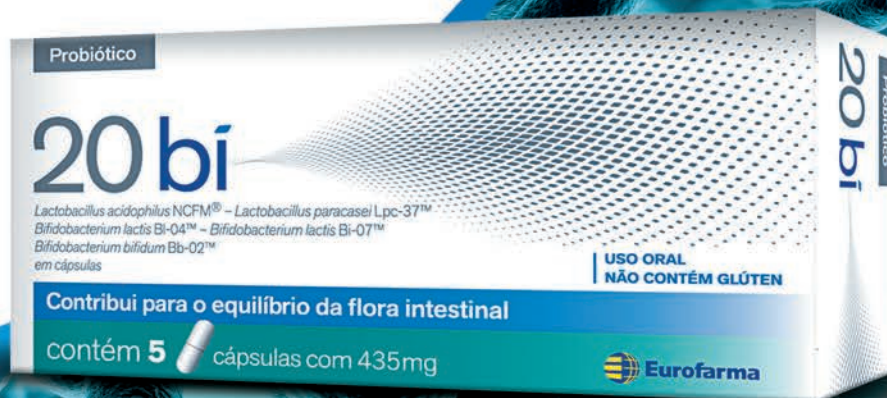
NOVO PROBIÓTICO

20 bí

Contribui para o **equilíbrio da flora intestinal**, produzindo efeitos benéficos à saúde.

Cepas
Premium
Dupont™
Danisco®

- 20 bilhões de microrganismos probióticos por cápsula.
- Formulação exclusiva com 5 cepas.
- Lactobacilos e bifidobactérias.



Apresentações: 5, 10 e 30 cápsulas.

Posologia: 1 a 2 cápsulas ao dia.

20 bí® (*Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* e *Bifidobacterium bifidum*) Informação Nutricional: Porção 435mg (1 cápsula contém 2×10^{10} microrganismos probióticos); não contém quantidade significativa de valor energético, carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras trans, fibra alimentar e sódio. GESTANTES, NUTRIZES E CRIANÇAS SOMENTE DEVEM CONSUMIR ESTE PRODUTO SOB ORIENTAÇÃO DE NUTRICIONISTAS OU MÉDICO. NÃO CONTÉM GLÚTEN. Registro MS: 4.7076.0368.002-3. Distribuído por: Eurofarma Laboratórios S/A. Rod. Pres. Castelo Branco, km 36,5, Itapevi/SP. E-mail: euroatende@eurofarma.com.br. Central de Atendimento Eurofarma: 0800 704 3876. NCFM®, Bi-07™, Lpc-37™, Bi-04™, Bb-02™, são marcas ou marcas registradas da DuPont™ e utilizadas sob licença.

