

# Uso de probióticos na prevenção e tratamento de infecções e inflamações gastrintestinais

## *The use of probiotics in the prevention and treatment of gastrointestinal infection and inflammation*

Leda Quercia Vieira<sup>1</sup>; Francisco José Penna<sup>2</sup>; Luciano Amédée Péret Filho<sup>2</sup>; Jacques Robert Nicoli<sup>1</sup>

### RESUMO

A microbiota indígena associada ao trato digestivo humano é um ecossistema extremamente complexo e pouco conhecido. A sua instalação no recém-nascido e sua manutenção no adulto têm papel importante na maturação da biologia e proteção contra infecção do hospedeiro, respectivamente. Contudo, ambas podem ser perturbadas por diversos fatores, levando a uma redução dos benefícios que a atuação da microbiota pode oferecer em condições normais. Esses distúrbios podem ser compensados pelo uso de probióticos, definidos como microorganismos vivos que quando aplicados em quantidade adequada podem oferecer benefícios para o hospedeiro. Bactérias produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) e levedura (*Saccharomyces boulardii*) são entre os microorganismos mais estudados ou já usados como probióticos. Para certas aplicações, a soma de ensaios clínicos já foi suficiente para efetuar meta-análises que mostraram um efeito positivo dos probióticos, como na profilaxia de diarreia aguda e da diarreia associada ao uso de antibiótico (em particular no caso de infecção pelo *Clostridium difficile*) e como suplemento na terapia contra *Helicobacter pylori*. Mais recentemente, efeitos positivos foram também sugeridos no caso de doenças inflamatórias intestinais. Contudo, todos os autores concordam com a necessidade de mais ensaios clínicos e biológicos, em particular para esclarecer os mecanismos de ação dos probióticos e os fatores do ecossistema digestivo que podem influir sobre essa atuação. Tais esclarecimentos devem permitir otimizar o uso dos probióticos, regularizando resultados que hoje são algumas vezes flutuantes.

**Palavras-chave:** Microbiota indígena, probiótico, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces boulardii*, meta-análise, ensaio clínico.

### ABSTRACT

*The indigenous microbiota associated to the human digestive tract is an extremely complex and unknown ecosystem. Its installation in the newborn and maintenance in the adult are very important for maturation of the host biology and its protection against infection, respectively. However, both can be disturbed by various factors, leading to a reduction of beneficial effects expected from microbiota function under normal conditions. These perturbations can be compensated using probiotics, which are defined as viable microorganisms which, when used in adequate amounts, are beneficial for the host. Lactic acid producing bacteria (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) and yeast (*Saccharomyces boulardii*) are among the microorganisms most frequently studied and used as probiotics. For some uses, the sum of clinical trials was sufficient to perform meta-analyses that showed a positive effect of probiotic use, such as for prophylaxis of acute diarrhea and antibiotic associated diarrhea (particularly for *Clostridium difficile* infection), and as a supplement during *Helicobacter pylori* therapy. More recently, positive effects were also suggested for intestinal inflammatory diseases. However, all the authors agree with*

<sup>1</sup> Instituto de Ciências Biológicas

<sup>2</sup> Faculdade de Medicina

Universidade Federal de Minas Gerais  
Belo Horizonte - MG

Endereço para correspondência:  
Profa. Leda Quercia Vieira  
Departamento de Bioquímica e Imunologia  
Instituto de Ciências Biológicas da UFMG - Bloco 04 - SI 189  
Av. Antonio Carlos, 6627. Belo Horizonte-MG  
CEP: 31.270-901

*the need for more clinical trials and biological assays, particularly in order to understand the mechanisms of the action of probiotics as well as the factors in the digestive ecosystem that can influence this action. Such knowledge must permit an optimization of probiotic use, regulating results, which today are sometimes fluctuant. More recently, positive effects were also suggested for intestinal inflammatory diseases. However, all the authors agree with the need of more clinical trials and biological assays, particularly in order to understand the mechanisms of action of probiotics as well as the factors in the digestive ecosystem that can influence this action. Such knowledge must permit an optimization of probiotic use, regulating results, which today are sometimes fluctuant.*

**Key words:** *Indigenous microbiota, probiotic, Lactobacillus, Bifidobacterium, Saccharomyces boulardii, meta-analysis, clinical trial.*

## JUSTIFICATIVA DO USO

Nas superfícies de um hospedeiro humano, a proteção ecológica é um dos quatro tipos de defesa que um microrganismo patogênico deverá enfrentar durante uma tentativa de invasão, além das defesas mecânicas, químicas e imunológicas. Essa proteção ecológica é consequência da presença de populações extremamente elevadas de bactérias, que são globalmente chamadas de microbiota indígena, que equivale à microflora normal. Devido ao seu tamanho ( $10^{14}$  células microbianas viáveis com peso total de 1,5 kg e atividade global similar à de um fígado) e seu impacto na biologia do hospedeiro humano, a microbiota indígena pode ser equiparada a um órgão complementar espalhado nas diversas superfícies e mucosas do nosso corpo, onde desenvolve funções extremamente importantes para a saúde.<sup>1</sup> As funções benéficas mais importantes oferecidas pela microbiota, em condições normais, são três: a) a resistência à colonização por patógenos (que impede a instalação e multiplicação de microrganismos exógenos no local); b) a imunomodulação (que permite uma resposta mais rápida e ajustada do sistema imunológico em caso de agressão infecciosa); e c) a contribuição nutricional (que fornece vitaminas e substratos energéticos e reguladores para fisiologia digestiva).<sup>1</sup>

Além dessas importantes funções para a saúde do adulto, a microbiota exerce papel fundamental à medida que se instala sobre a maturação da biologia do recém-nascido.<sup>2</sup> De fato, a criança nasce totalmente isenta de microrganismo e, logo após

seu nascimento, ela é progressivamente colonizada pelos componentes que formarão sua microbiota.<sup>3</sup> Durante a instalação de sua microbiota, os microrganismos são responsáveis pela maturação dos sistemas imunológico (estimulação da resposta contra microrganismos exógenos e tolerância em relação aos componentes da microbiota indígena; indução do equilíbrio no balanço Th1-Th2) e digestivo (estimulação da vascularização intestinal e dos sistemas de transporte de nutrientes; redução da permeabilidade intestinal).<sup>4,5</sup>

Pelo exposto, pode-se perceber que uma rápida e correta colonização pela microbiota indígena é extremamente importante para a maturação da biologia e proteção do recém-nascido e, uma vez instalada, essa microbiota deve ser preservada para que as suas funções continuem a ser benéficas.

Contudo, a atuação benéfica da microbiota pode ser perturbada por diversos fatores. Assim, uma rápida e correta colonização de um recém-nascido pode não ser observada, dependendo do tipo de parto (natural ou cesariana), da alimentação (amamentação na mama ou por fórmula em mamadeira), do tempo de gestação no nascimento (prematureo ou a termo), da necessidade do uso de antimicrobianos ou de internação em UTI, do modo de vida (teoria da higiene) e até do estresse da mãe.<sup>6,7,8,10,11</sup> Além do atraso na ocupação protetora do ecossistema gastrointestinal (deixando abertura para microrganismos patogênicos), esses fatores podem reduzir a atuação da microbiota na maturação da biologia do hospedeiro. Assim, menos estimulação da resposta contra microrganismos exógenos pode levar a menos resistência à infecção, redução da tolerância em relação à microbiota indígena pode induzir inflamação intestinal e a falha para equilibrar o balanço Th1-Th2 pode estimular fenômenos alérgicos.

Evidências também sugerem que uma colonização incorreta no início da vida leva irreversivelmente a uma microbiota que nunca será tão eficiente como teria sido em caso de instalação normal. Mesmo após instalação adequada, a microbiota pode ainda sofrer perturbações resultantes da utilização de antimicrobianos (diarréias associadas ao uso de antibióticos; infecção pelo *Clostridium difficile*), de mudanças drásticas de alimentação (diarréia do viajante) e de estresse. No caso dessas perturbações serem previstas ou instaladas, pode-se perguntar se existem possibilidades de intervir

para prevenir ou tratar as falhas das funções benéficas da microbiota. Os probióticos podem ser uma das respostas a essa questão.<sup>12,13</sup>

## PROBIÓTICOS: DEFINIÇÕES E MICRORGANISMOS UTILIZADOS

O conceito de probióticos, na verdade, não é recente. A ingestão de leites fermentados já era mencionada no Antigo Testamento da Bíblia (Gênesis 8:8) e Plínio, um historiador romano, recomendava o uso de produtos lácteos fermentados para o tratamento de gastroenterites, em 76 a.C. Contudo, foi somente em 1907 que Elie Metchnikoff relacionou a presença de bactérias produtoras de ácido láctico nos leites fermentados com os possíveis efeitos benéficos da sua ingestão. A sugestão de Metchnikoff baseava-se na associação entre a elevada longevidade de populações do Leste da Europa e o seu consumo de diversos tipos de produtos lácteos fermentados.<sup>14</sup> A partir desse conhecimento de microorganismos favoráveis à saúde humana, em 1960, Richard Parker utilizou pela primeira vez o termo “probiótico” com o significado de “a favor da vida”, de acordo com a origem grega do termo. Fuller, em 1989, apresentou a primeira definição da palavra como sendo: “suplemento alimentar constituído de microorganismos vivos capazes de beneficiar o hospedeiro pelo balanço do equilíbrio da microbiota intestinal”<sup>14</sup>.

Posteriormente, outras inúmeras definições foram propostas, mas hoje a definição recomendada conjuntamente pela Organização Mundial de Saúde e a Organização de Agricultura e Alimentos é: “microorganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefício à saúde do hospedeiro”.<sup>15</sup>

Teoricamente, vírus, bactérias, fungos e protozoários poderiam ser candidatos ao uso como probióticos. Na prática, somente alguns grupos de bactérias Gram-positivas (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*), de bactérias gram-negativo (*Escherichia coli* não patogênica) e de leveduras (*Saccharomyces*) são estudados ou já comercializados como probióticos. A maioria deles foi isolada do tubo digestivo do homem. Contudo, alguns (*Bacillus*, *Saccharomyces*) vêm de outros ecossistemas microbianos. Entre todos os candida-

tos a serem probióticos destacam-se, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium animalis* var. *lactis* Bb12 e *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* que apresentam a maior e mais convincente soma de dados obtidos em ensaios biológicos e clínicos.

Resultados interessantes, mas em volumes menores, foram obtidos com bactérias da espécie *E. coli*<sup>16,17</sup> e dos gêneros *Clostridium*<sup>18</sup> e *Bacillus*<sup>19</sup>. Bacteriófagos já foram testados para tratamento de infecção por *Salmonella* e *E. coli* O157:H7<sup>20</sup> e, nos Estados Unidos, recentemente, a *Food and Drug Administration* (FDA) autorizou o seu uso em alimento como agentes antimicrobianos contra *Listeria monocytogenes*.<sup>21</sup>

## FORMAS DE UTILIZAÇÃO

Para aplicação no trato gastrintestinal, os probióticos são ingeridos sob duas formas como: alimentos ou preparações farmacêuticas. As formas tradicionais de alimentos probióticos são de produtos lácteos fermentados ou suplementados (iogurte, leite acidófilo), já testados ou lançados no comércio, como queijos, biscoitos e até goma de mascar.

Como produto farmacêutico, os probióticos são apresentados geralmente liofilizados em cápsula ou sachê. Como, por definição, as células probióticas devem estar vivas para atuar, o prazo de validade varia de um produto para outro. Na forma hidratada de alimentos, esse prazo é geralmente de um a dois meses, enquanto como produto liofilizado farmacêutico varia de um a dois anos. A menção “quantidades adequadas” da definição de probióticos recomendada pela FAO/WHO é outro aspecto muito importante. Em ecologia microbiana, considera-se que para poder atuar num local, um microorganismo deve estar presente em nível populacional igual ou superior a 10<sup>7</sup> células viáveis/ g ou ml de conteúdo. Para atingir esse nível, tomando em conta os fenômenos de diluição intestinal, o microorganismo probiótico deverá, portanto, apresentar-se em quantidades iguais ou superiores a 10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> células viáveis/ g ou ml no produto a ser ingerido.

Como todo produto, os probióticos sofrem restrição de uso em certas situações. Nos últimos 30 ou 40 anos de utilização, houve relatos de algumas dezenas de casos de infecção de pacientes por bactérias ou leveduras probióticos.<sup>22</sup> Todos esses casos foram observados em pacientes imunocom-

prometidos ou críticos. Portanto, até a obtenção de mais informações, os probióticos não são recomendados nessas situações.<sup>23</sup> No futuro, a solução para esses casos, talvez seja, o uso de células probióticas mortas cujo potencial imunomodulador, ligado à estrutura superficial, continuaria provavelmente intacto.

## MECANISMOS DE AÇÃO

Os probióticos apresentam mecanismos de atuação similares aos dos componentes da microbiota indígena, já que são geralmente isolados desse ecossistema e sua utilização tem como objetivo reforçar as funções dessa microbiota ou compensá-las quando apresentam falhas. Esses mecanismos são:

- a competição por nutrientes ou sítios de adesão<sup>8</sup>;
- a produção de substâncias (bacteriocinas) ou metabólitos (ácidos orgânicos) antagonistas;
- a modulação do sistema imunológico<sup>24,25,26</sup> ou da ação de toxinas<sup>27,28,29,30</sup>. É importante salientar que cada probiótico apresenta sempre combinações de mais de um desses mecanismos, o que dificulta o desenvolvimento de resistência à sua atuação pelos microrganismos patogênicos, como ocorre no caso dos antibióticos.

## APLICAÇÕES CLÍNICAS

Desde 1960, inúmeros ensaios clínicos com probióticos foram descritos na literatura, mas relativamente poucos foram bem controlados (duplo cego, aleatório com placebo).<sup>31</sup> A finalidade dos estudos iniciais com probióticos foi essencialmente desenvolver métodos alternativos profiláticos ou terapêuticos para infecções gastrointestinais (diarréias infecciosas diversas, diarréia associada ao uso de antimicrobiano, infecção pelo *Clostridium difficile* ou *Helicobacter pylori*).

Mais recentemente, foram acrescentados ensaios desenvolvidos na tentativa de prevenir ou tratar distúrbios resultantes de relações anômalas entre a microbiota indígena e o sistema imunológico do seu hospedeiro (doenças inflamatórias intestinais, alergias). Para diversas aplicações, a soma de ensaios clínicos já permitiu efetuar metanálises para determinar a eficácia dos probióticos.<sup>32</sup> Para a diarréia do viajante e a intolerância à lactose, a

prevenção ou o tratamento com probióticos não mostraram efeito significativo e, hoje, ensaios clínicos com essa finalidade são raros.<sup>33</sup>

## Prevenção ou tratamento de infecções gastrointestinais

Vários ensaios em modelo animal mostraram efeito protetor de probióticos, como *Lactobacillus*<sup>34</sup>, *Bifidobacterium*<sup>35</sup>, *E. coli*<sup>36</sup> e *S. boulardii*<sup>37,38</sup> contra *Salmonella Typhimurium*, *Shigella flexneri* e *Vibrio cholerae*. Essa proteção decorreu de modulação do sistema imunológico<sup>24,25,26</sup> ou da produção de toxinas<sup>28</sup>, mas nunca de antagonismo. A competição por sítios de adesão ou nutrientes pode ser um mecanismo complementar de atuação desses probióticos.<sup>39</sup>

## Tratamento de diarréias agudas

Duas recentes metanálises sobre o uso de *Lactobacillus* GG40 e *S. boulardii*<sup>41</sup> no tratamento de diarréias agudas em crianças sugerem somente efeitos clínicos benéficos moderados. No caso do *Lactobacillus* GG, até agosto de 2006, os oito ensaios aleatórios, controlados (total de 988 participantes) selecionados para análise mostraram redução significativa: na duração da diarréia (-1,1 dias; CI 95% -1,9 a -0,3), em particular para diarréias por rotavírus; no risco de diarréia superior a 7 dias (risco relativo 0,25; CI 95% 0,09 a 0,75); e na duração de hospitalização (-0,58; CI 95% -0,8 a -0,4). Não houve efeito de redução no número e volume das evacuações. Para *S. boulardii*, e também até agosto de 2006, cinco ensaios aleatórios, controlados (total de 619 participantes) mostraram redução na duração da diarréia (-1,1 dias; CI 95% -1,3 a -0,8) e no risco desse distúrbio por mais de 7 dias (risco relativo 0,25; CI 95% 0,08 a 0,83). Para as duas análises, os autores ressaltam as limitações metodológicas dos estudos incluídos na análise e a necessidade de cuidados na interpretação.

## Diarréias associadas ao uso de antibióticos (DAA)

A prevenção de DAA é a situação para a qual existe a maior quantidade de ensaios clínicos com probióticos e quatro metanálises recentes chegaram à mesma conclusão sobre o efeito positivo de preparações à base de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *S.*

*boulardii*.<sup>42,43,44,45</sup> Em 25 ensaios aleatórios, controlados (total de 2810 pacientes), realizados entre 1977 e 2005, os probióticos reduziram o risco relativo de DAA (risco relativo 0,43; CI 95% 0,31 a 0,58).

Num dos trabalhos selecionados para as duas últimas análises, Corrêa *et al.*<sup>46</sup> descreveram que o tratamento com uma fórmula láctea contendo *Bifidobacterium* e *Streptococcus* reduziu significativamente tanto a frequência de DAA como a necessidade de reidratação nas crianças que apresentaram diarreia.

### Infecção pelo *Clostridium difficile*

Para a infecção pelo *C. difficile*, metanálise recente<sup>44</sup> mostrou efeito benéfico particularmente com *S. boulardii*, provavelmente ligado à sua capacidade peculiar e já bem demonstrada de modular a ação de toxinas bacterianas, tanto do *C. difficile*<sup>27,29</sup> como do *V. cholerae*.<sup>27,30</sup> Os resultados de seis ensaios clínicos para o tratamento<sup>5</sup> ou a prevenção<sup>1</sup> da infecção pelo *C. difficile* mostraram a eficácia do uso de probióticos contendo *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *S. boulardii* (risco relativo 0,59; CI 95% 0,41 a 0,85).

### Suplementação durante a terapia de erradicação do *Helicobacter pylori*

Uma metanálise recente<sup>47</sup> sugere que a suplementação com probióticos durante a terapia contra o *H. pylori* pode aumentar a eficácia e reduzir os efeitos secundários do tratamento. Os resultados da análise de 14 ensaios (total de 1671 pacientes) aleatórios, controlados mostraram que a taxa de erradicação da terapia foi globalmente maior - 83,6% - (CI 95% 80,5 a 86,7) nos pacientes recebendo em suplemento os probióticos (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces boulardii*, *Bacillus*, *Clostridium*), quando comparada com a taxa de 74,8% na terapia sem os probióticos (CI 95% 71,1 a 78,5).

A ocorrência de efeitos secundários foi de 24,7% (CI 95% 20,0 a 29,4) e 38,5% (CI 95% 33,0 a 44,1) com e sem suplementação com probióticos, respectivamente. Um trabalho que não entrou na metanálise, pela fato de ter sido publicado recentemente<sup>48</sup>, veio reforçar as conclusões do artigo de Tong *et al.*,<sup>47</sup> com aumento da taxa de erradicação de 72,3 para 88,6% quando houve suplementação com a mistura de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

Houve também redução dos efeitos secundários de 40,6 para 9,5% com o uso adicional dos probióticos ( $P < 0,05$ ).

### Prevenção ou tratamento de distúrbios resultantes das relações microbiota - sistema imunológico

Como comentado, pelo seu tamanho, a microbiota indígena apresenta potencial imunogênico considerável para o qual uma tolerância precisa ser desenvolvida durante o processo de colonização do recém-nascido. Contudo, em indivíduo geneticamente susceptível, uma resposta anormal do sistema imunológico à microbiota indígena pode ser responsável pela iniciação e perpetuação de inflamação intestinal.<sup>49</sup>

A melhoria das condições higiênicas, em particular nos países desenvolvidos, levou à falta de exposição do recém-nascido a grande variedade de microrganismos. Esse fato permitiu reduzir as infecções gastrintestinais, mas simultaneamente dificultou o acesso da criança a uma gama variada de microrganismos, indispensável à construção de uma microbiota indígena funcional e atuante no seu sistema imunológico imaturo (teoria da higiene). Isto explicaria a menor potencialidade protetora da microbiota e o aumento das doenças alérgicas nas crianças dos países desenvolvidos.<sup>50</sup>

Nessas duas situações descritas, nas quais os componentes da microbiota são, de alguma maneira, responsáveis pela inadequação do sistema imunológico, um pensamento racional levou à tentativa de modificação na composição do ecossistema microbiano intestinal, utilizando a ingestão de probióticos. Além disso, há na literatura científica uma soma de resultados obtidos em modelos animais e humanos demonstrando claramente a promoção da função da barreira epitelial intestinal<sup>51</sup> e o efeito antiinflamatório<sup>52</sup> obtidos com vários microrganismos probióticos.

### Doenças inflamatórias intestinais

Dois revisões recentes<sup>53,54</sup> analisaram o uso de probióticos (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *E. coli*, *S. boulardii*) no tratamento de doenças inflamatórias intestinais (colite ulcerativa, doença de Crohn, bolsita - *pouchitis*). Os mecanismos sugeridos para

o uso de probióticos para essa finalidade seriam: a inibição do crescimento de bactérias patogênicas entéricas; aumento da função de barreira do epitélio e da mucosa intestinal; e/ou imunomodulação. Os autores concluíram que para a doença de Crohn (sete ensaios clínicos entre 1997 e 2005, num total de 661 pacientes), as poucas evidências encontradas na literatura não são ainda suficientes para justificar o uso de probióticos.

No caso da colite ulcerativa (quatro ensaios clínicos entre 1997 e 2006, num total de 199 pacientes), os dados sugerem que alguns dos probióticos podem ser úteis na remissão dos quadros brandos a moderados da doença. Outras evidências são mais convincentes e defendem o uso de probióticos na prevenção e tratamento da bolsita (quatro ensaios clínicos entre 2000 e 2004, num total de 136 pacientes). Nessa última situação, em três dos quatro ensaios as freqüências de prevenção ou remissão da bolsita variaram de 40 a 100% nos pacientes recebendo a preparação probiótica (VSL#3, uma mistura de oito diferentes bactérias produtoras de ácido láctico), enquanto foram de 10 a 15% no grupo placebo. Contudo, os autores concordam sobre a necessidade de mais ensaios clínicos bem controlados e também de estudos para definir-se as doses e a duração de tratamento mais eficientes.

### Enterocolite ulceronecrosante no prematuro

Uma revisão recente<sup>55</sup> sobre o uso de probióticos (*Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *S. boulardii*) na prevenção de enterocolite ulceronecrosante (estágio 2 ou acima) em neonatos prematuros (gestação inferior a 33 semanas) de muito baixo peso (inferior a 1.500 g) mostrou, após metanálise de sete ensaios bem controlados (total de 1393 pacientes) feitos entre 1980 e novembro de 2006, redução do risco de enterocolite (risco relativo 0,36; CI 95% 0,20 a 0,65), do risco de óbito (0,47; CI 95% 0,30 a 0,73) e do tempo de alimentação plena (WMD -2,74 dias; CI 95%; -4,98 a -0,51) no grupo de crianças tratadas quando comparado com o controle. Contudo, os autores mencionam a necessidade de mais ensaios para determinar a segurança dos probióticos em curto e longo prazos e esclarecer dúvidas relativas à dose, duração e tipo de probióticos (espécies, único ou em combinação, vivo ou morto) a serem usados.

### Síndrome do cólon irritável

Apesar das causas da síndrome do cólon irritável permanecerem ainda relativamente desconhecidas, a alteração intraluminal, a inflamação e a ativação imunológica observadas sugerem haver disfunção na relação entre a microbiota indígena e o hospedeiro. Dados mostram também microbiotas indígenas com composição diferente entre pacientes com a síndrome do cólon irritável e indivíduos saudáveis.<sup>56</sup> Isso constituiu a base racional para o emprego de probióticos (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) no tratamento dessa doença. Em 10 ensaios clínicos realizados entre 2000 e 2006 (total de 836 pacientes), sete demonstraram redução dos sintomas (diarréia, dor, flatulência, distensão). Todos os autores ressaltam a necessidade de mais ensaios para melhor definir as espécies microbianas e doses a serem utilizadas.<sup>32</sup>

### Alergia

A utilização de probióticos (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) em ensaios clínicos para o tratamento de doenças alérgicas é relativamente recente e é baseada na observação de diferenças na composição e propriedades da microbiota intestinal de crianças saudáveis e alérgicas.<sup>57</sup> Numa revisão recente<sup>58</sup>, os autores concluem que há evidências que suportam o uso de probióticos em crianças, desde que cedo na vida, e mais particularmente no caso do eczema infantil. Ensaios clínicos publicados após essa revisão apresentaram dados favoráveis ao uso de probióticos para o eczema atópico<sup>59,60</sup>, enquanto outros não descreveram efeito<sup>61,62</sup>, demonstrando a necessidade de mais experimentos.

### Colonização dirigida do recém-nascido

Uma aplicação potencial dos probióticos, ainda pouco estudada, é o fornecimento intencional, ao recém-nascido, dos microrganismos de que ele necessita para construir sua microbiota indígena. A colonização inicia-se durante a passagem pelo canal do parto e leva em torno de um e meio a dois anos para se completar, levando a uma microbiota com composição e funções parecidas com as de um adulto. Fica a cargo do recém-nascido encontrar esses microrganismos, sendo a mãe, o alimento, o ambiente e outros seres humanos os doadores principais.

Esse período de instalação de uma microbiota inicialmente escassa, instável e com potencial protetor baixo representa um período crítico para a criança, durante o qual eventual encontro com um microrganismo patogênico pode ser problemático. Além disso, foi visto que vários fatores podem reduzir o acesso do recém-nascido a fontes de componentes para sua microbiota. Seria extremamente importante auxiliá-lo nessa tarefa, fornecendo os microrganismos certos na hora adequada, reduzindo, assim, o risco de entrada de patógenos e acelerando a instalação de uma microbiota potente em termos protetores.

Infelizmente, a seqüência de colonização do trato digestivo do recém-nascido é ainda muito pouco conhecida e existem somente poucas informações limitadas aos primeiros momentos deste processo. Logo após o nascimento, *E. coli* não patogênica e alguns *Enterococcus* são as primeiras bactérias a colonizar o tubo digestivo, seguidas alguns dias depois por bactérias do gênero *Bifidobacterium*.<sup>63</sup> Baseados nessas informações, alguns ensaios clínicos foram desenvolvidos, inoculando-se crianças logo após o nascimento, com cepas não patogênicas de *E. coli* ou de *Bifidobacterium*. Esses poucos estudos permitiram reduzir a freqüência de diarreia no primeiro ano de vida ou estimular o sistema imunológico do recém-nascido.<sup>16,17,64</sup> Contudo, a aplicação de um cartão de inoculação de microrganismos para estabelecer rapidamente uma microbiota protetora e reguladora, de maneira similar à vacinação, fica ainda como um sonho.

## CONCLUSÕES

Fica evidente que há uma lógica teórica no uso dos probióticos, baseada na existência, desde o nascimento, de ecossistemas microbianos associados às superfícies e mucosas do hospedeiro humano, onde desenvolvem importantes funções de defesa ecológica e de maturação e manutenção dos sistemas imunológico e digestivo. Como a vacinação é uma maneira de reforçar a proteção imunológica, o uso de probióticos tem como objetivo a intervenção para obter uma máxima atuação da proteção ecológica. Os resultados até hoje demonstrados nos ensaios clínicos com probióticos deixam, quanto à sua eficiência, várias certezas (diarreia associada à antibioticoterapia, infecções

pelo *C. difficile* e *H. pylori*), várias esperanças (doenças inflamatórias intestinais) e muitas dúvidas.

Todos os autores concordam com a necessidade de se realizarem mais ensaios clínicos bem controlados para definir claramente o tipo de probiótico, a dose e a duração do tratamento para cada situação de infecção ou inflamação intestinal. O maior problema atual para a utilização de probióticos é a falta de conhecimentos, tanto sobre o seu modo de ação, como sobre os mecanismos que regem as interações ecológicas nas superfícies onde eles devem atuar. Essa falta de domínio é provavelmente um dos fatores responsáveis pelos resultados conflitantes obtidos com o uso dos probióticos. A obtenção dessas informações deverá permitir o uso otimizado dos probióticos para obter-se um máximo de benefícios nas relações do hospedeiro humano com a sua microbiota associada.

Finalmente, deve-se lembrar que, além do trato gastrintestinal, o uso de probióticos poderá ser aplicado em outros importantes ecossistemas microbianos, como os do trato urogenital inferior, do trato respiratório superior, da superfície cutânea e da cavidade oral.

## REFERÊNCIAS

1. Nicoli JR, Vieira LQ. Microbiota gastrointestinal normal na doença e na saúde. In: Castro LP, Coelho LGV, editores. Gastroenterologia. Rio de Janeiro: Medsi; 2004. v.1, cap. 61, p.1037-47.
2. Hooper LV. Bacterial contributions to mammalian gut development. Trends Microbiol. ano; 12: 129-34.
3. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human intestinal microbiota. PLoS Biol 2007; 5: e177.
4. Caicedo RA, Schanler RJ, Li N, Neu J. The developing intestinal ecosystem: implications for the neonate. Pediatr Res 2005; 58: 625-8.
5. Grönlund MM, Arvilommi H, Kero P, Lehtonen O, Isolauri E. Importance of intestinal colonisation in the maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow-up study of healthy infants aged 0-6 months. Arch Dis Child Fetal Neonatal 2000; (83):186-92.
6. Alm JS, Swartz J, Björstén B, England L, Engström J, Kuhn I, et al., Scheynius A. An anthroposophic lifestyle and intestinal microflora in infancy. Pediatr Allerg Immunol 2002; 13: 402-11.
7. Bailey MT, Lubach GR, Coe CL. Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. JPGN 2004; 38: 414-21.

8. Bennet R, Nord CE. Development of the faecal anaerobic microflora after caesarian section and treatment with antibiotics in newborn infants. *Infection* 1987; 15: 332-6.
9. Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Faecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *JPGN* 1999; 28: 19-25.
10. Harmsen HJM, Wildeboer ACM, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *JPGN* 2000; 30: 61-7.
11. Onderdonk AB, Lee ML, Lieberman E, Delaney ML, Tuomala RE. Quantitative microbiology models for preterm delivery. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1073-79.
12. Nicoli JR, Vieira LQ, Penna FJ, Vieira EC. Probióticos. *Rev Med Minas Gerais* 2001; 11: 23-8.
13. Penna FJ, Péret Filho LA, Calçado AC, Ribeiro Jr H, Nicoli JR. Bases experimentais e clínicas atuais para o emprego dos probióticos. *J Pediatr* 2000; 76: 209-17.
14. Fuller R. Probiotics: the Scientific Basis. London: Chapman & Hall; 1992. 398 p.
15. Joint FAO/WHO Food and Agricultural Organization/World Health Organization. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London: FAO/WHO; 2002 11 p. April 30 and May 1.
16. Figueiredo PP, Vieira EC, Nicoli JR, Nardi RD, Raibaud P, Duval-Hliah Y, Penna FJ. Influence of oral inoculation with plasmid-free human *Escherichia coli* on the frequency of diarrhea during the first year of life in human newborns. *JPGN* 2001; 33: 70-4.
17. Cukrowska B, Lodínová-Zádíková R, Enders C, Sonnenborn U, Suchlze J, Tlaskalová-Hogenová H. Specific proliferative and antibody responses of premature infants to intestinal colonization with nonpathogenic probiotic *E. coli* strain Nissle 1917. *Scand J Immunol* 2002; 55: 204-9.
18. Seki H, Shiohara M, Matsumura T, Miyagawa N, Tanaka M, Komiyama A, Kurata T. Prevention of antibiotic-associated diarrhea in children by *Clostridium butyricum* MIYAIRI. *Pediatr Int* 2003; 45: 86-90.
19. Hong HA, Duc LH, Cutting SM. The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 29: 813-35.
20. Alinsky J, Iczkowski K, Rapoport A, Troitsky N. Bacteriophage show promise as antimicrobial agents. *J Infect* 1998; 36: 5-15. 1987.
21. Peek R, Reddy KR. FDA approves use of bacteriophages to be added to meat and poultry products. *Gastroenterology* 2006; 131: 1370.
22. Marteau P, Seksik P. Tolerance of probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38 (suppl. 2): S67-9.
23. Espghan Committee on Nutrition. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN committee on nutrition. *JPGN* 2004; 38: 365-74.
24. Neumann E, Oliveira MAP, Cabral CM, Moura LN, Nicoli JR, Vieira EC, Cara DC, Podoprigora GI, Vieira LQ. Mono-association with *Lactobacillus acidophilus* UFVH2B20 stimulates the phagocytic system of germfree mice. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 1565-73.
25. Rodrigues ACP, Cara DC, Fretez SHGG, Cunha FQ, Vieira EC, Nicoli JR, Vieira LQ. *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice. *J Appl Microbiol* 2000; 89: 404-14.
26. Silva AM, Barbosa FHF, Duarte R, Vieira LQ, Arantes RME, Nicoli JR. Effect of *Bifidobacterium longum* ingestion on experimental salmonellosis in mice. *J Appl Microbiol* 2004; 97: 29-37.
27. Pothoulakis C, Kelly CP, Joshi MA, Gao N, O'Keane CJ, Castagliuolo I, LaMont JT. *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology* 1993; 104: 1108-15.
28. Brandão RL, Castro IM, Bambirra EA, Amaral SC, Fietto LO, Tropia MJM, Neves MJ, Santos RG, Gomes NCM, Nicoli JR. Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 564-8.
29. Castagliuolo I, Lamont JT, Nikulasson ST, Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun* 1996; 64: 302-7.
30. Czerucka D, Roux I, Rampal P. *Saccharomyces boulardii* inhibits secretagogue-mediated adenosine 3'5'-cyclic monophosphate induction in intestinal cells. *Gastroenterology* 1994; 106: 65-72.
31. Montrose DC, Floch MH. Probiotics used in human studies. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 469-84.
32. Quigley EMM, Flourie B. Probiotics and irritable bowel syndrome: a rationale for their use and an assessment of the evidence to date. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 166-72.
33. Levri KM, Ketvertis K, Deramo M, Merenstein JH, D'Amico F. Do probiotics reduce adult lactose intolerance? A systematic review. *J Fam Pract* 2005; 54: 613-20.
34. Moura LN, Neumann E, Vieira LQ, Nicoli JR. Protection by *Lactobacillus acidophilus* H2B20 against experimental challenge with *Salmonella enteritidis* var. typhimurium in gnotobiotic and conventional mice. *Rev Microbiol* 2001; 32: 66-9.
35. Silva AM, Bambirra EA, Oliveira AL, Souza PP, Gomes DA, Nicoli JR. Protective effect of bifidus milk on the experimental infection with *Salmonella typhimurium* in conventional and gnotobiotic mice. *J Appl Microbiol* 1999; 86: 331-6.
36. Lima Filho JVM, Vieira EC, Nicoli JR. Antagonistic effect of *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii* and *Escherichia coli* combinations against experimental infections with *Shigella flexneri* and *Salmonella enteritidis* subsp. typhimurium. *J Appl Microbiol* 2000; 88: 365-70.



37. Dias RS, Bambirra EA, Silva ME, Nicoli JR - Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against the cholera toxin in rats. *Braz J Biol Med Res* 1995; 28: 323-5.
38. Rodrigues ACP, Nardi RM, Bambirra EA, Vieira EC, Nicoli JR - Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in gnotoxenic mice. *J Appl Bacteriol* 1996; 81: 251-6.
39. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. *Lactobacillus acidophilus* LA1 binds to human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut* 1994; 35: 483-9.
40. Szajewska H, Skórka A, Rusczyński M, Gieruszczak-Bialek D. Meta-analysis: *Lactobacillus GG* for treating acute diarrhea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 871-81.
41. Szajewska H, Skórka A, Dyląg M. Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 257-64.
42. Cremonini F, Di CS, Nista EC *et al.* Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1461-7.
43. D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. Probiotics in prevention of antibiotic-associated diarrhoea: meta-analysis. *BJM* 2002; 324: 1361.
44. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 812-22.
45. Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomized, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 374-82.
46. Corrêa NBO, Lima FMLS, Nicoli JR, Péret LAF, Penna FJ. A randomized placebo-controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 385-9.
47. Tong JL, Ran ZH, Shen J, Zhang CX, Xiao SD. Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 155-68.
48. Bortoli N, Leonardi G, Ciancia E, Merlo A, Belini M, Costa F, Mumolo MG, Ricchiuti A, Cristiani F, Sant S, Rossi M, Marchi S. *Helicobacter pylori* eradication: a randomized prospective study of triple therapy versus triple therapy plus lactoferrin and probiotics. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 951-6.
49. Thompson-Chagoyán OC, Maldonado J, Gil A. Aetiology of inflammatory bowel disease (IBD): role of intestinal microbiota and gut-associated lymphoid tissue immune response. *Clin Nutr* 2005; 24: 339-52.
50. Rautava S, Ruuskanen O, Ouwehand A, Salminen S, Isolauri E. The hygiene hypothesis of atopic disease. An extended version. *JPGN* 2004; 38: 378-88.
51. Madsen K, Cornish A, Soper P, McKaigney C, Jijon H, Yachimec C, Doyle J, Jewell L, De Simone C. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2001; 121: 580-91.
52. Menard S, Candahl C, Bambou JC, Terpend K, Cerf-Bensussan N, Heyman M. Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining anti-inflammatory properties after intestinal transport. *Gut* 2004; 53: 821-8.
53. Jones JL, Foxx-Orenstein AE. The role of probiotics in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 607-11.
54. Rioux KP, Fedorak RN. Probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 260-3.
55. Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomized controlled trials. *Lancet* 2007; 369: 1614-20.
56. Camilleri M. Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, putative mechanisms, and evidence of clinical efficacy. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 264-9.
57. He F, Ouwehand A, Isolauri E, Hashimoto H, Benno Y, Salminen S. Comparison of mucosal adhesion and species identification of bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants. *FEMS Immunol. Med Microbiol* 2001; 30: 43-7.
58. Boyle RJ, Tang MLK. The role of probiotics in the management of allergic disease. *Clin Exp. Allergy* 2006; 36: 568-76.
59. Abrahamsson TR, Jakobsson T, Böttcher MF, Frederikson M, Jenmalm MC, Björstén B, Oldaeus G. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1174-80.
60. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, Kuitunen M. Probiotics and prebiotics galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 192-8.
61. Brouwer ML, Wolt-Plompen SA, Dubois AE, van der Heide S, Jansen DF, Hoijer MA, Kauffman HF, Duiverman EJ. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 899-906.
62. Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 184-91.
63. Tannock G. What immunologists should know about bacterial communities of the human bowel. *Sem Immunol* 2007; 19: 94-105.
64. Kitajima H, Sumida Y, Tanaka R, Yuki N, Takayama H, Fujimura. Early administration of *Bifidobacterium breve* to preterm infants: randomized controlled trial. *Arch Dis Child* 2005; 76: 101-7.