

MICROBIOMA, PROBIÓTICOS E SAÚDE



ILSI

International Life
Sciences Institute
Brasil

SÉRIE DE PUBLICAÇÕES ILSI BRASIL:
Alimentos com propriedades
funcionais e/ou de saúde.

VOLUME 8



ILSI

International Life
Sciences Institute
Brasil

ILSI BRASIL
INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE DO BRASIL

Rua Hungria, 664 — conj.113

01455-904 — São Paulo — SP — Brasil

Tel./Fax: 55 (11) 3035-5585 e-mail: ilsibr@ilsi.org.br

© 2017 ILSI Brasil International Life Sciences Institute do Brasil

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Microbioma, probióticos e saúde / [editores Christian Hoffmann ... [et al.]]. -- São Paulo : ILSI Brasil - International Life Sciences Institute do Brasil, 2018. -- (Série de publicações ILSI Brasil : força-tarefa de alimentos funcionais grupo de trabalho probióticos)

Outros editores: Fabiana A. Hoffmann Sardá, Eliana B. Giuntini, Franco M. Lajolo.

Vários autores.

Bibliografia.

ISBN 978-85-86126-82-6

1. Alimentos funcionais 2. Intestinos - Doenças - Tratamento 3. Microbioma 4. Probióticos 5. Saúde - Promoção I. Hoffmann, Christian. II. Sardá, Fabiana A. Hoffmann. III. Giuntini, Eliana B. IV. Lajolo, Franco M. V. Série.

18-15563

CDD-613.26

Índices para catálogo sistemático:

1. Probióticos e microbioma intestinal : Promoção da saúde 613.26

Maria Paula C. Riyuzo - Bibliotecária - CRB-8/7639

Esta publicação foi possível graças ao apoio da Força-Tarefa Alimentos Funcionais, subordinada ao Comitê de Nutrição e este ao Conselho Científico e de Administração do ILSI Brasil.

Segundo o estatuto do ILSI Brasil, no mínimo 50% de seu Conselho Científico e de Administração deve ser composto por representantes de universidades, institutos e órgãos públicos, sendo os demais membros representantes de empresas associadas.

Na página 57, encontra-se a lista dos membros do Conselho Científico e de Administração do ILSI Brasil e na página 59, as empresas mantenedoras da Força-Tarefa Alimentos Funcionais em 2018.

Para mais informações, entre em contato com o ILSI Brasil pelo telefone (11) 3035-5585 ou pelo e-mail: ilsibr@ilsibr.org.br

As afirmações e opiniões expressas nesta publicação são de responsabilidade dos autores, não refletindo, necessariamente, as do ILSI Brasil. Além disso, a eventual menção de determinadas sociedades comerciais, marcas ou nomes comerciais de produtos não implica endosso pelo ILSI Brasil.

SUMÁRIO EXECUTIVO

Um Consenso Possível

Um recente congresso realizado pelo ILSI em outubro passado mostrou que já existe hoje, na literatura científica, quantidade significativa de pesquisas, revisões sistemáticas e meta-análises sobre o papel significativo dos probióticos e do microbioma intestinal na manutenção da saúde.

O mesmo pode ser dito sobre sua importância clínica no tratamento de doenças intestinais.

Ainda, pesquisas em andamento prometem avanços importantes na compreensão dos mecanismos dessa relação.

É, assim, importante que se estabeleçam parâmetros regulatórios que possam dar conta dos avanços científicos, estimulem a inovação e a compreensão desse potencial benéfico e uso pelo consumidor.

Diante disso, a partir dos avanços mostrados, discutiram-se bases científicas que poderiam nortear uma regulamentação, e como esses avanços refletiram-se nos regulamentos a nível mundial, em termos de alegações e das evidências científicas exigidas para a avaliação de segurança e eficácia.

Evidências sugerem que há bases científicas para estabelecer um consenso e uma desejável harmonização internacional pautada no seguinte:

- 1) Já existe uma ideia sedimentada relativa a probióticos na literatura científica e na sociedade. Assim é oportuno manter e divulgar amplamente a definição existente de probiótico da FAO.
- 2) Leites fermentados sem adição de probióticos e iogurtes não são probióticos (podem vir a sê-lo se houver evidências demonstradas).
- 3) Há bases científicas para estabelecer a existência de efeitos benéficos e, portanto, de alegação de conteúdo ou uma alegação funcional geral a nível de espécie ou gênero, para um número definido de probióticos. (Incluir exemplos mundiais por país).
- 4) Esses probióticos seriam aqueles cuja segurança e eficácia já foram bem definidas e foram aprovados em outros países (incluir aqui uma lista das probióticos aprovados mundialmente).

5) Novos efeitos descobertos no organismo e em decorrência de alegações novas específicas, funcionais ou de saúde, a nível da cepa, bem como a, segurança, devem ser demonstradas caso a caso por evidências baseadas em critérios científicos definidos, níveis elevados de evidências, e baseados em biomarcadores reconhecidos (incluir exemplos de saúde imunológica, relação com estresse, etc.) e considerar o conjunto das evidências.

6) A elaboração de guias de orientação claros para a indústria e para entidades acadêmicas, incluindo questões gerais e também específicas (objeto de questionamentos, possíveis limitações e dúvidas já identificadas, modelos de procedimentos já aprovados) são essenciais para estabelecer um consenso entre os vários setores (acadêmico, avaliador e avaliado). Essa transparência e previsibilidade permitem segurança no planejamento das pesquisas e estimulam a inovação, tema levantado em vários fóruns mundiais.

7) O ILSI desenvolve há muitos anos estudos, revisões sistemáticas, grupos de trabalho e outras atividades, com a participação de especialistas, sobre questões científicas relativas à avaliação de eficácia e segurança e identificação e validação de biomarcadores e temas correlatos que representam subsídio importante para a discussão dos temas acima (trabalhos mais recentes em anexo).

8) Alegações relativas a tratamento de doenças típicas da área médica devem basear-se em estudos com pacientes, e o produto deve ser considerado medicamento. A área médica (gastroenterologia) poderia definir a lista de probióticos com usos clínicos aceitos a partir de evidências existentes ou novas que serviriam de orientação para os profissionais, não sendo, portanto, da área do alimento. Por outro lado, porém, estudos com pacientes podem trazer informações sobre mecanismos e plausibilidade biológica relativa a efeitos na saúde dos probióticos alimentares.

Coordenação Geral:

Franco Maria Lajolo

Autores:

Christian Hoffmann

É professor Doutor do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Possui Doutorado em Biologia pela Universidade Federal de Goiás, tendo conduzido seu trabalho de tese sob a orientação do Dr Frederic Bushman na Universidade da Pennsylvania.

Trabalhou por 10 anos como pesquisador no Departamento de Microbiologia da Escola de Medicina da Universidade da Pennsylvania. Tem experiência em estudos de ecologia molecular de diversos sistema microbianos, incluindo solos, tapetes microbianos e nos últimos 10 anos tem concentrado sua pesquisa no microbioma humano e de outros hospedeiros. Seus interesses de pesquisa incluem as interações entre funções do microbioma em saúde e doenças, e como ele é modulado pela dieta e pelo sistema imune.

Fabiana A. Hoffmann Sardá

Graduada em Nutrição pelo Centro Universitário São Camilo. Mestre e Doutoranda em Ciência dos Alimentos/Nutrição Experimental no Laboratório de Nutrição-Minerais do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP

Eliana B. Giuntini

Graduada em Nutrição pelo Centro Universitário São Camilo. Mestre e Doutoranda em Ciência dos Alimentos/Nutrição Experimental no Laboratório de Nutrição-Minerais do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP

Carla Taddei

Graduação em Farmácia Bioquímica pela Universidade de São Paulo; Doutorado em Ciências Biológicas (Microbiologia) pela Universidade de São Paulo e Pós Doutorado em Bacteriologia pelo Instituto Butantan. É professora Doutora do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e da Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo. Tem experiência na área de Microbiologia, com ênfase em Bacteriologia, atuando principalmente nos seguintes temas: Microbioma Intestinal e Vaginal na eubiose e disbiose.

Christine M'Rini

Pós-Doutorado pela Faculdade de Medicina de Harvard, é professora associada na Rangueil Escola de Medicina e Hospital Universitário, Toulouse, França. Possui 20 anos de experiência profissional em clínicas e ciências da saúde, com atividades públicas e industriais. Trabalhou para o Ministério dos Negócios Estrangeiros francês como Vice-Conselheira e Chefe da Seção de Ciência e Tecnologia do Estado e Embaixada da França na China. Em 2013, junta-se à Danone na Divisão de Laticínios como Diretora de Ciências da Vida, Estudos Clínicos e Biometria.

Rubens Feferbaum

Graduado em Medicina pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; Mestre e Doutor em pediatria pela Universidade de São Paulo. É professor livre docente em pediatria desde 2011. Tem experiência em Medicina focada em pediatria, atuando principalmente nos assuntos: nutrição em pediatria e cuidados intensivos neonatais. Tópicos em crianças criticamente doentes: nutrição parenteral e enteral, nutrição para crianças de muito baixo peso, gasto energético, imunonutrição, resposta inflamatória e avaliação nutricional. É Coordenador científico da Força Tarefa de Nutrição da Criança do ILSI Brasil.

João Felipe Mota

Nutricionista pela Universidade Católica de Campinas, Especialista em Cuidados Nutricionais do Paciente e Desportista pela Faculdade de Medicina da UNESP, Especialista em Bioquímica Nutricional e Dietética pela UNESP, Mestre em Patologia pela UNESP e Doutor em Ciências, área de concentração Nutrição, pela UNIFESP. Professor da Universidade Federal de Goiás. Coordena o Laboratório de Investigação em Nutrição Clínica e Esportiva (LABINCE) da UFG. Membro do Depto. de Nutrição e Metabologia da Sociedade Brasileira de Diabetes desde 2011. Atua na área de Nutrição, com ênfase em Dietética e Bioquímica da Nutrição.

Ana Carolina Franco

Nutricionista formada pela PUC-Campinas. Mestre em Enfermagem pela UNICAMP. Doutora em Nutrição em Saúde Pública pela USP. Pós-doutoranda em Epidemiologia na Faculdade de Saúde Pública/USP e Docente do Complexo Educacional FMU.

Adérson Damião

Médico Gastroenterologista. Médico-Assistente Doutor da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Médico-Assistente da Universidade de São Paulo, Membro de corpo editorial da Revista do Hospital das Clínicas. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Clínica Médica. Atuando principalmente nos seguintes temas: motilidade vesicular, colelitíase, colectomia, retocolite ulcerativa inespecífica.

Dan Waitzberg

Médico Cirurgião. Professor associado do Departamento de Gastroenterologia da FMUSP; Coordenador do Laboratório de Metabologia e Nutrição em Cirurgia Digestiva - Metanutri da FMUSP; Coordenador da Comissão de Nutrologia do Complexo Hospitalar Hospital das Clínicas da FMUSP; Coordenador Clínico das EMTNs do Instituto Central do Hospital das Clínicas de São Paulo, ICESP, Hospital Santa Catarina; Diretor do Ganep Nutrição Humana. É Coordenador científico da Força Tarefa de Nutrição Clínica do ILSI Brasil.

Niels Olsen Saraiva Câmara

Graduação em Medicina pela Universidade Federal do Ceará, Mestrado em Medicina (Nefrologia) pela Universidade Federal de São Paulo, especialização em Imunologia de Transplantes pela Université de Tours, na França, doutorado em Medicina (Nefrologia) pela Universidade Federal de São Paulo, pós-doutorado pelo Imperial College London e livre-docência pela Universidade Federal de São Paulo (Medicina). Atualmente é Professor Titular do Departamento de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Tem experiência na área de Nefrologia e em Imunologia Celular e Aplicada, atuando principalmente nos seguintes temas: transplante renal, modelos experimentais de doenças renais agudas e crônicas, lesão de isquemia e reperfusão, células reguladoras e células-tronco em doenças renais.

Flavio Quilici

Possui graduação em Medicina pela Universidade Estadual de Campinas, mestrado em Ciências Médicas pela Universidade Estadual de Campinas e doutorado em Ciências da Cirurgia pela Universidade Estadual de Campinas. Atualmente é Professor não temporário da Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Cirurgia. Atuando principalmente nos seguintes temas: Sutura Mecânica, Anastomose de reto baixo, Estudo experimental.

Arthur Owehand

Mestre em Biologia Celular pela Universidade de Wageningen (Holanda) e doutor em Microbiologia pela Universidade de Gotemburgo (Suécia). Em 1999, foi nomeado Professor Adjunto em Microbiologia Aplicada na Universidade de Turku (Finlândia). Desde 2004 trabalha para a Danisco; Agora DuPont Nutrição e Saúde. É Técnico e Gerente de Pesquisa em Ciências da Saúde e Nutrição na DuPont, Finlândia. Seu interesse principal é em alimentos funcionais; Em particular probióticos e prebióticos e sua influência na composição e atividade da microbiota intestinal. Atua no ILSI Europa.

Daniela Tomei

Farmacêutica-Bioquímica pela Universidade de São Paulo, com especialização em Ciência dos Alimentos. Diretora da Meta Regulatória, empresa de consultoria, atua como profissional de assuntos regulatórios há mais de 20 anos, com sólida experiência em regulamentos, trâmites e processos regulatórios da ANVISA e Ministério da Agricultura. É consultora técnica na ABIAD, com participação nos Grupos de Trabalho de Suplementos Alimentares e Probióticos.

Antonio Marcos Pupin

Químico pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Mestre e doutor em Ciência de Alimentos pela UNICAMP e pelo Central Science Laboratory (doutorado), no Reino Unido. Trabalhou como pesquisador na UNICAMP por mais de 10 anos na área de ciência de alimentos. Atualmente é Head da Área de Assuntos Regulatórios e Científicos da Nestlé. É Coordenador da Força Tarefa de Alimentos Funcionais do ILSI Brasil e membro da Diretoria da ABIAD.

ÍNDICE

1. Microbiota intestinal, dieta e saúde Christian Hoffmann, Christine M'Rini	13
2. Fatores que modulam o microbioma no início da vida Carla Taddei, Rubens Feferbaum, Fabiana A. Hoffmann Sardá	15
3. Barreira Intestinal, Microbioma e Sistema Imune Adérson O. M. Cintra Damião, Niels Olsen Saraiva Câmara, Christian Hoffmann	19
4. Eixo cérebro-intestino, microbiota e doenças neurológicas Dan L. Waitzberg, Flavio A. Quilici, Eliana B. Giuntini	23
5. Microbiota, hábitos alimentares e doenças crônicas não transmissíveis Ana Carolina Franco de Moraes, João Felipe Mota, Christian Hoffmann, Elaina B. Giuntini, Fabiana A. Hoffmann Sardá.	27
6. Aplicação de Probióticos no trato gastrintestinal Flávio A. Quilici, Eliana B. Giuntini	35
7. Probióticos no Brasil e no Mundo: perspectivas e aspectos regulatórios Arthur Ouwehand, Daniela Tomei, Antonio Marcos Pupin, Fabiana A. Hoffmann Sardá	39
8. Considerações finais Christian Hoffmann, Eliana B. Giuntini, Fabiana A. Hoffmann Sardá	43
9. Referências bibliográficas	45
10. Diretoria/Conselho	57
11. Empresas mantenedoras da Força-Tarefa Alimentos Funcionais	59

1. MICROBIOTA INTESTINAL, DIETA E SAÚDE

Christian Hoffmann, Christine M'Rini

O microbioma intestinal humano é um ecossistema único, que apesar de estar localizado no tubo digestivo, exerce efeitos sistêmicos no organismo humano. O papel dessa microbiota na saúde humana tem se tornado cada vez mais aparente, com efeitos bem documentados na sua relação com a absorção de nutrientes, influência na manutenção da integridade da barreira do trato gastrointestinal (TGI) e no desenvolvimento da imunidade da mucosa.

A composição do microbioma gastrointestinal varia quantitativa, qualitativa e metabolicamente em função da localização ao longo do TGI. Enquanto o estômago e o intestino delgado têm reduzido número de bactérias em indivíduos saudáveis, o íleo representa uma área de transição entre o predomínio de anaeróbios facultativos do jejuno e a densa população de anaeróbios encontrados no cólon. A baixa concentração de oxigênio desta região justifica essa colonização (DERRIEN; VAN HYLCKAMA VLIEG, 2015). O intestino de um adulto saudável é colonizado por mais de 800 espécies bacterianas, com maior concentração no cólon (até 10¹² células/grama de fezes) (LAPARRA; SANZ, 2010). Tais bactérias podem ser divididas em cinco filos: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia*, sendo que os filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* compreendem mais de 90% das bactérias totais (SHEN et al., 2013).

A grande quantidade de dados obtida nos últimos 10 anos, utilizando primariamente métodos de sequenciamento de nova geração, esclareceu diversos pontos de interação do microbioma intestinal com o metabolismo humano. Hoje há uma visão mais completa de que uma adequada interação com o microbioma estabelece ou contribui para um estado de eubiose, e que a quebra desta relação leva à chamada disbiose. Se a simbiose entre microbiota e o hospedeiro pode ser benéfica, a disbiose - desequilíbrio da microbiota intestinal - está envolvida em várias doenças, tanto digestivas quanto extra-digestivas. Os portadores dessas enfermidades, em geral, apresentam diminuição da microbiota habitual e aumento de microrganismos potencialmente patogênicos, ou seja, alteração do seu ecossistema. A disbiose pode estar envolvida em diarreias infecciosas, constipação crônica, síndrome do intestino irritável, doença inflamatória intestinal (DII), bolsite, *Helicobacter pylori*, câncer colorretal, doença diverticular do cólon, doença celíaca, colangite esclerosante, cálculos biliares (NEISH, 2009; SOMMER; BACKHED, 2013). Dessa forma, a recuperação da eubiose por uma alternativa natural, com atuação fisiológica, e não medicamentosa, vem despertando cada vez mais interesse.

A modulação do microbioma é uma área de intensa investigação, almejando caracterizar fatores que atuem no microbioma desde a sua colonização, logo após o nascimento, até as mudanças que ocorrem na terceira idade. Ainda há uma carência em entender de maneira integrativa como a modulação do microbioma no decorrer da vida pode ser feita para melhorar condições clínicas e a saúde de maneira geral.

Uma das fontes de variabilidade do microbioma humano é a dieta. Hoje sabemos que há pelo menos uma grande dicotomia relacionada a padrões de dieta usual de populações humanas e a composição do microbioma intestinal: a correlação entre o enterótipo marcado pelo gênero *Prevotella* e o consumo de carboidratos, e a correlação do enterótipo marcado pelo gênero *Bacteroides* e o consumo proteínas e lipídeos, especialmente de origem animal (WU et al., 2011). Apesar destas relações estarem descritas em diversas populações do mundo, elas não são universais. Por exemplo, o microbioma descrito em diversos países do mundo não apresenta uma predominância do gênero *Bacteroides*. Populações que possuem uma dieta considerada menos industrializada, com uma grande fração de sua dieta composta pela ingestão de carboidratos, tais como a encontrada em regiões rurais de Burkina Faso, no Malawi e em Ameríndios da Venezuela, possuem uma proporção alta de *Prevotella* no seu microbioma (De FILIPPO et al., 2010; YATSUNENKO et al., 2012). Entretanto, população de caçadores-coletores da Tanzânia, com uma dieta rica em consumo de fibras e pontuada pela ingestão de proteína animal não processada, tem uma grande quantidade do gênero *Treponema*, um filo completamente distinto de bactérias, no seu intestino (SCHNORR et al., 2014). Em contraponto, indivíduos dos Países Baixos possuem uma grande quantidade de actinobactérias na sua microbiota intestinal (ZHERNAKOVA et al., 2016; FALONY et al., 2016). Há uma clara distinção observada entre o microbioma de países com maior e menor grau de industrialização, mas também envolve outros fatores. Estas diferenças levantam a questão da aplicabilidade de resultados do efeito modulatório sobre o microbioma humano de uma população para outra.

Uma das formas mais estudadas de modulação do microbioma intestinal humano é o uso de probióticos. Estas estirpes bacterianas podem atuar de 3 maneiras gerais: 1) estimulando diretamente as espécies residentes do microbioma intestinal; 2) reduzindo ou inibindo patógenos; e 3) atuando indiretamente, via estimulação do hospedeiro humano, via interação do epitélio e do sistema imune (DERRIEN; VAN HYLCKAMA VLIET, 2015).

Há diversas evidências clínicas de que os probióticos são eficazes no tratamento ou prevenção de gastroenterites virais agudas, diarreia associada a antibióticos, certos distúrbios alérgicos pediátricos, enterocolite necrotizante e DII, tal como a Doença de Crohn (NEISH, 2009). Estes efeitos também são muito mais pronunciados no intestino delgado ao invés do intestino grosso. Entretanto, está bastante claro que as respostas em populações humanas são bastante diferentes e, parte dessa diferença pode ser decorrente da alta variabilidade interindividual da composição do microbioma humano

2. FATORES QUE MODULAM O MICROBIOMA NO INÍCIO DA VIDA

Carla Taddei, Rubens Feferbaum, Fabiana A. Hoffmann Sardá

A composição da microbiota intestinal no início da vida é influenciada por fatores intrínsecos ao hospedeiro, e fatores externos como composição da microbiota materna, tipo de parto, contaminação ambiental, alimentação e uso de medicamentos (ADLER-BERTH et al., 2009; MARQUES et al., 2010). Logo após o parto, o trato gastrointestinal (TGI) possui um certo teor de oxigênio, o que favorece a colonização por bactérias anaeróbias facultativas, tais como *E. coli*, *E. faecalis* e *E. faecium*. Conforme o oxigênio é consumido, há uma mudança no padrão de colonização, favorecendo bactérias anaeróbias estritas, como *Bifidobacterium*, *Bacteroides* e *Clostridium* (PALMER et al., 2007, BRANDT et al., 2012, TADDEI et al., 2014).

Os primeiros microrganismos que começam a colonizar o TGI podem modular a expressão gênica das células epiteliais do indivíduo, impedindo o crescimento de outras bactérias adquiridas posteriormente, e favorecendo assim o seu próprio crescimento. Dessa forma, a composição da microbiota inicial pode afetar a entrada de outros gêneros de forma seletiva, o que pode trazer consequências para toda a vida (SCHOLTENS et al., 2012; WOPEREIS et al., 2014; HOUGHTTEING; ALLAN WALKER, 2015).

Existem dados abundantes sobre a influência do tipo de parto no microbioma do recém-nascido, e bebês nascidos de parto normal normalmente apresentam um microbioma mais diverso, com alto grau de relação ao microbioma vaginal materno, e com predomínio dos gêneros *Lactobacillus* e *Prevotella*. Crianças nascidas de parto cesárea apresentam um microbioma associado ao encontrado no ambiente e com bactérias encontradas na pele da mãe, como *Staphylococcus* e *Propionebacterium* (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010; MUELLER et al., 2015). Um estudo que acompanhou uma coorte de crianças ao longo de 24 semanas após o seu nascimento verificou que a microbiota intestinal de crianças que nasceram por parto natural e com gestação completa (n=74) permaneceu estável ao longo das 24 semanas do estudo, enquanto que as que nasceram de parto cesárea e com gestação completa (n=62) apresentaram um aumento na abundância de *Firmicutes* e diminuição na abundância de *Actinobacteria* na primeira semana. A partir da oitava semana essas crianças passaram a apresentar uma microbiota mais similar àquela das crianças nascidas por parto natural, o que foi se estabilizando até a 24ª semana após o nascimento (HILL et al., 2017). O aleitamento materno parece influenciar principalmente a microbiota infantil de crianças nascidas por parto cesárea. Essa população amostral de crianças (n=62), avaliadas após 24 semanas do nascimento, que receberam aleitamento por mais de 4 meses ou menos de 4 meses, apresentaram diferença de microbiota. Entretanto as crianças nascidas de parto

natural (n=74) não apresentaram diferença de microbiota se o aleitamento foi maior ou menor que 4 meses (HILL et al., 2017).

O desenvolvimento do microbioma intestinal nos primeiros anos de vida é influenciado pelo tipo de aleitamento, por leite materno ou por fórmula infantil. A amamentação materna exclusiva é importante para a maturação e o desenvolvimento da microbiota infantil de baixo potencial patogênico (MUELLER et al., 2015). Bebês em aleitamento materno apresentam predomínio de *Bifidobactérias*, e lactentes com fórmulas infantis apresentam quantidades similares de *Bacteroides* e *Bifidobactérias* (HARMSSEN et al., 2000). Um estudo multicêntrico conduzido na Europa, com 475 crianças de 6 países diferentes, mostrou que a microbiota a 6 semanas de vida possui uma maior prevalência de *Bifidobacterium* e *Bacteroides* em crianças amamentadas exclusivamente com leite materno, em comparação com as crianças alimentadas com fórmula (40,7% vs 29,2% ($p < 0.001$) e 11.1% vs 15.9% ($p = 0.004$), respectivamente (FALLANI et al., 2011). Na impossibilidade de manter o aleitamento materno exclusivo é importante tentar o aleitamento misto, mantendo o leite materno em conjunto com a fórmula infantil, a fim de manter os níveis elevados de colonização por *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, porém em menor proporção quando comparado com crianças alimentadas exclusivamente com leite materno (SALMINEN et al., 2005; SCHOLTENS et al., 2012).

O leite materno não é estéril e contém diversos tipos de bactérias como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e diversas espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (FUNKHOUSER; BORDENSTEIN, 2013). Os microrganismos presente no leite materno podem ser decorrentes da pele da mãe, do fluxo reverso pela boca do bebê no momento da amamentação, e do microbioma intestinal materno. Alguns estudos sugerem a existência de um eixo entero-mamário, com os macrófagos levando as bactérias do microbioma intestinal materno até aos ductos mamários via circulação (FERNANDEZ et al., 2013).

O leite materno por sua vez serve de fonte de nutrientes para o microbioma do lactente uma vez que é rico em oligossacarídeos, em uma mistura complexa que pode conter de dezenas a centenas de estruturas diferentes, com efeitos considerados prebióticos. Os oligossacarídeos do leite humano (*human milk oligosaccharides* - HMO) têm sido relacionados a efeitos sobre a colonização e desenvolvimento da microbiota do sistema gastrointestinal (GI) de lactentes, estimulando o crescimento de bactérias como as *Bifidobactérias*, e inibindo o crescimento de outras potencialmente patogênicas. A fermentação dos HMO aumenta o conteúdo de umidade e, juntamente com os AGCC produzidos pela mesma fermentação, estimulam a motilidade intestinal, induzindo as contrações musculares do TGI (SCHOLTENS et al., 2014). Fórmulas infantis, utilizadas em substituição do leite materno, tradicionalmente não contêm todos os carboidratos disponíveis no leite materno, mas podem ser adicionadas combinações de oligossacarídeos, como os galacto-oligossacarídeos (GOS) e fruto-oligossacarídeos (FOS) (SCHOLTENS et al., 2012).

A região geográfica onde a criança nasce também pode afetar o desenvolvimento do microbioma intestinal (De FILIPPO et al., 2010). Países desenvolvidos tendem a adotar práticas mais rigorosas de higiene, o que pode modificar a exposição microbiana inicial. Consequentemente, o padrão da microbiota intestinal desses recém-nascidos pode provocar um impacto negativo sobre a regulação imunológica. Esta hipótese, nomeada “a hipótese da higiene”, é corroborada pelo fato de países com índices mais altos de higiene também apresentarem um aumento da incidência de doenças alérgicas e autoimunes observadas (ADLERBERTH; WOLD, 2009).

Paralelamente, em países em desenvolvimento a exposição acentuada a bactérias do ambiente pode induzir um padrão de colonização instável e favorecer a presença de bactérias potencialmente patogênicas. Altas taxas de colonização pelo gênero *Escherichia*, principalmente nos primeiros meses de vida, vêm sendo descritas durante a instalação da microbiota em recém-nascidos em países em desenvolvimento ao redor do mundo, como Etiópia, Paquistão e Brasil (BRANDT et al., 2012).

Existem outros fatores que influenciam a colonização e o desenvolvimento do microbioma intestinal além do tipo de parto e alimentação. Doenças e infecções neonatais requerem intervenções com antibióticos e outros medicamentos que também influenciam na composição do microbioma do TGI. Dependendo do antibiótico, dose e tempo de administração, ocorrem diferentes tipos de alterações da microbiota, e é difícil isolar os fatores de confusão e avaliar o seu real impacto em longo prazo (LANGDON; CROOK; DANTAS, 2016). Os dados mais conclusivos apontam que nesta faixa etária os antibióticos diminuem a abundância de *Bifidobacterium* e aumentam a frequência de *Enterococcus* e enterobactérias, e alguns estudos também apontam para um crescimento significativo da colonização por *Klebsiella* sp (TADDEI et al., 2014; TANAKA et al., 2009). Por outro lado, em adultos há evidência de uma certa resiliência do microbioma, observando-se uma recuperação do padrão com o término da administração do antibiótico (JAKOBSSON et al, 2010), mas em crianças, com o microbioma em formação, estes efeitos, principalmente os de longo prazo, são menos compreendidos (TAMBURINI et al., 2016).

Cabe ressaltar que é possível que ocorram alterações não detectáveis na composição da microbiota em função do uso de antibióticos nos primeiros meses de idade. O uso contínuo de antibióticos está associado ao aumento do risco a longo prazo, verificado em estudos epidemiológicos, de doenças como asma, diabetes tipo 2 e doença inflamatória do intestino e outras doenças alérgicas (SCHOLTENS et al., 2012; TAMBURINI et al., 2016).

A falta de aleitamento materno, presença de sepsse bacteriana, jejum prolongado, ambiente da UTI neonatal e uso de medicamentos, como antibióticos e inibidores da acidez gástrica (bloqueadores H2 e inibidores da bomba de prótons) podem alterar a composição e diversidade da microbiota intestinal. Essa disbiose interrompe o delicado mecanismo imuno-intestinal, favorecendo o crescimento e a translocação de bactérias patogênicas para a corrente sanguínea (PETERSON; ARTIS, 2014).

Em estudo que avaliou, ao longo de 24 semanas, 136 crianças nascidas com tempo gestacional completo e 34 crianças nascidas a pré-termo, foi observado que as crianças prematuras apresentaram uma abundância relativa maior de *Proteobacteria* em comparação às nascidas a termo, ao final da primeira semana (HILL et al., 2017). O filo *Proteobacteria* inclui uma grande variedade de patógenos (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Helicobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, entre outros), além de outras bactérias gram-negativas que contêm na membrana celular compostos lipopolissacarídeos fortemente associadas com exacerbação da reação inflamatória intestinal (GRITZ; BANDHARI, 2015). A enterocolite necrosante (ECN) é uma doença inflamatória que afeta principalmente recém-nascidos e provoca a necrose da mucosa intestinal. Estudos sequenciais do microbioma intestinal em prematuros que desenvolveram ECN demonstram que ocorre diminuição da diversidade bacteriana intestinal com predominância do filo *Proteobacteria*, fato fortemente associado à incidência da doença (AUJOUAT et al., 2014). Uma das indicações mais promissoras do uso de probióticos é na prevenção da ECN em prematuros, o que já foi avaliado em diversos estudos de metanálises, e também em estudos multicêntricos tipo coorte, que demonstraram uma diminuição da ECN em prematuros com a utilização de associações de probióticos (ALFALEH et al., 2014; DESHPANDE et al., 2010; JACOBS et al., 2013; JANVIER; MALO; BARRINGTON, 2014; LAU; CHAMBERLAIN, 2015). No entanto, ainda há a necessidade de se estabelecer a eficácia e a segurança do uso de probióticos, além de identificar tipo de microrganismo e dose de inoculação mais eficazes.

Há também grande interesse no uso de probióticos para prevenção e tratamento da alergia. A doença atópica é uma tendência hereditária de produzir anticorpos IgE (imunoglobulina E) pela hipersensibilidade a antígenos ambientais; esta alergia está associada a um risco aumentado de desenvolver dermatite atópica, asma e rinoconjuntivite alérgica, de forma isolada ou associada (THOMSEN, 2015). A hipótese da higiene - quando a melhor condição higiênica reduz à exposição aos microrganismos - tem sido associada ao aumento do risco de desenvolvimento de doenças alérgicas. Nesse aspecto a colonização da microbiota logo no início da vida é importante para a maturação do sistema imune. A administração de probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* GG; ATCC 53103) no período perinatal, reduziu em 50% o desenvolvimento de eczema atópico durante os 2 primeiros anos de vida de crianças de alto risco. Aos 4 anos, 28% das crianças do grupo probióticos tinham desenvolvido a doença, enquanto no grupo controle esse número foi de 46%. Esses resultados sugerem que a administração desses probióticos a mães grávidas pode reduzir a incidência de eczema atópico não somente nos primeiros anos de vida (CUELLO-GARCIA et al., 2015). Um estudo de revisão envolvendo 12 estudos randomizados com 2080 crianças, com grande heterogeneidade de casuística e cepas utilizadas, mostrou aparente redução no eczema atópico. Embora os resultados sejam promissores, os autores concluem que ainda não há evidências suficientes para indicação de probióticos na prevenção e controle da alergia (CUELLO-GARCIA et al., 2015; BRAEGGER et al., 2011; THOMAS et al., 2010).

3. BARREIRA INTESTINAL, MICROBIOMA E SISTEMA IMUNE

Adérson Omar Mourão Cintra Damião, Niels Olsen Saraiva Câmara, Christian Hoffmann

O trato gastrointestinal (TGI) consiste em um tubo contínuo cujas regiões digestiva e absorptiva podem ser divididas em três porções: estômago, intestino delgado e intestino grosso. Esses órgãos estão em contato constante com nutrientes provenientes dos alimentos, metabólitos e a microbiota residente, tornando cada região do trato essencial para a saúde do indivíduo. Dentre as camadas que compõem a parede do tubo intestinal, a camada mucosa merece destaque. A mucosa intestinal representa uma vasta área de superfície recoberta por uma camada única de células epiteliais que são continuamente expostas a antígenos alimentares e bacterianos (GEREMIA et al., 2014). Por ser uma área de interação do hospedeiro com o ambiente externo, tal superfície precisa ser muito bem protegida, sendo tal proteção conferida, por exemplo, pela secreção de mucina e fator trefoil pelas células caliciformes, pelas chamadas defensinas (ação antibiótica) produzidas pelos neutrófilos, pela produção de IgA secretora e pela presença de junções especializadas (*tight junctions* - TJ) entre as células epiteliais, garantindo a integridade da mucosa e a permeabilidade seletiva (NEUTRA; MANTIS; KRAEHENBUHI, 2001).

A permeabilidade intestinal é provavelmente o fator mais importante na interação da microbiota com o restante do organismo. Os microrganismos, ou produtos do seu metabolismo ativam receptores epiteliais que poderão ter impacto em nível cerebral, além da interação local epitélio-microbiota, pois atingem a camada mucosa, a camada epitelial e a lâmina própria do intestino (YARANDI et al., 2016). Esses são os principais componentes da barreira intestinal, juntamente com as proteínas TJ, que conectam as células epiteliais e regulam a permeabilidade celular (KÖNIG et al., 2016). Juntamente com a barreira epitelial, células do sistema imune - principalmente células dendríticas (CD), macrófagos e linfócitos B e T - são capazes de controlar o ambiente externo distinguindo os microrganismos comensais dos patogênicos, além dos antígenos alimentares (KUFER; SANSONETTI, 2007).

Mudanças nas TJ, mediadas por diversos patógenos gastrintestinais, provocam alterações na permeabilidade paracelular, o que facilita o acesso desses microrganismos, e/ou seus antígenos, à lâmina própria. Estratégias nutricionais e farmacológicas podem ser adotadas para manter a integridade das TJ e do epitélio e assim interferir na patogênese de doenças causadas por patógenos gastrintestinais (KÖNIG et al., 2016). O uso de probióticos específicos pode fortalecer a função das TJ, ou substituir certos patógenos, ou ainda inibir sua aderência (KARCZEWSKI et al., 2010; SERVIN et al., 2010).

Dentre os componentes celulares, as células epiteliais e os fibroblastos, além das CD e macrófagos, conseguem reconhecer padrões moleculares dos microrganismos presentes no intestino. Desta forma, a homeostase intestinal requer que a resposta imune inata seja muito bem controlada e, para isso, requer a participação dos receptores "Toll-like" (*toll-like receptors* - TLR) e de uma proteína intracelular denominada NOD2/CARD15 (*Nucleotide-binding oligomerization domain 2* - NOD2; *Caspase Recruitment Domain 15* - CARD15). Esse processo de reconhecimento antigênico promove uma reação inflamatória equilibrada e fisiológica e contribui para a tolerância, mas, quando desregulado, resulta em quadros inflamatórios, como no caso da doença inflamatória intestinal que inclui a retocolite ulcerativa e a doença de Crohn (ABREU, 2010).

Os microrganismos que residem de forma estável no ambiente intestinal constituem a microbiota residente, e inclui bactérias, fungos e vírus. Estes microrganismos atuam como primeira linha de defesa do hospedeiro contra a invasão e proliferação de organismos exógenos e oportunistas, por meio da síntese de substâncias antagonistas (bacteriocinas – moléculas antagonistas do crescimento bacteriano produzidas pelas bactérias residentes) e competição por espaço e nutrientes (HOOPER et al., 1998).

Nos últimos anos a relação entre o estado de saúde do hospedeiro e sua microbiota tem sido intensamente estudada (SHEN et al., 2013) assim, conhecer sua composição torna-se um ponto chave para o entendimento de tais interações e seus possíveis efeitos. De fato, em modelos experimentais de doença inflamatória intestinal, foi demonstrado que a inflamação do intestino não ocorre, ou acontece de forma mais branda, quando os animais são mantidos em ambientes livres de germes (*germ free*) (STROBER; FUSS; BLUMBERG, 2002) e que o tratamento com antibióticos atenua o processo inflamatório (BAMIAS et al., 2002).

Nas doenças inflamatórias intestinais – retocolite ulcerativa e doença de Crohn – além da redução da diversidade microbiana, a composição da microbiota intestinal pode sofrer alterações (*disbiose*), uma vez que níveis diminuídos de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. têm sido descritos em amostras fecais, enquanto que um aumento de *Enterococcus* spp. e *Bacteroides* spp. tem sido observado na mucosa inflamada de pacientes acometidos pela doença inflamatória intestinal (KENNEDY; KIRK; GARDINER, 2000).

A microbiota do lúmen intestinal (MLI) e a microbiota associada à mucosa (MAM) são dois ecossistemas distintos, com funções metabólicas e imunológicas peculiares. Estudo comparativo entre a MLI e a MAM de voluntários saudáveis revelou perfis distintos, mas principalmente verificou que dos 56 gêneros presentes na MLI todos também foram documentados na MAM. No entanto, a microbiota associada à mucosa apresentava 10 gêneros únicos, não presentes na MLI. Essas observações reforçam a importância de se estudar esses dois nichos independentemente para melhor entender o papel de cada um na manutenção da saúde e desenvolvimento de doenças (RINGEL et al., 2015).

Diversos nutrientes e metabólitos, provenientes da digestão dos alimentos e/ou sintetizados por bactérias comensais, têm sido relacionados ao desenvolvimento, funcionamento e homeostase do sistema imune. Isso sugere que as bactérias comensais podem influenciar a imunidade do hospedeiro via mecanismos dependentes de nutrientes e metabólito (BRESTOFF; ARTIS, 2013; KÖNIG et al., 2016). Recentemente, algumas espécies e gêneros microbianos foram apontados como participantes ativos na diferenciação de células T. Eles incluem *Bacteroides fragilis*, bactérias filamentosas segmentadas e espécies de *Clostridium*, que induzem a expansão de células Th17 e T reguladora (KELLY; DELDAY; MULDER, 2012; KENNEDY; KIRK; GARDINER, 2000). Todavia, na maioria dos casos, é difícil saber se a microbiota alterada (disbiose) é causa ou consequência do processo inflamatório.

Um importante modulador da microbiota intestinal é a dieta, uma vez que os diferentes nutrientes ingeridos, quando não metabolizados, servem de substrato para o desenvolvimento de determinados microrganismos (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010; GORDON et al., 2012). Esse é o caso dos prebióticos, alimentos ou ingredientes alimentares fermentados no cólon, que afetam benéficamente a saúde humana por favorecer o crescimento de espécies bacterianas probióticas (simbiontes), como *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp., impedem a instalação de patógenos exógenos ou endógenos potencialmente patogênicos (patobiontes) e mantêm o estímulo sobre os órgãos linfóides associados à mucosa intestinal (MALT) sem provocar uma resposta imune exacerbada (KAUR et al., 2009).

Os produtos da fermentação das fibras alimentares pela microbiota são, basicamente, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Cerca de 85 a 95% dos AGCC encontrados no lúmen intestinal são acetato, propionato e butirato, que atuam como fonte energética adicional para o hospedeiro. O butirato, por exemplo, é a principal fonte de energia para crescimento das microvilosidades dos colonócitos e para manutenção da integridade intestinal (HOLTUG; RASMUSSEN; MORTENSEN, 1992). Além de seu papel sobre os colonócitos, trabalhos recentes demonstraram efeitos dos AGCC sobre as células do sistema imune, como inibição da proliferação de linfócitos e modulação da ativação das células dendríticas (CAVAGLIERI et al., 2003; SINGH et al., 2010). Por atingirem rapidamente a corrente sanguínea, os AGCC também podem atuar sobre outros órgãos e participar de estágios iniciais de algumas doenças. Recentemente foram feitos estudos investigando a influência dos AGCC sobre as doenças renais.

A lesão renal aguda (LRA) apresenta uma alta taxa de mortalidade em pacientes hospitalizados e tem sido considerada fator de risco para o desenvolvimento da doença renal crônica (DRC). Na LRA observa-se um importante componente inflamatório, com liberação de citocinas pró-inflamatórias e ativação de neutrófilos. Investigações recentes demonstraram o papel anti-inflamatório e de inibição de histonas deacilases dos AGCC – em especial o acetato –, protegendo e/ou melhorando a LRA (ANDRADE-OLIVEIRA et al., 2015). Desta forma, os mecanismos pelos quais os AGCC podem modular a resposta inflamatória em tecidos distantes do intestino devem ser mais explorados.

4. EIXO CÉREBRO-INTESTINO, MICROBIOTA E DOENÇAS NEUROLÓGICAS

Dan L. Waitzberg, Flavio A. Quilici, Eliana B. Giuntini

O intestino é classicamente reconhecido pela sua ampla área absorptiva, entretanto, recentemente vem sendo chamado de “o segundo cérebro”, em função da sua relação com as funções neurológicas, além das endócrinas e imunológicas. Do ponto de vista neurológico, as funções intestinais são controladas por sistemas neurais intrínsecos e extrínsecos, e a motilidade intestinal é regulada pelo sistema nervoso autônomo. A medula espinhal leva mensagens para os receptores aferentes entéricos; por sua vez o nervo vago transmite sinais do cérebro para o intestino e do intestino para o cérebro pelas vias eferentes e aferentes, respectivamente (AVETISYAN et al., 2015; RIDARUA; BELKAID, 2015).

O cérebro pode modificar a microbiota intestinal de forma indireta, pela alteração da motilidade e secreções gastrintestinais, fluxo sanguíneo, sensações viscerais, e diretamente, por moléculas de sinalização liberadas no lúmen intestinal pelas células da lâmina própria. Neurônios, células do sistema imune e enterocromafins também parecem secretar, no interior do lúmen intestinal, moléculas de sinalização neuronal e neuroendócrina como catecolaminas, serotonina e citocinas (RHEE; POTHOUKAKIS; MAYER, 2009).

Além desta comunicação direta entre o intestino e o cérebro, existe também uma comunicação bidirecional entre a microbiota intestinal e os componentes do eixo cérebro-intestino. Desequilíbrios nesta comunicação podem contribuir para o risco de desenvolvimento de diversas doenças. A fisiopatologia do humor e da ansiedade pode estar relacionada a alterações diversas desencadeadas pela microbiota sobre o sistema gastrintestinal (GI), o sistema nervoso central (SNC), o sistema nervoso autônomo (SNA) e o sistema imunológico. Essas alterações podem provocar alterações no armazenamento de gordura e no balanço energético, na função de barreira GI, na inflamação geral de baixo grau (GI e sistêmica), na maior reatividade ao estresse, no aumento da ansiedade e em comportamentos depressivos (FOSTER; NEUFELD, 2013).

A microbiota pode alterar o comportamento por mecanismos dependentes de certas neurotrofinas, o que explicaria como a disbiose poderia contribuir para mudanças comportamentais observadas em pacientes com doenças crônicas, mesmo que não de forma definitiva.

Em modelos animais é possível observar mudanças de comportamento induzidas por alterações no microbioma intestinal. Por exemplo, camundongos *germ free* colonizados com conteúdo cecal de uma linhagem de animais com comportamento exploratório menos elevado apresentaram redução de 44% do fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain derived neurotrophic factor* - BDNF) em relação ao grupo colonizado com conteúdo fecal dos mais ativos nos primeiros dias; porém depois de 3 semanas os níveis do BDNF do hipocampo foram semelhantes (DENOU et al., 2011). Alterações neurológicas nesses ratos incluíram alterações comportamentais e cognitivas como redução de memória, sociabilidade, locomoção, auto-limpeza e aumento de ansiedade, acompanhado de alterações neurobioquímicas como redução de BDNF e elevação de 5 hidroxitriptamina, hormônio adrenocorticotrófico e cortisol (DENOU et al., 2011; DINAN et al., 2015).

Existem diversos estudos conectando a ação de probióticos à ansiedade em modelos animais. Camundongos alimentados com *Lactobacillus rhamnosus* apresentaram redução da ansiedade avaliada pela expressão de receptores GABA; a ingestão de *B. Infantis* melhorou o nível de triptofano plasmático em animais; já a *L. helveticus* reduziu a ansiedade induzida por dieta e uma mistura de *L. helveticus* e *B. longum* reduziu a ansiedade e infarto induzido por depressão (DINAN;CYRAN, 2013).

Outra doença recentemente relacionada ao eixo intestino-cérebro é a esclerose múltipla. Esta é uma doença pró-inflamatória, com desmielinização do sistema nervoso central, imuno mediado, que envolve fatores genéticos e ambientais, e cerca de 85% desses pacientes tem a forma remissão-recidiva. A disbiose no TGI também parece estar presente nestes pacientes. Pelo menos um estudo mostrou que, na microbiota intestinal de pacientes com esclerose múltipla há aumento de gêneros *Pseudomonas*, *Mycoplna*, *Haemophilus*, *Blautia* e *Dorea*, enquanto que nos voluntários saudáveis havia maior abundância de *Parabacteoides*, *Adlercreutzia* e *Prevotella* (CHEN et al., 2016).

A doença de Alzheimer é uma doença degenerativa neuronal com aumento da expressão do precursor da proteína amilóide (APP), favorecendo a produção e agregação da placa induzida por proteína beta-amilóide, o que pode causar a morte neuronal. Em modelo animal, com camundongos *germ free* transgênicos, foi possível observar que a microbiota está associada ao desenvolvimento de doença envolvendo a APP, a qual apresentou redução acentuada nesses animais (HARACH et al., 2017).

Embora ainda sejam necessários estudos mais específicos, a microbiota pode ter papel importante no tratamento do autismo, um transtorno de comportamento que pode ser agravado por problemas gastrintestinais e cognitivos. Intervenções com antibióticos levaram a melhora do comportamento e comunicação desses pacientes; probióticos também podem ter impacto positivo, uma vez que intervenções probióticas apresentam efeitos positivos sobre sintomas neuropsicológicos, como humor e ansiedade, em pacientes com outras doenças (LOUIS, 2012). Em voluntários saudáveis o consumo de leite fermentado adicionado de probióticos (*Bifidobacterium animalis subsp Lactis*,

Streptococcus thermophiles, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis* subsp *Lactis*) por 4 semanas, provocou mudanças na conectividade do mesencéfalo, região de controle das emoções e sensações, levando à redução da manifestação de metabolismos cerebral. A combinação de *L. helveticus* e *B. longum*, por sua vez, apresentaram efeito psicológico benéfico com a diminuição do cortisol sérico (TILLISCHI et al., 2013).

Disbiose pode deflagrar respostas inflamatórias e imunológicas que promovem alterações metabólicas e gastrintestinais. Portadores de doenças neurológicas apresentam diferentes sintomas incluindo muitas vezes alguns relativos ao sistema gastrintestinal, que podem agravar os neurológicos.

Estudo de revisão envolvendo 25 estudos experimentais e 15 ensaios clínicos, principalmente com cepas de *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*) e *Lactobacillus* (*L. helveticus*, *L. rhamnosus*), evidenciou que esses probióticos podem contribuir para a eficácia em melhorar distúrbios psiquiátricos relacionados ao comportamento, como ansiedade, depressão, transtorno de espectro autista, distúrbio obsessivo-compulsivo, melhorando a capacidade de memória, espacial e não espacial (WANG et al., 2016).

5. MICROBIOTA, HÁBITOS ALIMENTARES E DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS

Ana Carolina Franco de Moraes, João Felipe Mota, Christian Hoffmann, Elaina B. Giuntini, Fabiana A. Hoffmann Sardá

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) compartilham fatores ambientais na sua etiopatogenia – como hábitos alimentares inadequados e a inatividade física – bem como mecanismos fisiopatológicos, como a inflamação crônica subclínica e a resistência à insulina.

A composição da microbiota parece influenciar a ocorrência de DCNTs as quais têm elevada prevalência em várias partes do mundo (KOETH et al., 2013). Diversos filos bacterianos, ou relações entre eles, têm sido associados ao desenvolvimento de algumas DCNTs. Um exemplo, ainda que controverso, inclui a razão entre os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. Alguns estudos observaram que o excesso de gordura corporal se associava à maior abundância relativa de *Firmicutes* em relação aos *Bacteroidetes* (LEY, 2010), fato que não foi confirmado por outros (ARUMUGAM et al., 2011; FINUCANE et al., 2014).

Paralelamente, a baixa abundância do filo *Proteobacteria* associada à elevada quantidade dos gêneros *Bacteroides*, *Prevotella* e *Ruminococcus* sugere uma microbiota intestinal saudável (HOLLISTER et al., 2014). Apesar de existirem diferenças na microbiota inter-indivíduos, parece haver um perfil de bactérias considerado adequado para que possam ser mantidas interações metabólicas estáveis entre o hospedeiro e o seu microbioma. Quando há alterações neste perfil considerado saudável, podem ocorrer modificações em algumas vias metabólicas, caso de indivíduos obesos (TURNBAUGH et al., 2009). Embora os dados não sejam conclusivos, alguns autores consideram que há evidência de que a microbiota intestinal desses indivíduos seja diferente da microbiota de indivíduos eutróficos, apresentando menor diversidade na composição de microrganismos (LEY, 2010, GOMES et al., 2018). Se alterações da composição da microbiota têm papel causal na obesidade ou se são resultados da doença também é motivo de debate (SHEN et al., 2013).

Uma das possíveis justificativas para a relação entre a obesidade e a microbiota intestinal seria sua capacidade de modular a secreção hormonal (ELAHI et al., 2013), uma vez que algumas bactérias podem produzir e secretar hormônios, alterando o metabolismo e o comportamento do hospedeiro. Cabe ressaltar que há uma interação bidirecional entre a microbiota intestinal e a produção hormonal, assim a microbiota

intestinal pode afetar os hormônios, os quais podem afetar a microbiota, influenciando no crescimento ou expressão de determinadas bactérias, por exemplo (NEUMAN et al., 2015). Tal modulação hormonal pode ser decorrente da produção de AGCC pela microbiota, a partir da fermentação das fibras alimentares (FA), especialmente butirato, propionato e acetato.

Os AGCC podem modificar a liberação de serotonina (5-HT) e do peptídeo YY (PYY), hormônio este envolvido na redução do apetite e diminuição da motilidade intestinal. o que pode levar a uma maior absorção de nutrientes (FUKUMOTO et al., 2003). Esse conhecimento sobre a estimulação da secreção do PYY auxilia o entendimento de como bactérias comensais intestinais podem modular a regulação central do apetite e saciedade e, conseqüentemente, a adiposidade corporal (SHEN et al., 2013; MORAES et al., 2014). A microbiota intestinal pode ainda alterar a liberação de outros neuropeptídeos que regulam o apetite e o metabolismo, como o hormônio alfa melanócito estimulante, o neuropeptídeo Y (NPY), o peptídeo relacionado ao gene agouti (AgRP), além da grelina, somatostatina, leptina, insulina e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) (NEUMAN et al., 2015). Os AGCC possuem a capacidade de se ligar a receptores acoplados à proteína G, denominados receptores de ácidos graxos livres (FFAR), expressos em células enteroendócrinas L, produtoras de incretinas como o GLP. A ativação dos FFAR2 estimula a secreção de GLP-1 que, por sua vez, promove a secreção de insulina pelas células β pancreáticas, melhorando o controle glicêmico (CANI et al., 2009).

A presença desses AGCC leva também à diminuição do pH intestinal, modificando indiretamente a composição da microbiota (WONG et al., 2006) e desfavorecem o crescimento de bactérias gram-negativas. Além disto, o butirato é capaz de induzir a expressão de genes que codificam para proteínas de junção das células epiteliais (tais como ocludina e claudina), necessárias para adequada função da barreira intestinal, contribuindo para atenuar a endotoxemia metabólica.

Tais interações demonstram que a microbiota intestinal é um fator importante para o desenvolvimento de doenças metabólicas, sendo considerado um órgão endócrino envolvido na manutenção da homeostase energética e da imunidade do hospedeiro (CLARKE et al., 2014). Alterações na relação simbiótica entre microbiota e hospedeiro podem resultar em um processo inflamatório crônico de baixo grau e em distúrbios metabólicos presentes na obesidade (MARCHESI et al., 2015). A Figura 1 traz uma representação comparativa, esquemática, entre os estados de obesidade e eutrofia, e as complexas interações entre a microbiota e os alguns dos seus principais moduladores – ambiente, genética, dieta, medicação e probióticos.

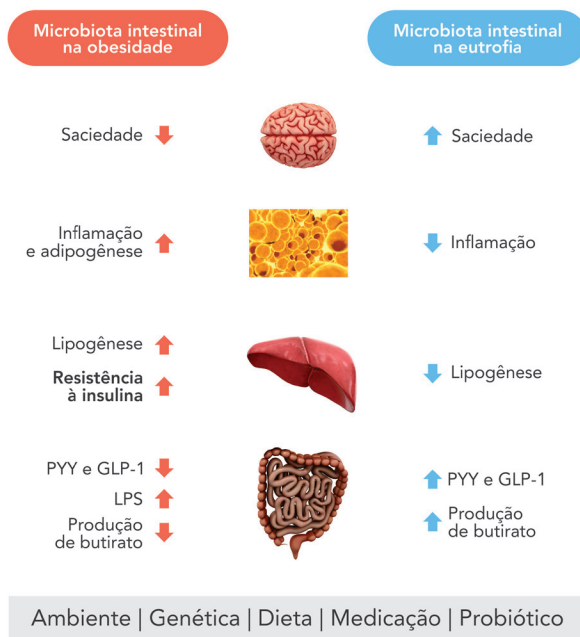


Figura 1. Microbiota na obesidade e na eutrofia: interações e fatores modulares.

A relação causal entre microbiota intestinal e obesidade foi investigada a partir de gêmeos discordantes para obesidade, após a realização de transplante fecal em camundongos *germ free*. Camundongos colonizados com a microbiota de gêmeo obeso apresentaram maior ganho de peso corporal e de tecido adiposo do que aqueles colonizados com a microbiota de gêmeos magros. Nos camundongos obesos posteriormente colonizados com a microbiota de camundongos magros – via coprofagia – foi observado aumento de *Bacteroidetes*, com consequente elevação da produção de AGCC em relação aos obesos. Adicionalmente não ocorreu ganho de massa gorda, de forma similar ao observado em camundongos colonizados com microbiota intestinal de indivíduos magros (RIDAURA et al., 2013). Em humanos, essa modificação da microbiota poderia ocorrer pela alteração do padrão alimentar, uma vez que o consumo de uma dieta hipoglicídica ou hipolipídica, comuns em dietas para perda de peso, levou a um aumento da abundância de *Bacteroidetes*, em estudo com 12 indivíduos obesos (LEY et al., 2006).

O estresse oxidativo e a inflamação crônica de baixo grau são características da obesidade que estão associadas à resistência à insulina e às doenças cardiovasculares. As bactérias gram-negativas da microbiota intestinal contêm lipopolissacarídeo (LPS) em sua parede celular, o que pode iniciar o processo de inflamação associada com obesidade e resistência à insulina. As concentrações sistêmicas de LPS são baixas em

peessoas saudáveis, mas podem ser elevadas em obesos, causando a endotoxemia metabólica (CANI et al., 2007; SHI et al., 2006).

Muitos indivíduos obesos consomem dietas hiperlipídicas, o que modifica a composição da microbiota, aumenta a permeabilidade intestinal e o número de quilomícrons, facilitando a translocação de componentes bacterianos como o LPS (CANI et al., 2007; GHOSHAL et al., 2009). A circulação sérica de LPS ativa os receptores *toll-like receptor 4* (TLR4), os quais induzem reações que culminam com a produção de mediadores inflamatórios, incluindo o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) e a Interleucina 6 (IL-6). Esses receptores comprometem a sinalização insulínica, induzindo resistência à insulina, o que predispõe à ocorrência de doenças cardiometabólicas (CANI et al., 2007; CARICILLI; SAAD, 2013; MORAES et al., 2014).

O uso de probióticos parece poder reduzir processos inflamatórios relacionados à obesidade, o que foi observado em camundongos com obesidade induzida por dieta. A administração de *L. curvatus* HY7601 e *L. plantarum* KY1032 juntamente com dieta rica em lipídios, reduziu a obesidade e modulou genes pró-inflamatórios e genes relacionados com a oxidação do tecido adiposo e fígado, sendo que este efeito foi associado à modulação da microbiota intestinal (PARK et al., 2013). A dieta hiperlipídica, que induziu a obesidade deste estudo, diminuiu a quantidade de quatro espécies pertencentes às famílias *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae*, as quais voltaram a aumentar posteriormente somente nos camundongos tratados com probióticos.

A utilização de um probiótico comercial contendo elevada concentração com oito espécies diferentes de bactérias*. O efeito benéfico deste probiótico sobre a obesidade foi associado à modulação da microbiota intestinal, resultando no aumento da produção de butirato, o qual aumenta a produção de GLP-1 pelas células intestinais, reduzindo a ingestão alimentar e melhorando a tolerância à glicose (YADAV et al., 2013).

Em um estudo com mulheres com sobrepeso e obesas suplementadas com um mix de probióticos contendo *Lactobacillus acidophilus* LA-14, *Lactobacillus casei* LC-11, *Lactococcus lactis* LL-23, *Bifidobacterium bifidum* BB-06, e *Bifidobacterium lactis* BL-4 foi observada redução da adiposidade abdominal e aumento da atividade enzimática antioxidante de forma mais efetiva em relação a uma intervenção dietética isolada (GOMES et al., 2017).

Alguns estudos em humanos avaliaram o efeito positivo dos probióticos sobre a obesidade; entretanto, poucos avaliaram a modificação da composição da microbiota intestinal após a utilização de probióticos. Um ensaio clínico realizado com adolescentes avaliou o impacto da suplementação com a bactéria *L. salivarius* Ls-33 sobre a microbiota intestinal e observou um aumento do grupo *Bacteroides-Prevotella-Porphyrromo-*

* *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*.

nas, após a suplementação, entretanto, essa alteração não foi relacionada aos efeitos sobre a síndrome metabólica (LARSEN et al., 2013). Um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, avaliou o efeito da administração de cápsula contendo *Streptococcus thermophilus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *B. lactis*, *B. longum* e *B. breve*, associada à utilização de fitoterápico em indivíduos obesos. O tratamento reduziu a produção de endotoxina e o *B. breve* foi correlacionado negativamente com a endotoxemia metabólica (LEE et al., 2014).

A obesidade é uma doença é afetada pela dieta e estilo de vida e é fator de risco de desenvolvimento de síndrome metabólica. Os probióticos parecem contribuir com a homeostase energética, hidrolisando de forma mais eficiente os polissacarídeos, aumentando a produção de AGCC a partir de carboidratos não disponíveis, alterando a síntese lipídica e aumentando catabolismo de aminoácidos (KOVATCHEVA DATCHARY; ARORA, 2013). Mudanças no gênero ou espécies específicas já foram associadas à obesidade e diabetes tipo 2 em humanos. Pacientes com sobrepeso, obesidade ou diabetes tipo 2 normalmente apresentam redução da abundância de microrganismos relacionados à efeitos anti-inflamatórios como *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium prausnitzii*. A infusão de microbiota intestinal de doador magro e saudável melhorou a sensibilidade à insulina em indivíduos com síndrome metabólica (EVERARD; CANI, 2013). O consumo de probióticos *L. rhamnosus* PL60 produtores de ácido linoleico conjugado tem sido associado à redução de ganho de peso e tecido adiposo branco em ratos, e a *L. plantarum* PL62 reduziu também os níveis de glicose, além do menor ganho de peso. Os probióticos podem reduzir o tamanho dos adipócitos, pelo aumento da excreção fecal de esteróis neutros e ácidos biliares, redução da absorção de triacilgliceróis, fosfolipídios e colesterol ou ainda pelo aumento da lipólise (KOVATCHEVA DATCHARY; ARORA, 2013).

Nos últimos anos foram observados os efeitos da citocina interferon-gama (INF- γ), a qual amplifica a cascata de inflamação e deteriora a sensibilidade à insulina (WONG et al, 2011; O'ROURKE et al., 2012). Em estudos com animais deficientes em INF- γ foi observada a melhora na tolerância à glicose devido a redução da produção hepática de glicose (WONG et al, 2011), e ao aumento da sensibilidade à insulina, possivelmente relacionado à redução da inflamação no tecido adiposo (O'ROURKE et al., 2012).

A ação do IFN- γ no metabolismo da glicose pode ser mediada por uma bactéria específica, a *Akkermansia muciniphila* (GREER et al., 2016). A *A. muciniphila* é uma bactéria mucolítica muito abundante no microbioma intestinal de indivíduos saudáveis. Uma baixa concentração no intestino poderia indicar uma camada de muco fina, com consequente enfraquecimento da barreira intestinal (BELZER; DE VOS, 2012). Experimentos com camundongos deficientes de INF- γ indicaram que essa citocina parece regular a abundância de *A. muciniphila*, isso porque, o restabelecimento das concentrações deste biomarcador foi acompanhado de diminuição da abundância de *A. muciniphila* e de comprometimento da homeostase da glicose. Apesar do mecanismo não estar esclarecido, parece envolver o gene *Irgm1* – regulador do IFN- γ no intestino – que

interferiria na abundância de *A. muciniphila*. Em voluntários estratificados segundo os níveis de tolerância à glicose, os normo-tolerantes apresentaram maior abundância de *A. muciniphila* do que os indivíduos pré-diabéticos e diabéticos, o que poderia sugerir papel chave desta bactéria para melhora da tolerância à glicose (GREER et al., 2016).

Estudos de estratos populacionais têm reforçado evidências da associação de certos hábitos alimentares tanto com a abundância de bactérias intestinais e/ou enterótipos, quanto com biomarcadores de mecanismos de doenças cardiometabólicas (MORAES et al., 2017a; MORAES et al., 2017b).

Um exemplo bem descrito destas relações são o envolvimento do microbioma intestinal no desenvolvimento da aterosclerose. A aterosclerose é uma doença tradicionalmente associada a um perfil alimentar rico em carnes e gorduras saturadas. Apesar da aterosclerose ter na sua gênese uma marcada deposição de lipídios nas paredes arteriais, ela é uma doença inflamatória, onde macrófagos alterados, chamados células espumosas, são depositados juntamente com ésteres de colesterol, eventualmente alterando física- e fisiologicamente as artérias. Ainda que a patogênese estivesse bem descrita, várias questões não podiam ser explicadas quanto ao desenvolvimento da doença sob a ótica somente da dieta dos indivíduos. Em estudos iniciais de associação o óxido de trimetilamina (*Trimethylamine-N-Oxide* – TMAO) era encontrado em níveis elevados em pessoas com maior risco de desenvolvimento da doença. Estudos epidemiológicos prospectivos demonstram que pessoas com os níveis mais elevados de TMAO no começo do estudo foram as que mais desenvolveram doenças cardiovasculares, incluindo a aterosclerose. O TMAO é um metabólito produzido no fígado para retirar da circulação o composto trimetilamina (TMA), que tem sua origem no metabolismo bacteriano intestinal. Diversos compostos originários da dieta humana são convertidos em TMA durante sua degradação pela microbiota intestinal humana, incluindo colina e carnitina, compostos bastante abundantes em dietas ricas em proteínas e gorduras animais. Usando uma série de experimentos em modelos animais, foi demonstrado que o TMAO é um composto extremamente aterogênico. Este composto induz a produção de células espumosas e modifica a absorção de colesterol pelos enterócitos, alterando a reciclagem e o *pool* de ácidos biliares no organismo humano (WANG et al., 2011; TANG et al., 2013; KOETH et al., 2013).

Com base nestes resultados, um grupo de pesquisadores na França (BRUGÈRE et al., 2014) sugeriu de forma inovadora a utilização de um microrganismo específico - a arquea - para diminuição do risco e possivelmente como método de tratamento adjuvante para a aterosclerose. Arqueas são o terceiro domínio da vida, paralelo aos procaríotos (bactérias) e eucaríotos (fungos e protozoários). Arqueas produtoras de metano estão naturalmente presente em pelo menos 30% da população mundial. A estirpe estudada pelo grupo francês foi isolada do microbioma intestinal de um indivíduo saudável e tem a habilidade de converter trimetilamina em metano. Desta forma, o consumo deste arqueobiótico, como foi chamada esta estirpe arqueana, consumiria a TMA produzida normalmente pelo metabolismo bacteriano intestinal, convertendo-a

em metano que seria expelido pelo organismo humano. Esta proposta indica as direções gerais no desenvolvimento de novos probióticos – estirpes altamente especializadas que atuem em reações específicas do metabolismo, e em doenças e condições distintas.

Estudo que avaliou a microbiota intestinal de indivíduos com diferentes hábitos alimentares (vegetariano estrito, ovo-lacto-vegetariano e onívoro) e sua relação com estado inflamatório e resistência à insulina, demonstrou que o tipo de alimentação está associado ao perfil de risco cardiometabólico distinto. Os onívoros, com dieta rica em gorduras e proteínas animais, apresentaram aumento de bactérias envolvidas em mecanismos fisiopatológicos das doenças cardiometabólicas, como as das classes *Gammaproteobacteria* e *Bacilli*. Neste grupo, houve características de endotoxemia metabólica, estado pró-inflamatório e de resistência à insulina, o que poderia, no longo prazo, favorecer o desenvolvimento de intolerância à glicose, hipertensão arterial e dislipidemia, predispondo à aterosclerose. Isto sugere que, pelo menos em parte, tais efeitos poderiam ser mediados pela microbiota intestinal. A identificação de maior abundância de bactérias produtoras de butirato (por exemplo, os gêneros *Roseburia* e *Faecalibacterium*) nos vegetarianos, associada à menor adiposidade corporal e melhores parâmetros metabólicos, é compatível com ações moduladoras sobre incretinas e reguladoras da motilidade intestinal (MORAES et al., 2017b).

Hábitos alimentares interferem na composição da microbiota e componentes dessa microbiota estão associados à biomarcadores de DCNTs, dessa forma a ingestão de nutrientes de forma equilibrada deve ser uma meta a ser alcançada a fim de reduzir o risco de processos inflamatórios e do desenvolvimento de DCNTs.

6. APLICAÇÃO DE PROBIÓTICOS NO TRATO GASTRINTESTINAL

Flávio A. Quilici, Eliana B. Giuntini

A microbiota humana apresenta grande diversidade de filos, gêneros e espécies, o que dificulta o entendimento dos benefícios dos probióticos; ainda assim dados obtidos em estudos com modelos animais revelam perspectivas animadoras quanto ao uso dos probióticos em distúrbios intestinais funcionais e inflamatórios, condições imuno/alérgicas sistêmicas, síndrome metabólica, entre outros. Além disto, diversos estudos clínicos, revisões sistemáticas e estudos de metanálises vêm sendo realizados com probióticos a fim de avaliar a eficiência dessas diferentes cepas de microrganismos quando utilizados por pacientes portadores de várias enfermidades.

Diarreias

Há diversas possibilidades de uso terapêutico de probióticos no recém-nascido e lactente, uma vez que a modificação da microbiota pode ser utilizada na prevenção e no controle da diarreia infantil. As cepas mais comumente utilizadas são *Lactobacillus casei* e *L. reuteri*. Na diarreia por rotavírus, os *B. lactis* ou *L. reuteri* ocasionaram diminuição no volume e duração da diarreia. Essas mesmas cepas também apresentaram efeito benéfico em crianças com diarreia por uso de antibióticos, com redução no risco relativo de 28,5% para 11,9% em episódios diarreicos (THOMAS et al., 2010).

Em estudo de revisão sobre diarreia infecciosa aguda (< 14 dias) as bactérias mais utilizadas como probióticos foram *L. casei* cepa GG (13 estudos), *S. boulardii* (10 estudos) e *Enterococcus* (LAB) SF68 (5 estudos), de forma isolada ou em combinação, e apresentaram redução tanto da duração quanto da severidade da diarreia, sem a observação de efeitos adversos (ALLEN et al., 2010). De acordo com as diretrizes do *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines* (WGO, 2012), as cepas *L. reuteri* ATCC 55730, *L. rhamnosus* GG, *L. casei* DN-114 001 e *Saccharomyces boulardii* podem reduzir em aproximadamente um dia a duração da doença diarreica aguda em crianças.

A ingestão diária de probióticos também pode reduzir a diarreia associada a antibióticos, como observado em estudo com fórmula comercial contendo *Bifidobacterium lactis* e *Streptococcus thermophilus* (CORREA et al., 2005). Um estudo de revisão concluiu que há efeito protetor dos *Lactobacillus rhamnosus* e *Saccharomyces boulardii*, porém a dosagem parece ser mais importante que a cepa de microrganismos escolhida, mas essa dose ainda não foi estabelecida (HAYES; VARGAS, 2016). Foi observado também que os probióticos podem contribuir com a redução de diarreia induzida por radiote-

rapia, com redução da intensidade e do número de evacuações. Os autores concluíram que os lactobacilos probióticos são uma alternativa fácil, barata, segura e viável para minimizar os riscos de diarreia induzida por radiação (DELIA et al., 2007).

Constipação intestinal

Com uma metanálise foi possível concluir que probióticos melhoram o tempo de trânsito intestinal, frequência de evacuação e consistência das fezes em portadores de constipação funcional (DIMIDI et al., 2014). Logurtes com cepa de *Bifidobacterium lactis* foram consumidos 2 vezes/dia, por 14 dias, por mulheres japoneses com trânsito intestinal mais lento e promoveram aumento de frequência de evacuação, além de redução significativa do tempo de trânsito intestinal, em relação ao período anterior ao consumo e também em relação ao grupo placebo (NISHIDA; ISHIKAWA; IINO, 2008).

Um estudo multicêntrico concluiu que o *L. reuteri* pode levar a uma diminuição significativa dos episódios de cólica e aumento no número de evacuações dos lactentes, diminuindo a constipação intestinal. Sintomas do aparelho digestório como cólicas, constipação intestinal e regurgitação são motivo comum de ansiedade dos pais, que geram demasiadas consultas ao pediatra. Com frequência, utilizam-se medicamentos e/ou troca das fórmulas infantis, o que gera aumento de custos para as famílias. O uso de probióticos pode oferecer bom custo-benefício no tratamento desses sintomas e reforça a possibilidade da administração de probióticos isolados ou adicionados às fórmulas infantis (INDRIO et al., 2014).

A doença de Parkinson é uma doença degenerativa, com perda de neurônios contendo neuromelanina dopaminérgica, em região específica do cérebro. Esses pacientes têm aumento da permeabilidade intestinal e sofrem com desconforto intestinal, sendo que cerca de 50% relata constipação. O consumo de leite fermentado adicionado de cepas probióticas combinadas e fibra prebiótica por 4 semanas aumentou o número de evacuações diárias completas, o número de relatos de mais de 3/dia e de uma ou mais evacuações durante as semanas 3 e 4 (BARRICHELLA et al., 2016).

Síndrome do Intestino Irritável (SII)

Em portadores de SII foram encontradas associações entre a composição da microbiota e fenótipos clínicos ou fisiológicos, o que incluiu alterações do trânsito intestinal e gravidade da doença. Um subgrupo de pacientes apresentou composição da microbiota similar ao de controles saudáveis, porém outro subgrupo apresentou grandes alterações de microbiota, caracterizadas por um aumento de taxa de Firmicutes e depleção de *Bacteroidetes* (JEFFERY et al., 2012). Pesquisadores que realizaram metanálise com 20 estudos com 23 tipos de tratamento, concluíram que o uso de probióticos pode melhorar os sintomas da SII, uma vez que a melhoria dos sintomas ou redução nos escores de gravidade foi relatada em 75% dos estudos, incluindo efeitos sobre a dor abdominal (McFARLAND; DUBLIN, 2008). Em estudo de revisão sistemática a partir de

10 estudos, com 918 pacientes, os autores demonstraram que apesar dos probióticos serem eficazes no tratamento da SII, não é possível indicar quais as cepas são mais efetivas, nem estimar a magnitude do benefício proporcionado (MOAYYEDI et al., 2010).

Doença inflamatória intestinal (DII)

A DII é uma doença crônica que envolve o desequilíbrio da interação microbiota-hospedeiro, com redução da biodiversidade, sendo cerca de 30% de espécies incomuns (DAMASKOS; KOLIOS, 2008). A DII altera o sistema imune inato reduzindo a imunidade de defesa das células da mucosa intestinal contra a microbiota patogênica, a tolerância imune entre a microbiota comensal e patogênica, e o equilíbrio da imunidade entre defesa e tolerância (ABRAHAM; MEDZHITOV, 2011).

Em estudos com modelo animal a disbiose foi associada à inflamação intestinal, o que pode sugerir que também possa provocar a doença inflamatória intestinal (DII) em humanos (ABRAHAM; MEDZHITOV, 2011). Pacientes com DII apresentam também redução da aderência da microbiota à mucosa intestinal; nesses pacientes a *E. Coli* enteroinvasiva, um microrganismo altamente pró-inflamatório, está presente em maior proporção do que em indivíduos normais. Paralelamente há redução da *Faecalibacterium prausnitzii* (filó Firmicutes) que apresenta importante ação anti-inflamatória (JOOSSENS et al., 2011).

O restabelecimento do equilíbrio da microbiota gastrintestinal pode reduzir a inflamação intestinal, o que já foi observado efetivamente em modelo animal com o uso de probióticos. O uso de probióticos em pacientes com DII pode tornar a microbiota menos antigênica, estimular a imunorregulação e assim reduzir a inflamação (GEIER et al., 2007).

Bolsite

Bolsite é um processo inflamatório da bolsa ileal, que pode ocorrer após tratamento cirúrgico da retocolite ulcerativa. Estudo com pacientes tratados com antibióticos ou probióticos apresentou redução dos marcadores de processo inflamatório interleucina 1 (IL-1), fator de necrose tumoral (TNF), interferon (IFN), os quais devem ter sido responsáveis pela redução da atividade do óxido nítrico sintetase (iNOS) e metaloproteinases (MMP) observadas nos dois grupos teste em relação ao controle. Paralelamente houve significativo aumento da IL-10 – fator que deprime a resposta imunológica, inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias – não só em relação ao grupo controle mas também ao grupo antibiótico (ULISSE et al., 2001). A avaliação de 4 estudos no tratamento de bolsite aguda indicou que o uso de um probiótico comercial contendo oito espécies de bactérias* foi mais efetivo que o placebo na manutenção após a remissão da bolsite crônica tratada com antibióticos, e também pode ser mais efetivo na prevenção desse processo inflamatório. Essas observações indicam que este probiótico poderia ser indicado na terapia de bolsite crônica e

aguda, o que não foi observado com *Lactobacillus GG* e *Bifidobacterium longum*. Assim há necessidade de mais estudos com desenho experimental adequado para determinar qual a melhor indicação no tratamento e prevenção da bolsite (SINGH et al., 2015).

Helicobacter pylori

A infecção por *Helicobacter pylori* é considerada a causa primária de úlcera do duodeno e fator chave para desenvolvimento de câncer gástrico, por isso busca-se a erradicação dessa infecção a fim de evitar complicações. Os probióticos têm sido sugeridos como suplemento aliado ao tratamento convencional (terapia tripla – 2 antibióticos + bomba inibidora de prótons – que inibe a produção de ácido clorídrico no estômago) para controlar essa infecção e também para minimizar efeitos colaterais. Autores de metanálise com 14 estudos concluíram que os probióticos podem contribuir com a erradicação do *H. pylori*, bem como sobre a diarreia, um dos efeitos colaterais (LI et al., 2014). Metanálise com 19 ensaios clínicos e 20 tipos de tratamento, avaliando 6 misturas de probióticos, destacou que 4 probióticos multi-cepas elevaram a taxa de erradicação do *H. pylori*, 5 evitaram efeitos adversos do tratamento e 3 reduziram a diarreia associada a antibiótico. Duas misturas de probióticos (*Lactobacillus acidophilus/Bifidobacterium animalis* e uma mistura com 8 cepas) foram eficazes nos três aspectos. Os autores concluíram que embora muitas misturas possam apresentar benefícios, nem todas são efetivas (McFARLAND et al., 2016).

A microbiota faz parte da fisiologia humana e é necessário entender a relação intestino-microbiota para identificar os mecanismos que podem ser manipulados de forma terapêutica. Apesar da dificuldade em selecionar probióticos que melhorem o equilíbrio da microbiota, em função da sua própria diversidade, hábitos alimentares e antecedentes genéticos, há estudos evidenciando que é possível promover a eubiose, e melhorar várias condições de saúde, associados ou não ao uso de antibióticos (NEISH, 2009).

* *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

7. PROBIÓTICOS NO BRASIL E NO MUNDO: PERSPECTIVAS E ASPECTOS REGULATÓRIOS

Arthur Ouwehand; Daniela Tomei; Antonio Marcos Pupin

O desenvolvimento de produtos probióticos e sua comercialização podem ser estimulados pela convergência dos objetivos dos principais agentes interessados no campo de probióticos (HILL et al., 2014): os cientistas querem gerar ciência de alta qualidade e que tenha impacto positivo para a sociedade; a indústria quer desenvolver produtos de alta qualidade, rentáveis, com alegações validadas e compreendidas pelos consumidores; as agências regulatórias querem proteger os consumidores de informações incorretas; e os consumidores querem informações confiáveis para poder tomar decisões conscientes. Sendo assim, todos os principais agentes devem trabalhar juntos, cumprindo com as obrigações características de suas alçadas, para que a sociedade possa se beneficiar dos avanços científicos no campo de probióticos (HILL et al., 2014). Entretanto ainda há uma grande separação entre os diversos campos envolvidos. Um exemplo é a variabilidade de regulamentação para um mesmo probiótico ou alegação funcional ao redor do mundo. Aqui será apresentado de maneira resumida, o panorama mundial e brasileiro relacionado ao desenvolvimento e regulamentação do consumo de probióticos.

Probióticos: perspectivas e desafios

Arthur Ouwehand

Os probióticos estão consolidados no mercado em algumas categorias de produtos, principalmente no segmento de leites fermentados e suplementos dietéticos. Entretanto, os consumidores ainda não incorporaram a ideia de que alimentos como queijos, sucos, barras de cereais, entre outros, podem ser veículos para probióticos. Contudo há tecnologia desenvolvida disponível para incluir probióticos nestes produtos de maneira eficiente (OUWEHAND; RÖYTIÖ, 2015; SALMINEN; KNEIFEL; OUWEHAND, 2017).

Como a inclusão de probióticos em produtos tem o objetivo de melhorar e manter a saúde, é esperado que as autoridades fiscalizem criticamente as alegações de saúde que são feitas nestes produtos. Entretanto, não está claro, nem para as autoridades, e nem para os fabricantes de probióticos, o que é necessário ou suficiente para permitir

uma alegação de saúde. O diálogo entre as autoridades, fabricantes e pesquisadores acadêmicos pode trazer grande contribuição para esta área (BRÖRING; KHEDKAR; CILIBERTI, 2017).

Apesar desses desafios, há oportunidades substanciais para os probióticos. Além do aspecto relativo à manutenção da saúde, os objetivos farmacêuticos também podem ser considerados: tratamentos, prevenção e mitigação de doenças. Obviamente, o caminho farmacêutico requer estudos e relatórios mais rigorosos (ADAMS; MORRISON, 2016) e o custo-benefício do uso de probióticos pode ser muito mais relevante; normalmente também é avaliado se os probióticos são mais efetivos e apresentam maior custo-efetividade que outros tratamentos (OUWEHAND, 2017)

O progresso nos estudos de microbiota intestinal trouxeram um melhor entendimento do papel desse microbioma na saúde, na doença e no seu desenvolvimento. Este entendimento possibilita o desenvolvimento de novos probióticos, gêneros e espécies diferentes dos usuais e com um potencial de saúde diverso (ADAMS; MORRISON, 2016). Obviamente, estes novos microrganismos ainda não teriam um histórico de uso seguro e podem apresentar desafios na sua manufatura, mas o retorno financeiro pode valer o investimento.

Panorama Regulatório no Brasil e no Mundo

Antonio Marcos Pupin, Daniela Tomei, Fabiana A. Hoffmann Sardá

O registro de produtos, no Brasil, é caracterizado por uma trajetória marcada pela simplificação dos requerimentos. Até o ano 2000 o registro de produtos era obrigatório para todas as categorias de alimentos; depois disso, 45 das 72 categorias de alimentos não precisavam de registro, e a partir de 2010 somente 6 categorias requerem registro: alimentos para crianças, embalagens (recicláveis), fórmulas enterais, alimentos funcionais, alimentos novos, substâncias bioativas e probióticos isolados (BRASIL, 1999a; BRASIL 1999b, BRASIL, 2010).

No Brasil, o Regulamento Técnico (RT) aplicável aos probióticos isolados é estabelecido pela RDC 02/2002, e define probióticos como: "microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo". Além desse RT, o RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial de Produtos de Origem Animal - também traz definições para produtos adicionados de culturas microbianas, probióticas ou não. As alegações de propriedades funcionais para probióticos no Brasil, até 2015, era única para todos os tipos de microrganismos: "O probiótico contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma

dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis". Em 2016 começaram a ser solicitados novos requerimentos, em que foi facultado às empresas propor a alegação de propriedade funcional ou de saúde, com base na resolução 18/1999 sobre "Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos" (BRASIL, 1999a; BRASIL, 2002; BRASIL, 2016).

A questão dos níveis de evidências científicas é permeada pela necessidade de defender o consumidor de alegações que possam ser confusas ou até mesmo enganosas. No Japão os FOSHU (*Food for Specific Health Use*), onde se enquadram os probióticos, trazem em seu rótulo um símbolo ostensivo que informa ao consumidor, de forma rápida e eficiente, o nível de evidência científica que subsidia o *claim* e a eficácia dos produtos avaliados pela agência de saúde e pela CAA (*Consumers Affairs Agency*). Os alimentos cujo *claim* não possui validação do governo não podem apresentar o símbolo (USDA, 2014).

No Canadá, a agência regulatória *Health Canada* adota uma Monografia sobre Probióticos para uso em suplementos na qual estabelece, dentre outros fatores, critérios para avaliação de segurança, muito similar aos da *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO). Ainda, a mesma monografia traz uma lista de espécies para as quais se reconhece um benefício geral e comum com a possibilidade de uso das seguintes alegações: "Fonte de probióticos"; "Contribui para a saúde gastrointestinal/intestinal"; "Pode promover uma flora intestinal saudável". Quando houver interesse em usar uma alegação diferente, deve ser comprovada a eficácia da cepa de interesse. Algumas alegações cepa-específicas encontram-se mencionadas na monografia. Quanto ao uso de probióticos em alimentos, de forma geral é autorizado, e segue as regras do *Guidance Document - The use of Probiotics Microorganisms in Food* publicado pela agência Health Canada (2009), que também adota a lista de espécies para as quais são reconhecidos benefícios comuns (HEALTH CANADA, 2009; HEALTH CANADA, 2016).

Na Europa, os probióticos podem ser usados na composição de suplementos e alimentos desde que sua segurança seja comprovada. Aos microrganismos pertencentes às espécies presentes na lista *Quality Presumption of Safety* é exigido apenas a avaliação de resistência a antibióticos. Nos demais casos, aplica-se a totalidade das evidências estabelecidas pela *Regulation* (EU) 2015/2283. O uso de alegações funcionais e/ou de saúde relacionadas ao consumo de probióticos só pode ser realizada se houver validação da *European Food Safety Authority* (EFSA) e até o presente momento não houve nenhuma alegação reconhecida pela EFSA. Assim, no mercado europeu os probióticos são comercializados como ingredientes comuns e no rótulo não há vinculação a quaisquer benefícios (EFSA, 2016).

Atualmente, as regras estabelecidas no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para comprovação de segurança e eficácia dos produtos probióticos é baseada nos *Guidelines* FAO/WHO de 2002 (FAO/WHO, 2002) que indicam parâ-

metros mínimos para serem avaliados em cepas probióticas, e exigem a avaliação de estudos clínicos para comprovação da eficácia. Os parâmetros mínimos de avaliação englobam:

1. Identificação da cepa (fenotipicamente e geneticamente);
2. Informação sobre o depósito da cepa em banco de cultura internacionalmente reconhecido;
3. Comprovação da segurança por meio de estudos in vitro/animal, humanos fase I;
4. Avaliação de atividade metabólica;
5. Atividade hemolítica para espécies com potencial hemolítico;
6. Avaliação de resistência a antibióticos através de testes de resistência à antibióticos;
7. Avaliação de atividade metabólica;
8. Efeitos colaterais durante estudos em humanos;
9. Comprovação da eficácia por meio de estudos clínicos randomizados, duplo-cego e placebo controlados (BRASIL, 2013; BRASIL, 2016).

Ao comparar algumas alegações reconhecidas pela *Health Canada* para determinadas cepas com as opiniões científicas da EFSA acerca dessas mesmas alegações e cepas, percebe-se que não há compatibilidade entre os níveis de evidências exigidos para comprovação de eficácia, pois o mesmo material científico pode ser considerado suficiente pela agência canadense, mas fraco para a autoridade europeia ou brasileira. Ainda há espaço para mais fóruns de discussão sobre as medidas e recursos que podem ser empregados para diminuir estas divergências. Assim, tanto a indústria como agências reguladoras chegariam a uma base mais uniforme e que garanta benefícios e segurança aos consumidores.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Christian Hoffmann, Eliana B. Giuntini, Fabiana A. Hoffmann Sardá

O corpo humano é habitado por aproximadamente 10 vezes mais bactérias do que o número de células humanas no corpo. Os microrganismos começam a colonizar a microbiota intestinal desde o início da vida e são afetados pelo tipo de parto, tipo de aleitamento, ambiente neonatal, uso de medicamentos e diversos outros fatores ambientais.

O microbioma intestinal humano interage em inúmeras partes do metabolismo humano, e essa influência atua desde o balanço energético até o humor, sendo mantida como uma relação simbiótica. Quebras desta relação, chamada disbiose, estão cada vez mais relacionadas doenças humanas, tais como síndrome metabólica, aterosclerose, problemas gastrointestinais e neurológicas; entretanto, ainda há dúvidas se a disbiose é a causa ou consequência destas doenças.

Existem diversos desafios quanto ao estudo do microbioma humano, incluindo a determinação de efeitos do uso de probióticos. Um deles é a alta variabilidade interindividual observada no microbioma intestinal humano. Além disso, mecanismos de ação de probióticos podem ser diretos, atuando por interação com o sistema imune, por exemplo, ou indiretos, estimulando partes da microbiota endógena, a qual atua no metabolismo humano.

A eficácia do uso de alguns probióticos tem sido demonstrada com sucesso em estudos com modelos animais e existem também alguns estudos controlados demonstrando efeitos em ensaios clínicos relacionados à obesidade, doenças intestinais diversas, infecção por *H. Pylori*, ansiedade, depressão, e outros. Ainda assim, estes efeitos não são necessariamente reproduzíveis em todas as pessoas, o que dificulta saber quais cepas podem ser indicadas de maneira global, e qual dosagem é a mais apropriada para cada uso. Em última instância, estas informações se refletem na legislação, o que acarreta as atuais divergências e dificuldades na aprovação de alegações.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRAHAM, C.; MEDZHITOV, R. Interactions between the host innate immune system and microbes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol*, v., 140, n. 6, p. 1729-37, 2011
2. ABREU, M.T. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat Rev Immunol*, v. 10, n. 2, p. 131-44, 2010.
3. ADAMS, L. A.; MORRISON, M. The microbiome in obesity, diabetes, and NAFLD: What is your gut telling us? *Curr Hepatol Rep*, v. 15, n. 2, p. 96-102, 1 jun. 2016.
4. ADLERBERTH, I.; WOLD, A. E. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr*, v. 98, n. 2, p. 229-38, 2009.
5. ALFALEH, K.; ANABREES, J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Evid Based Child Health*, v.9. n. 3, p.584-671, 2014.
6. ALLEN, S. J. et al. Probiotics for treating acute infectious diarrhea. *Cochrane Db Syst Rev*. v. 11: Art. No CD0030482010.
7. ANDRADE-OLIVEIRA, V. et al., Gut bacteria products prevent aki induced by ischemia-reperfusion. *J Am Soc Nephrol*, v. 26, n. 8, p. 1877-88, 2015.
8. ARUMUGAM, M. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, v. 473, n. 7346, p.174-80, 2011.
9. AUJOULAT, F. et al. Temporal dynamics of the very premature infant gut dominant microbiota. *BMC Microbiology*, v. 14, p.325, 2014.
10. AVETISYAN, M.; SCHILL, E. M.; HEUCKEROTH, R. O. Building a second brain in the bowel. *J Clin Invest*, v. 125, n. 3, p. 899-907, 2015
11. BAMIAS, G. et al. Down-regulation of intestinal lymphocyte activation and Th1 cytokine production by antibiotic therapy in a murine model of Crohn's disease. *J Immunol*, v. 169, n. 9, p. 5308-14, 2002.
12. BARRICHELLA et al. Probiotics and prebiotic fiber for constipation associated with Parkinson disease. *Neurology*, v. 20, n. 87, p. 1274-80, 2016.
13. BELZER, C.; DE VOS, W. M. Microbes inside - from diversity to function: the case of Akkermansia. *ISME J*, v. 6, n. 8, p.1449-58. 2012.

14. BRAEGGER, C. et al. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: A systematic review and comment by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, v. 52, p. 238-50, 2011.
15. BRANDT, K. et al. Establishment of the bacterial fecal community during the first month of life in Brazilian newborns. *Clinics*, v. 67, p. 113-23, 2012.
16. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. 22/12/2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>
17. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. RDC N 27 de 06/08/2010. Brasília, DF, 2010.
18. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Res. N 18 de 30/04/1999. Brasília, DF, 1999a.
19. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia para Comprovação da Segurança e Alimentos e Ingredientes. Fev, 2013. Brasília, DF, 2013.
20. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Res. N 19 de 30/04/1999. Brasília, DF, 1999b.
21. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento técnico de Substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde. Res. N 2 de 07/01/2002. Brasília, DF, 2002.
22. BRESTOFF, J. R.; ARTIS, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nat Immunol*, v. 14, n. 7, p. 676-84. 2013.
23. BRÖRING, S.; KHEDKAR, S.; CILIBERTI, S. Reviewing the Nutrition and Health Claims Regulation (EC) No. 1924/2006: What do we know about its challenges and potential impact on innovation? *Int J Food Sci Nutr*, v. 68, n. 1, p. 1-9, 2017.
24. BRUGÈRE, J-F. et al. Archaeobiotics: Proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease. *Gut Microbes*, v. 5, n. 1, p. 5-10, 2014.
25. CANI, P. D. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, v. 56, p.1761-72, 2007.

26. CANI, P. D. et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am J Clin Nutr*, v. 90, p. 236-43, 2009.
27. CARICILLI, A. M.; SAAD, M. J. The role of gut microbiota on insulin resistance. *Nutrients*, v. 5, n. 3, p. 829-51, 2013.
28. CAVAGLIERI, C.R. et al., Differential effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro- and anti-inflammatory cytokines by cultured lymphocytes. *Life Sci*, v. 73, n. 13, p. 1683-90, 2003.
29. CHEN, J. et al. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep*, v. 6, Art No: 28484, 2016.
30. CLARKE, G. et al. Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Mol Endocrinol*, v. 28, n. 8, p.1221-38, 2014.
31. CORREA, N. B. et al. A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol*, v. 39, p. 385-9, 2005.
32. CUELLO-GARCIA, C. A. et al. Probiotics for the prevention of allergy: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Allergy Clin Immunol*, v. 136, n. 4 p. 952-62, 2015.
33. DAMASKOS, D.; KOLIOS, G. Probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: microflora 'on the scope'. *Brit J Clin Pharmacol*, v. 65, p. 453-67, 2008.
34. De FILIPPO, C. et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA.*, v. 107, n. 33, p. 14691-6, 2010.
35. DELIA, P. et al. Use of probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea *World J Gastroenterol*, v.13, n. 6, p. 912-5, 2007.
36. DENOU, E. et al. The intestinal microbiota determines mouse behavior and brain BDNF levels. *Gastroenterol*, v. 140, n. 5, p. S-57, 2011.
37. DERRIEN, M.; VAN HYLCKAMA Vlieg, J. E. T. Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends Microbiol*, v. 23, n. 6, p. 354-66, 2015.
38. DESHPANDE, G. et al. Updated meta-analysis of Probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics*, v. 125, p. 221-30, 2010.

39. DIMIDI, E. et al. The effect of probiotics on functional constipation in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*, v. 100, n. 4, p. 1075-84, 2014.
40. DINAN T. G.; CRYAN J. F. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? *Neurogastroenterol Motil*, v. 25, p. 713-9, 2013.
41. DINAN, T.G. et al. Collective unconscious: How gut microbes shape human behavior. *J Psychiat Res*, v. 63, p. 1-9, 2015.
42. DOMINGUEZ-BELLO, M.G., et al., Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 107, n. 26, p. 11971-5, 2010.
43. EFSA. Guidance on the preparation and presentation of an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, v. 14, n. 11, p. 4594-24 p. 2016.
44. ELAHI, S. et al. Immunosuppressive CD71 +erythroid cells compromise neonatal host defence against infection. *Nature*, v. 504, p. 158-62, 2013.
45. FALLANI, M. A. S. et al. Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology*, v. 157, p. 1385-92, 2011.
46. FALONY, G. et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*, v. 352, n. 6285, p. 560-4, 2016.
47. FAO/WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint
48. FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, April 30 - May 1, 2002.
49. FERNANDEZ L, LANGA S, MARTIN V, MALDONADO A, JIMENEZ E, MARTIN R, RODRIGUEZ JM. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res*, v. 69, n. 1, p. 1-10, 2013.
50. FINUCANE, M. M. et al. A taxonomic signature of obesity in the microbiome? Getting to the guts of the matter. *PLoS One*, v. 9, n. 1, Art.No e84689, 2014.
51. FOSTER, J. A.; NEUFELD, K. A. M. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci*, v. 36, n 5, p. 305-12, 2013.

52. FUKUMOTO, S. et al. Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats. *Am J Physiol-Reg I*; v. 284, n.5, p. R1269-76, 2003.
53. FUNKHOUSER, L. J.; BORDENSTEIN, S. R. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. *PLoS Biol*, v.11, p. e1001631, 2013.
54. GEIER, M. S.; BUTLER, R.N.; HOWARTH, G. S. Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics. *Internat J Food Microbiol*, v. 115, p. 1-11, 2007.
55. GEREMIA, A. et al. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev*, v. 13, n. 1, p. 3-10, 2014.
56. GHOSHAL, S. et al. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J Lipid Res*, v. 50, p. 90-7, 2009.
57. GOMES, A. C, et al. The additional effects of a probiotic mix on abdominal adiposity and antioxidant status: a double-blind, randomized trial. *Obesity*. v. 25, n. 1, p. 30-8, 2017.
58. GORDON, S. M., et al., The transcription factors T-bet and Eomes control key checkpoints of natural killer cell maturation. *Immunity*, v. 36, n. 1, p. 55-67, 2012.
59. GREER, R. L. et al. *Akkermansia muciniphila* mediates negative effects of IFN- γ on glucose metabolism. *Nature Comm*, v. 7, Art No 13329, 2016.
60. GRITZ, E. C.; BANDHARI, V. The human neonatal gut microbiome: a brief review. *Frontiers in Pediatrics*, v. 3, Art No 17, 2015.
61. HARACH, T. et al. Reduction of A β amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. *Sci Rep*, v. 6. Art No 41802, 2017.
62. HARMSSEN, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, v 30, n.1, p 61-7, 2000.
63. HAYES, S. R.; VARGAS, A. J. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Explore-NY*, v. 12, n. 6, p. 463-6, 2016.
64. HEALTH CANADA. Food Directorate, Health products and food branch. Guidance Document - The use of probiotic microorganisms in food. Abril, 2009. Disponível em: http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/guide-ld/probiotics_guidance-orientation_probiotiques-eng.php

65. HEALTH CANADA. Natural and non-prescription health products directorate (NNHPD). Natural Health Products Ingredients Database. 2016. Disponível em: <http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodnatur/applications/online-enligne/nhpid-bipsn-eng.php>
66. HILL, C. et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastro Hepat*, v. 11, n. 8, p. 506-14, 2014.
67. HILL, C. J. et al. Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome*, v. 5, n. 1, Art 4. 2017.
68. HOLLISTER, E. B.; GAO, C.; VERSALOVIC, J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterol*, v. 146, p. 1449-58, 2014.
69. HOLTUG, K.; RASMUSSEN, H. S.; MORTENSEN, P.B. An in vitro study of short-chain fatty acid concentrations, production and absorption in pig (*Sus scrofa*) colon. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol*, v. 103, n. 1, p. 189-97, 1992.
70. HOOPER, L.V., et al., Host-microbial symbiosis in the mammalian intestine: exploring an internal ecosystem. *Bioessays*, v. 20, n. 4, p. 336-43. 1998.
71. HOUGHTLING, P. D.; WALKER, W. A. Why is initial bacterial colonization of the intestine important to infants' and children's health?" *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, v. 60, n. 3, p. 294-307, 2015.
72. INDRIO, F.; et al. Prophylactic use of a probiotic in the prevention of colic, regurgitation, and functional constipation: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*, v. 168, n. 3, p. 228-33, 2014.
73. JACOBS, S. E. et al. Probiotic effects on late-onset sepsis in very preterm infants: a randomized controlled trial. *Pediatrics*, v. 132, p. 1055-62, 2013.
74. JAKOBSSON, H. E. et al. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS ONE*, v. 5, n. 3, Art No e9836, 2010.
75. JANVIER, A.; MALO, J.; BARRINGTON, K. J. Cohort study of probiotics in a North American neonatal intensive care unit. *J Pediatr*, v. 164, p. 980-5, 2014.
76. JEFFERY, I. B. et al. An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota. *Gut*, v. 61, n. 7, p.997-1006, 2012.

77. JOOSSENS, M. et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut*, v. 60, n. 5, p. 631-7, 2011.
78. KARCZEWSKI, J. et al. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Liver Physiol*, v. 298, p. G851-9, 2010.
79. KAUR, I. P., et al. Probiotics: delineation of prophylactic and therapeutic benefits. *J Med Food*, v. 12, n. 2, p. 219-35, 2009.
80. KELLY, D.; DELDAY, M.I.; MULDER, I. Microbes and microbial effector molecules in treatment of inflammatory disorders. *Immunol Rev*, v. 245, n. 1, p. 27-44, 2012.
81. KENNEDY, R. J.; KIRK, S. J.; GARDINER, K. R. Promotion of a favorable gut flora in inflammatory bowel disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, v. 24, n. 3, p. 189-95, 2000.
82. KOETH, R. et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*, v. 19, n. 5, p. 576-85, 2013.
83. KÖNIG, J. et al. Human Intestinal Barrier Function in Health and Disease. *Clin Transl Gastroenterol*. v. 7, n. 10, Art No e196. 2016.
84. KOVATCHEVA-DATCHARY, P.; ARORA, T. Nutrition, the gut microbiome and the metabolic syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, v. 27, n. 1, p. 59-72, 2013.
85. KUFER, T. A.; SANSONETTI, P. J. Sensing of bacteria: NOD a lonely job. *Curr Opin Microbiol*, v. 10, n. 1, p. 62-9, 2007.
86. LANGDON, A.; CROOK, N.; DANTAS, G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med*, v.8, Art No 39, 2016.
87. LAPARRA, J. M.; SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharmacol Res*, v. 61, n. 3, p. 219-225, 2010.
88. LARSEN, N. et al. Effect of *Lactobacillus salivarius* Ls-33 on fecal microbiota in obese adolescents. *Clin Nutr*, v. 32, p. 935-40, 2013.
89. LAU, C. S. M.; CHAMBERLAIN, R. S. Probiotic administration can prevent necrotizing enterocolitis in preterm infants: A meta-analysis. *J Pediatr Surg*, v. 50, n. 8, p.1405-12, 2015.

90. LEE, S. J. et al. The effects of co-administration of probiotics with herbal medicine on obesity, metabolic endotoxemia and dysbiosis: a randomized double-blind controlled clinical trial. *Clin Nutr*, v. 33, n. 6, p. 973-81, 2014.
91. LEY, R. E. et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, v. 444, p. 1022-3, 2006.
92. LEY, R. E. Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol*, v. 26, n. 1, p. 5-11, 2010.
93. LI, S. et al. Meta-analysis of randomized controlled trials on the efficacy of probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy in children. *Eur J Pediatr*. v. 173, n. 2, p.153-61, 2014.
94. LOUIS P. Does the Human Gut Microbiota Contribute to the Etiology of Autism Spectrum Disorders? *Digest Dis Sci*. V. 57, n. 8, p. 1987-9, 2014.
95. MARCHESI, J. R. et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*, v. 65, p. 330-9, 2015.
96. MARQUES, T. M. et al. Programming infant gut microbiota: influence of dietary and environmental factors. *Curr Opin Biotechnol*, v. 21, n. 2, p 149-56, 2010.
97. McFARLAND, L. V.; DUBLIN, S. Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*, v. 14, n. 17, p. 2650-61, 2008.
98. McFARLAND, L. V. et al. Systematic review and meta-analysis: Multi-strain probiotics as adjunct therapy for *Helicobacter pylori* eradication and prevention of adverse events. *Unit Eur Gastroenterol J*, v. 4, n. 4, p. 546-61, 2016.
99. MOAYYEDI, P. et al. The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut*, v. 59, n. 3, p. 325-32, 2010.
100. MORAES, A. C. F. et al. Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, v. 58, n. 4, p. 317-27, 2014.
101. MORAES, A. C. F. Análise da microbiota intestinal em adultos com hábitos alimentares distintos e de associações com a inflamação e resistência à insulina. São Paulo. Tese [Doutorado em Nutrição em Saúde Pública] – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; 2016.
102. MUELLER, N. T. et al. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol Med*, v. 21, n. 2, p:109-117, 2015.

103. NEISH, A. S. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterol*, v. 136, n. 1, p. 65-80, 2009.
104. NEUMAN, H. et al. Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system. *FEMS Microbiol Rev*, v. 39, n. 4, p. 509-21, 2015.
105. NEUTRA, M.R.; MANTIS, N.J.; KRAEHENBUHL, J.P. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nat Immunol*, v. 2, n. 11, p. 1004-9, 2001.
106. NISHIDA, S.; ISHIKAWA, Y.; IINO, H. Effect of *Bifidobacterium lactis* DN173 010 on the intestinal transit time, the condition of defecation and intestinal microflora: A randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study among healthy Japanese women. *Pharmacometrics (Oyo Yakuri)*, v. 74, p. 99-106, 2008.
107. O'ROURKE, R. W. et al. Systemic inflammation and insulin sensitivity in obese IFN- γ knockout mice. *Metabolism*, v. 61, n. 8, p. 1152-61, 2012.
108. OUWEHAND, A. C. A review of dose-responses of probiotics in human studies. *Benefic Microbes*, v. 8, n. 2, p.143-151, 2017.
109. OUWEHAND, A. C.; RÖYTIÖ, H. Probiotic fermented foods and health promotion. In: HOLZAPFEL, W. (ed.). *Advances in Fermented Foods and Beverages*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, 2015. p. 3–22.
110. PALMER, C. et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*, v. 5, n. 7, Art No177, 2007.
111. PARK, D. Y. et al. Supplementation of *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032 in diet-induced obese mice is associated with gut microbial changes and reduction in obesity. *PLoS One*, v. 8, Art No e59470, 2013.
112. PETERSON, L. A.; ARTIS, D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*, v. 14, p. 141-6, 2014.
113. RHEE, S. H.; POTHOUKAKIS, C.; MAYER, E. A. Principles and clinical implications of the brain–gut–enteric microbiota axis. *Nat Rev Gastro hepat*, v. 6, n. 5, p. 306-14, 2009.
114. RIDAURA, V. K; BELKAID, Y. Gut microbiota: the link to your second brain. *Cell*, v. 161, n. 2, p. 193-4, 2015.
115. RIDAURA, V. K. et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*, v. 341, n. 6150, Art No 1241214, 2013.

116. RINGEL, Y. High throughput sequencing reveals distinct microbial populations within the mucosal and luminal niches in healthy individuals. *Gut Microbes*, v. 6, n. 3, p. 173-81, 2015.
117. SALMINEN, S. J. et al. (eds) Feeding during late infancy and early childhood: impact on Health. Vevey/S. Karger AG, Basel. Nestlé Nutr Workshop Ser Pediatr Proram. v. 56, p. 43-56, 2005.
118. SALMINEN, S.; KNEIFEL, W.; OUWEHAND, A. C. Probiotics: Application of Probiotics in Dairy Products: Established and Potential Benefits. In: Reference Module in Food Science. Elsevier, 2016.
119. SCHNORR, S. L. et al. Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nat Commun*, v. 5, Art No. 3654, 2014.
120. SCHOLTENS, P. A. et al. The early settlers: intestinal microbiology in early life. *Annu Rev Food Sci Technol*, v. 3, p. 425-47, 2012.
121. SCHOLTENS, P. A. M. J.; GOOSSENS, D. A. M.; STAIANO, A. Stool characteristics of infants receiving short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides: A review. *World J Gastroenterol*, v. 20, n. 37, p. 13446-52, 2014
122. SERVIN, A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev*, v. 28, p. 405-40, 2004.
123. SHEN, J.; OBIN, M. S.; ZHAO, L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med*, v. 34, n. 1, p. 39-58, 2013.
124. SHI, H. et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*, v. 116, p. 3015-25, 2006.
125. SINGH, S. et al. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. *Cochrane Db Syst Rev*, v. 11, Art No CD001176, 2015.
126. SINGH, N. et al. Blockade of dendritic cell development by bacterial fermentation products butyrate and propionate through a transporter (Slc5a8)-dependent inhibition of histone deacetylases. *J Biol Chem*, v. 285, n. 36, p. 27601-8, 2010.
127. SOMMER, F.; BÄCKHED, F. The gut microbiota-masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol*, v. 11, n. 4, p. 227-38, 2013.
128. STROBER, W.; FUSS, I.J.; BLUMBERG, R.S. The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu Rev Immunol*, v. 20, p. 495-549, 2002.

129. TADDEI, C. R. et al. High Abundance of *Escherichia* during the establishment of fecal microbiota in Brazilian children. *Microb Ecol*, v. 67, p. 624-34, 2014
130. TAMBURINI, S. et al. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med*, v. 22, p. 713-22, 2016.
131. TANAKA, S. et al. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *Fems Immunol Med Mic*, v. 56, p. 80-7, 2009.
132. TANG, W. H. W. et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*, v. 368, p. 1575-84, 2013
133. THOMAS, D. W. et al. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics*, v. 126, p. 1217-31, 2010.
134. THOMSEN, S. F. Epidemiology and natural history of atopic diseases. *Eur Clin Respir J*; v. 2, Art No 24642, 2015
135. TILLISCH, K. et al. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterol*, v. 144, n. 7, p. 1394-401, 2013.
136. TURNBAUGH, P. J.; GORDON, J. I. The core gut microbiome, energy balance and obesity. *J Physiol*, v. 587, (Pt 17):4153-8. 2009
137. ULISSE, S. et al. Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase, and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. *Am J Gastroenterol*, v. 96, n. 9, p. 2691-9, 2001.
138. USDA Foreign Agriculture Service. Japan's health food market: Background, trends and recommendations. GAIN (Global Agricultural Information Network) Report Number: JA 4509 8/19/2014. Disponível em: https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Functional%20Food%20Report_Tokyo%20ATO_Japan_8-13-2014.pdf
139. WANG, H. et al. Effect of probiotics on central nervous system functions in animals and humans: A systematic review. *J Neurogastroenterol*, v. 22, n. 4, p. 589-605, 2016.
140. WANG, Z. et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, v. 472, p. 57-65, 2011.
141. WGO - World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. 2012. Disponível em: www.worldgastroenterology.org

142. WONG, J. M. W. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol*, v. 40, n. 3, p. 235-43, 2006.
143. WONG, N. et al. Deficiency in interferon-gamma results in reduced body weight and better glucose tolerance in mice. *Endocrinology*, v. 152, p. 3690-9. 2011.
144. WOPEREIS, H. et al. The first thousand days – intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis. *Pediatr Allergy Immunol*, v. 25, p. 428-38, 2014.
145. WU, G. D. et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, v. 334, n. 6052, p. 105-8, 2011.
146. YADAV, H. et al. Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion. *J Biol Chem*, v. 288, p. 25088-97, 2013.
147. YARANDI, S. S. et al. Modulatory Effects of Gut Microbiota on the Central Nervous System: How Gut Could Play a Role in Neuropsychiatric Health and Diseases. *J Neurogastroenterol*, v. 22, n. 2, p. 201-12, 2016.
148. YATSUNENKO, T. et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, v. 486, n. 7402, p. 222-7, 2012.
149. ZHERNAKOVA, A. et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science*, v. 352, n. 6285, p. 565-9, 2016.

10. DIRETORIA/CONSELHO

Diretoria e Conselho Científico e de Administração do ILSI Brasil
Board of Directors and Board of Trustees of ILSI Brazil

Presidente do Conselho Científico e de Administração (Chair)

- Dr. Franco Lajolo - FCF - USP

Vice-Presidente do Conselho Científico e de Administração (Vice-Chair)

- Dr. Flavio Zambrone – IBTox

Presidente / President

- Ary Bucione (DuPont)

Vice-Presidente / Vice-President

- Alexandre Novachi – Reckitt Benckiser

Diretoria Financeira / Executive Finance

Mariela Weingarten Berezovsky – Danone Ltda

Diretoria / Board of Directors

- Amanda Poldi – Cargill
- Elizabeth Vargas – Unilever
- Dr. Helio Vannucchi – FMUSP - RP
- Dra. Maria Cecília Toledo – UNICAMP
- Dr. Mauro Fisberg – UNIFESP
- Dr. Paulo Stringheta – Universidade Federal de Viçosa
- Taiana Trovão - Mondelêz

Diretoria Executiva/Executive Director

- Flavia Franciscato Cozzolino Goldfinger

**Conselho Científico e de Administração/
Board of Trustees**

- Alexandre Novachi – Reckitt Benckiser
- Amanda Poldi – Cargill
- Ary Bucione – DuPont
- Dra. Bernadette Franco – FCF USP
- Dr. Carlos Nogueira-de-Almeida – FMUSP RP
- Cristiana Leslie Corrêa – IBTox
- Dra. Deise M. F. Capalbo - EMBRAPA
- Elizabeth Vargas – Unilever
- Dr. Felix Reyes – FEA UNICAMP
- Dr. Flavio Zambrone - IBTox
- Dr. Franco Lajolo – FCF USP
- Dr. Helio Vannucchi – FMUSP RP

- Dra. Ione Lemonica – UNESP Botucatu
- Luiz Henrique Fernandes - Pfizer
- Dra. Maria Cecília Toledo – Fac. Eng. Alimentos / UNICAMP
- Mariela Weingarten Berezovsky – Danone Ltda.
- Dr. Mauro Fisberg – UNIFESP
- Othon Abrahão - Futuragene
- Dr. Paulo Stringheta – UFV
- Dra. Silvia Maria Franciscato Cozzolino – FCF USP
- Taiana Trovão - Mondelêz
- Tatiana da Costa Raposo Pires – Herbalife

11. EMPRESAS MANTENEDORAS DA FORÇA-TAREFA ALIMENTOS FUNCIONAIS 2018

ABBOTT
ACHÉ
AMWAY
BASF
DANONE
DSM
DU PONT
HERBALIFE
KELLOGG
MONDELEZ
NESTLÉ
PFIZER
TATE & LYLE
YAKULT

