



ARTIGO DE REVISÃO

Probiotics: an update☆



Yvan Vandenplas^{a,*}, Geert Huys^b e Georges Daube^c

^a UZ Brussel, Departamento de Pediatria, Vrije Universiteit Brussel, Bruxelas, Bélgica

^b Laboratório de Microbiologia e Coleção de Bactérias BCCM/LMG, Faculdade de Ciências, Ghent University, Gante, Bélgica

^c Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Ciência dos Alimentos, Université de Liège, Liège, Bélgica

Recebido em 14 de julho de 2014; aceito em 6 de agosto de 2014

KEYWORDS

Bifidobacteria;
Gastro-intestinal
microbiota;
Lactobacillus;
Microbiome;
Probiotic

Abstract

Objective: Triggered by the growing knowledge on the link between the intestinal microbiome and human health, the interest in probiotics is ever increasing. The authors aimed to review the recent literature on probiotics, from definitions to clinical benefits, with emphasis on children. **Sources:** Relevant literature from searches of PubMed, CINAHL, and recent consensus statements were reviewed.

Summary of the findings: While a balanced microbiome is related to health, an imbalanced microbiome or dysbiosis is related to many health problems both within the gastro-intestinal tract, such as diarrhea and inflammatory bowel disease, and outside the gastro-intestinal tract such as obesity and allergy. In this context, a strict regulation of probiotics with health claims is urgent, because the vast majority of these products are commercialized as food (supplements), claiming health benefits that are often not substantiated with clinically relevant evidence. The major indications of probiotics are in the area of the prevention and treatment of gastro-intestinal related disorders, but more data has become available on extra-intestinal indications. At least two published randomized controlled trials with the commercialized probiotic product in the claimed indication are a minimal condition before a claim can be sustained. Today, *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Saccharomyces boulardii* are the best-studied strains. Although adverse effects have sporadically been reported, these probiotics can be considered as safe.

Conclusions: Although regulation is improving, more stringent definitions are still required. Evidence of clinical benefit is accumulating, although still missing in many areas. Misuse and use of products that have not been validated constitute potential drawbacks.

© 2014 Sociedade Brasileira de Pediatria. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

DOI se refere ao artigo: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2014.08.005>

☆ Como citar este artigo: Vandenplas Y, Huys G, Daube G. Probiotics: an update. J Pediatr (Rio J). 2015;91:6–21.

* Autor para correspondência.

E-mail: yvan.vandenplas@uzbrussel.be (Y. Vandenplas).

PALAVRAS-CHAVE

Bifidobactérias;
Microbiota
gastrointestinal;
Lactobacillus;
Microbioma;
Probiótico

Probióticos: informações atualizadas**Resumo**

Objetivo: Motivado pelo conhecimento cada vez maior da associação entre o microbioma intestinal e a saúde humana, o interesse nos probióticos vem crescendo cada vez mais. Os autores visaram a analisar a última literatura a respeito dos probióticos, de definições a benefícios clínicos com ênfase nas crianças.

Fonte dos dados: Foi analisada a literatura relevante de pesquisas do PubMed, do Cinahl e dos últimos consensos.

Síntese dos dados: Apesar de um equilíbrio no microbioma estar relacionado à saúde, um desequilíbrio no microbioma ou disbiose está relacionado a vários problemas de saúde no trato gastrointestinal, como diarreia e doença inflamatória intestinal, e fora do trato gastrointestinal, como obesidade e alergia. Nesse contexto, a regulamentação rigorosa dos probióticos a alegações de saúde é urgente, pois a grande maioria desses produtos é vendida como alimentação (suplementos), sob a alegação de benefícios à saúde que frequentemente não são comprovados com evidências clinicamente relevantes. As principais indicações de probióticos são feitas na área da prevenção e tratamento de doenças gastrointestinais, porém mais dados têm sido divulgados a respeito de indicações extraintestinais. Pelo menos dois ensaios clínicos controlados e randomizados publicados com o probiótico vendido na indicação declarada são a condição mínima antes de uma afirmação poder ser mantida. Atualmente, o *Lactobacillus rhamnosus* GG e *Saccharomyces boulardii* são as melhores cepas estudadas. Apesar de efeitos adversos terem sido esporadicamente relatados, os probióticos podem ser considerados seguros.

Conclusões: Apesar de a regulamentação estar aumentando, ainda são necessárias definições mais rigorosas. As evidências de benefícios clínicos estão aumentando, apesar de ainda ausentes em várias áreas. O uso inadequado e de produtos não validados constitui possíveis desvantagens.

© 2014 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Introdução

A consulta de peritos conjunta da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial de Saúde (OMS) sobre a avaliação das propriedades de saúde e nutricionais dos probióticos na alimentação, incluindo leite em pó com bactérias vivas produtoras de ácido láctico, definiu os probióticos como "Micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro".¹ Em 2002, um grupo de trabalho conjunto da FAO/OMS² criou diretrizes para a avaliação dos probióticos na alimentação. As exigências mínimas necessárias para *status* de probiótico incluem:

- a avaliação da identidade da cepa (gênero, espécie e nível da cepa);
- testes *in vitro* para selecionar possíveis probióticos: por exemplo, resistência à acidez gástrica, ao ácido biliar e às enzimas digestivas, atividade antimicrobiana em relação a bactérias possivelmente patogênicas;
- avaliação de segurança: exigências para comprovação de que uma cepa probiótica é segura e não está contaminada em sua forma de administração;
- estudos *in vivo* para comprovação dos efeitos sobre a saúde do hospedeiro-alvo.

Após a definição da FAO/OMS, o Instituto Internacional de Ciências da Vida (ILSI)³ e a Associação Europeia

de Alimentos e Culturas para Alimentação Animal (EFFCA)⁴ divulgaram definições semelhantes de um probiótico: "Um ingrediente alimentar microbiano vivo que, quando consumido em quantidades adequadas, confere benefícios à saúde dos consumidores" e "micro-organismos vivos que, quando ingeridos ou aplicados localmente em quantidades suficientes, fornecem ao consumidor um ou mais benefícios comprovados à saúde". A definição de fato implica que a ingestão de probióticos proporciona benefícios à saúde do hospedeiro.

A ciência relacionada aos probióticos é recente e, assim, está em evolução constante. Os probióticos usados na alimentação, fornecidos como suplementação alimentar ou como componente ativo de uma medicação registrada, devem conseguir não apenas sobreviver à passagem por meio do aparelho digestivo e mostrar sobrevivência ao ácido e à bile, mas ser capazes de proliferar no intestino. Os probióticos devem ser capazes de exercer seus benefícios sobre o hospedeiro por meio do crescimento e/ou da atividade no corpo humano. A aplicação tópica ou local dos probióticos também é proposta em vista da recente avaliação de dados científicos. Portanto, a capacidade de permanecer viável e efetiva na região-alvo deve ser estudada e confirmada para cada cepa ou, melhor ainda, para cada produto vendido. Os estudos clínicos devem ser feitos com o produto vendido, e não com "a cepa". Contudo, a falta de proteção contribui para o fato de que algumas empresas se recusem a fornecer informações sobre cepas específicas em seu produto.⁵

A literatura recente mostrou que um dos mecanismos de ação dos probióticos envolve a estimulação do sistema imunológico. O fato dos probióticos precisarem estar “vivos” para induzir a modulação imune pode ser questionado. Portanto, a definição talvez precise ser revisada no futuro.

De acordo com a União Europeia (UE), alegações de saúde apenas devem ser autorizadas para uso após uma avaliação científica ter sido feita pelo Painel dos Produtos Dietéticos, Nutrição e Alergias (NDA) da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) [Regulamentação (EC) n° 1924/2006].⁶ As principais dúvidas abordadas pelo painel NDA da EFSA são:

- o alimento/componente está suficientemente definido e caracterizado?
- o efeito alegado está suficientemente definido e o produto tem um efeito fisiológico benéfico?
- foram apresentados estudos pertinentes em seres humanos para comprovar a alegação?

As recomendações da EFSA são um passo importante na tentativa de aproximar os motivos para usar suplementos e medicamentos alimentares probióticos. Contudo, as empresas descobriram formas opcionais de evitar as restrições da EFSA. Alguns dos suplementos alimentares estão no processo de registro como “dispositivo médico”, para o qual a legislação permite alegações sem o fornecimento de difícil comprovação científica. Ademais, as exigências de produção relacionadas a controle de qualidade e segurança ainda diferem substancialmente entre suplementos e medicamentos alimentares e colocam os medicamentos em uma situação desvantajosa.

Controles oficiais por autoridades nacionais são feitos para garantir a verificação de cumprimento da legislação alimentar. Além do risco de usar cepas não autorizadas, o erro de rotulagem dos produtos é um problema conhecido, parcialmente devido ao uso de métodos fenotípicos e de genotipagem com falta de poder de discriminação.⁷ Além de controles oficiais, controles privados por empresas de produção de alimentos são importantes em termos de proteção de cepas patenteadas e de direitos de propriedade industrial.

Em seu documento “Diretrizes para Avaliação de Probióticos na Alimentação”, o Grupo de Trabalho da FAO/OMS² recomenda que as seguintes informações sejam descritas nos rótulos dos produtos probióticos: gênero, espécie e designação da cepa.

- A designação da cepa não deve confundir os consumidores a respeito da funcionalidade da cepa.
- Quantidades mínimas viáveis de cada cepa probiótica no fim do prazo de validade
- O tamanho da porção sugerido deve fornecer a dose efetiva de probióticos relacionada à alegação de saúde.
- Alegação(ões) de saúde
- Condições de armazenamento adequadas
- Informações de contato da empresa para informação ao consumidor

Em vários países, apenas alegações gerais de saúde são atualmente permitidas em alimentos que contêm probióticos. O Grupo de Trabalho da FAO/OMS² recomendou

que alegações específicas de saúde nos alimentos fossem permitidas com relação ao uso dos probióticos, nos quais está disponível comprovação científica suficiente. Essas alegações específicas de saúde devem ser permitidas no rótulo e no material promocional. Por exemplo, uma alegação específica que declare que um probiótico “reduz a incidência e gravidade de diarreia por rotavírus em neonatos” seria mais informativa ao consumidor que uma alegação geral que declare “melhora a saúde intestinal”. Recomenda-se que é responsabilidade do fabricante fazer uma análise independente por terceiros cientistas na área para estabelecer que as alegações de saúde sejam verdadeiras, e não enganosas.

Em linha com as sugestões do Grupo de Trabalho da FAO/OMS,² em 20 de dezembro de 2006, o Parlamento Europeu e o Conselho publicaram uma nova regulamentação (n° 1924/2006) sobre as “Alegações Nutricionais e de Saúde em Alimentos”.⁶ Essa regulamentação aplica-se a todas as alegações nutricionais e de saúde com relação a todos os tipos de alimentos destinados a consumidores finais, incluindo, assim, produtos probióticos trazidos para o mercado com uma alegação de saúde. A regulamentação visa a harmonizar as alegações nutricionais e de saúde em toda a Europa a fim de melhor proteger os consumidores, incluindo as comunicações comerciais (rotulagem, apresentação e campanhas promocionais) e marcas e outras marcas que poderão ser interpretadas como alegações nutricionais e de saúde.

Efeitos funcionais dos probióticos

A definição de que “probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro” apenas generaliza a funcionalidade dos probióticos como fornecedor de um benefício à saúde do hospedeiro. Assim, essa definição basicamente implica que deve haver um benefício fisiológico mensurável ao hospedeiro que usar o produto probiótico. Além disso, não está especificado que a cepa probiótica deve ser administrada por via oral nem existem exigências específicas com relação à forma de ação. Essa também implica que a sobrevivência dos micro-organismos probióticos em todo o trato gastrointestinal não é um pré-requisito para reconhecimento dos efeitos dos probióticos. Por exemplo, a administração de lactase por meio da administração de *Streptococcus (Str.) thermophilus* vivos no intestino delgado pode ser considerada uma atividade probiótica, apesar de a própria cepa bacteriana não sobreviver ao trato digestivo.⁸

Ao considerar a funcionalidade, a definição acima de probióticos deve ser interpretada de forma muito ampla. Essa ampla definição da funcionalidade complica o processo de caracterização funcional dos probióticos. O uso de probióticos poderá visar a várias áreas do corpo (boca, trato gastrointestinal, trato respiratório, trato urinário, pele, vagina...) e sua aplicação também pode visar subpopulações humanas específicas: pessoas saudáveis, crianças, idosos, pessoas doentes, indivíduos imunocomprometidos e geneticamente predispostos etc. Existe uma gama extremamente diversificada de possíveis efeitos biológicos e novas atividades funcionais estão sendo exploradas constantemente.

Enquanto alguns modelos são perfeitamente adequados para o estudo do potencial de colonização dos probióticos, outros modelos precisam ser avaliados quanto a seu potencial de imunomodulação, sua resiliência contra invasão de patógenos do trato gastrointestinal ou suas propriedades anti-inflamatórias.

Caracterização funcional dos probióticos

Áreas alvo

Os produtos probióticos são desenvolvidos para melhorar as doenças fisiológicas em diferentes áreas do corpo. Apesar de o trato gastrointestinal ser o alvo mais importante para a maioria dos usos de probióticos, outras áreas do corpo, como a boca, o trato urogenital e a pele, também são consideradas. Os probióticos podem desempenhar um importante papel na medicina bucal e na odontologia.^{9,10}

Considera-se também que os probióticos diminuem e previnem infecções do trato reprodutivo e urinário.¹¹⁻¹⁴ No que diz respeito a aplicações na pele, os probióticos podem ser administrados por via oral para induzir uma resposta imune que tenham efeitos sistêmicos, por exemplo, controle de inflamações na pele¹⁵ e de doenças dermatológicas em geral.¹⁶ Os probióticos também têm sido usados para proteção de infecções no trato respiratório. O *Lactobacillus (L.) rhamnosus GG* previne infecções no trato respiratório, além da proteção convencional contra infecções gastrointestinais.¹⁷ Existe uma abundância de cepas probióticas e administrações disponíveis tendo o trato gastrointestinal como alvo. Essas administrações destinam-se a uma grande diversidade de benefícios à saúde, como redução da colonização de patógenos, síntese de vitaminas, aprimoramento do trânsito intestinal, alívio da intolerância à lactose, redução do inchaço, efeitos imunomoduladores e vários outros.

Modo de administração

Visando a obter benefícios à saúde, as cepas probióticas geralmente exigem uma matriz específica para garantir a sobrevivência ideal das cepas em todo o trato gastrointestinal. Por exemplo, recentemente, os probióticos têm sido formulados em uma matriz de chocolate, o que resultou em uma sobrevivência mais ideal das cepas probióticas, em comparação com métodos de formulação convencionais dos probióticos.¹⁸ Outros métodos incluem a introdução de probióticos em produtos mais convencionais, como leite,¹⁹ quefir²⁰ e vários iogurtes, ou em matrizes mais específicas, como cereais, queijo e até mesmo salsichas e biscoitos. Obviamente, vários probióticos são introduzidos, por motivos comerciais, para obter uma melhor colocação dos produtos ou para integrar os produtos alimentícios no mercado de probióticos. Exemplos desses são sucos de frutas, sorvetes, doces, barras de cereais etc.

Além da incorporação dos probióticos nos produtos alimentícios, as cepas probióticas também são fornecidas como suplemento alimentar, normalmente visando a resolver problemas de saúde específicos. Suplementos (por exemplo, *L. rhamnosus GG*, *L. reuteri*) e medicamentos alimentares (por exemplo, *Saccharomyces (S.) boulardii*) probióticos

quase se tornaram padrão no tratamento de gastroenterite pediátrica. Existem muitas fórmulas infantis de leite em pó nas quais os probióticos têm sido formulados para evitar e aliviar a diarreia.

As cepas de *L. lactis* foram desenvolvidas e secretam IL-10 ou proteína imunomoduladora LcrV de *Yersinia* para tratar colite em ratos.^{21,22} Atualmente, essa abordagem é considerada no tratamento de mucosite oral (incidência elevada em pacientes com câncer de cabeça/pescoço que recebem radioterapia) com um fator humano trifólio 1-secreting *L. lactis*. Uma base molecular das aplicações terapêuticas e as atividades quimiopreventivas de determinados metabólitos probióticos, com ênfase na interação entre esses metabólitos e vias de sinalização molecular, são consideradas alvos epigenéticos na prevenção de câncer de cólon.²³

Por fim, a administração dos probióticos não se refere apenas ao ambiente alimentício ou farmacológico no qual o probiótico é formulado. São desenvolvidas pomadas específicas e sprays nasais.²⁴ Atualmente, até mesmo a introdução de probióticos em colchões e em agentes de limpeza tem ganhado espaço para um controle higiênico ideal. Esse mostra a necessidade de ampliar o controle das alegações além dos suplementos alimentícios e dos alimentos. Caso a UE crie "autoridades", como a EFSA, para controlar as alegações em alimentos e em suplementos alimentares, as alegações de saúde para produtos não alimentícios devem ser igualmente controladas.

Sobrevivência das cepas

Os benefícios à saúde são, em muitos casos, obtidos apenas quando uma cepa probiótica atinge a área alvo em um estado metabolicamente ativo e em quantidades suficientes. Para administração oral, os micro-organismos probióticos devem sobreviver a diferentes estresses físico-químicos, enzimáticos e microbianos em todo o trânsito gastrointestinal.

Primeiramente, os micro-organismos precisam cruzar o ambiente ácido do estômago. Além disso, a falta ou a presença de uma matriz alimentar determina significativamente o perfil de pH ao qual a cepa probiótica está sujeita. Apesar de o efeito protetor inicial de pH dos alimentos poder sujeitar a cepa probiótica a condições de acidez inicialmente menos rigorosas, uma digestão mais demorada no estômago na presença de alimentos pode expor parte do probiótico administrado a condições de acidez por um período de tempo mais longo. Vários micro-organismos probióticos têm sido selecionados por sua maior resiliência contra essas condições de acidez e novas metodologias estão disponíveis para possibilitar o encapsulamento de cepas probióticas para essa finalidade.²⁵

Um segundo componente estressor é a presença de sais da bile que induzem as propriedades que comprometem as membranas dos micro-organismos, devido à sua natureza antifilicida. Uma característica funcional específica dos micro-organismos é sua capacidade de lidar com o estresse causado pelos sais biliares por meio da hidrolase dos sais biliares. As bactérias responsáveis pela hidrolase dos sais biliares normalmente separam a glicina ou parte da taurina dos sais biliares conjugados e fornecem a esse menor capacidade bacteriostática. Essa característica é de especial

importância para aprimorar a sobrevivência das cepas em todo o trânsito intestinal e foi proposta como um mecanismo que explica como os probióticos podem reduzir os níveis de colesterol no sangue.²⁶

Outra característica da sobrevivência das cepas probióticas é a capacidade de colonizar o trato gastrointestinal. Essa propriedade pode ser dividida em um componente ecológico e em um componente da mucosa. Primeiramente, assim que um organismo probiótico sobrevive ao ácido gástrico e aos sais biliares do duodeno e, assim, atinge o íleo e o cólon, tem a possibilidade de se desenvolver em um ambiente menos rigoroso. Contudo, atinge um ambiente com um fundo microbiano altamente significativo – o íleo e o cólon atingem concentrações bacterianas de quimo 10^7 e 10^{11} células/mL, respectivamente. Obviamente, uma cepa probiótica pode ser considerada exterior à microbiota endógena residente e, a menos que nutrientes específicos sejam fornecidos ao probiótico na formulação do produto (por exemplo, simbiótica), a cepa deve entrar em competição com a comunidade microbiana residente por substratos disponíveis. Em termos ecológicos, o probiótico administrado deve ocupar uma posição funcional no ecossistema microbiano do intestino. Em segundo lugar, uma propriedade importante para os probióticos, por exemplo, a respeito do controle de patógenos, é sua capacidade de aderir e crescer na superfície mucosa que cobre o epitélio intestinal. A aderência da mucosa pode contar com as propriedades da parede celular. A natureza hidrofóbica das cepas microbianas pode ser avaliada com um simples ensaio de Banho,²⁷ ao passo que uma adesão específico à mucosa pode ser mensurada com ensaios de adesão de curto prazo com mucinas derivadas do intestino (grande parte de origem animal).^{27,28} Contudo, a adesão específica dos micro-organismos intestinais às mucinas do intestino é eficiente apenas para a formação de microcolônias e não garante uma colonização prolongada da camada da mucosa. Foi bem descrito que micro-organismos específicos modulam sua expressão de genes após sua incorporação à superfície da mucosa. Isso foi descrito não apenas para patógenos,^{28,29} mas também para micro-organismos probióticos, como *L. rhamnosus* GG, que podem sobrerregular a formação de pelos específicos no ambiente da mucosa.³⁰

Grupos de humanos alvo

Os produtos probióticos são desenvolvidos para uma grande variedade de alegações de saúde. Os probióticos podem ser administrados em indivíduos saudáveis e doentes. Os efeitos esperados podem ser de natureza preventiva ou curativa. O objetivo pode ser combater a causa da doença/alterações metabólicas ou amenizar os sintomas associados à progressão de uma doença/alteração metabólica.

Visando a melhorar a saúde do corpo humano, a ingestão de uma cepa probiótica por indivíduos saudáveis tem basicamente objetivos preventivos. Contudo, deve-se enfatizar que a introdução de uma cepa estranha – mesmo se a mesma for um probiótico – deve ser feita com cuidado e após um processo de avaliação bem considerado. Mais especificamente, o ambiente intestinal de subpopulações humanas sensíveis, como bebês e crianças de um a três anos, passa por um nível elevado de desenvolvimento ou transição. Muitos estudos relatam administrações de probióticos que resultam

em desfechos positivos de marcadores que podem ser relevantes à saúde humana. Os estudos sobre probióticos mostraram efeitos benéficos em todos os subgrupos relacionados à idade, como pares de mãe-filho(a), prematuros, recém-nascidos, neonatos e crianças mais velhas e idosos.

Para exemplificar, bebidas lácteas fermentadas com cepa de *L. casei* Shirota estimulam positivamente o sistema imunológico em indivíduos humanos saudáveis.³¹ A respeito de diferentes faixas etárias, os efeitos do consumo de longo prazo de leite com probióticos sobre infecções foram avaliados em crianças matriculadas em creches,³² ao passo que *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1073R-1 foi dado a idosos com o objetivo de reduzir o risco de infecção.³³

No caso de a comunidade microbiana de uma área do corpo específica sofrer alterações, levando então à chamada “disbiose”, nichos funcionais foram liberados no ecossistema. Exemplos de disbiose são as alterações no ecossistema microbiano na boca associadas a cáries dentárias ou disbiose associada à vaginose bacteriana. Twetman analisou recentemente os efeitos dos probióticos sobre a saúde bucal em crianças.³⁴ Por exemplo, a administração de longo prazo de cepas probióticas, como *L. rhamnosus* GG, reduz o risco de cáries dentárias em crianças;³⁵ também foi relatada a importância da suplementação com probióticos durante a terapia ortodôntica.³⁶ Da mesma forma, a disbiose microbiana no trato urogenital, mais especificamente vaginose bacteriana, também pode ser combatida com probióticos.³⁷ Cepas de *L. rhamnosus* GG e *L. acidophilus* específicos têm sido usadas para tratar vaginose bacteriana.^{38,39} Os probióticos também podem ser usados oralmente para combater o aumento de riscos à saúde que se originam do ambiente intestinal. Indivíduos colonizados por *Helicobacter pylori* têm sido tratados com bebidas lácteas com *L. casei*⁴⁰ e *L. gasseri* OLL2716 (LG21),⁴¹ apesar de que as cepas específicas de *Bifidobacterium* mostrarem efeitos anti-*Helicobacter* por meio da produção de peptídeos antimicrobianos.⁴² Contudo, na doença de Crohn, há uma comprovação de que ocorre disbiose (como causa ou consequência), porém a suplementação com probióticos sempre falhou na prevenção de recaídas, exceto na bolsite. Além disso, existe atenção específica para o desenvolvimento de conceitos de probióticos para crianças em riscos modificados. Bebês prematuros apresentam um aumento do risco de desenvolver enterocolite necrosante, reduzido pela administração de probióticos por via oral.⁴³

Base do efeito biológico dos probióticos

Os benefícios à saúde de produtos e administrações de probióticos são extremamente diversos e continuamente expandidos com novas ideias e desenvolvimentos científicos.

Funcionalidade microbiológica

O objetivo final das intervenções microbiológicas por meio de probióticos pode ser estabilizar ou melhorar a homeostase microbiana em uma área do corpo e reduzir a invasão e colonização por patógenos. A resiliência de uma comunidade microbiana contra invasão por cepas exógenas depende em grande parte da disponibilidade de nichos funcionais não ocupados. Caso nem todos os nichos funcionais

estejam ocupados pela comunidade microbiana endógena, há um aumento do risco de invasão por patógenos no ecossistema, colonização e infecção posterior.

Os micro-organismos probióticos podem ser aplicados para melhorar ou restaurar a homeostase microbiana em dois cenários. Primeiramente, eles podem ocupar nichos funcionais deixados abertos pela comunidade endógena, e evitar, assim, que patógenos (oportunistas) ocupem esse nicho. Esse processo normalmente é denominado exclusão competitiva e visa principalmente à competição por nutrientes, às áreas físicas (por exemplo, adesão à mucosa) ou aos receptores. O segundo cenário tem mais uma natureza antagonista, pois os probióticos podem reduzir ativamente a invasão ou o desenvolvimento de patógenos (oportunistas) no ecossistema. Essa abordagem visa principalmente: i) à produção de ácidos graxos de cadeia curta e outros ácidos orgânicos (por exemplo, ácido láctico) por probióticos, que, assim, reduzem o pH e aumentam o efeito bacteriostático dos ácidos orgânicos com relação aos patógenos, ii) à produção de bacteriocinas, que são pequenos peptídeos microbianos com atividade bacteriostática ou bactericida e iii) à produção de espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio, altamente reativos e que aumentam o estresse oxidativo dos patógenos em microambientes.

Funcionalidade nutricional

Grupos microbianos específicos produzem vitaminas e podem, assim, contribuir para liberar vitaminas para o hospedeiro humano. Além da vitamina K,⁴⁴ vitamina B12⁴⁵ e piridoxina,⁴⁶ outras vitaminas, como biotina, ácido fólico, ácido nicotínico e tiamina, podem ser produzidas por micro-organismos intestinais. Esse tipo de atividade pode afetar a saúde do hospedeiro e considera-se, assim, que fornece possíveis efeitos probióticos.

A deficiência de lactase causa intolerância à lactose, que resulta em cólicas abdominais, náusea e inchaço. As cepas probióticas que têm lactase têm sido aplicadas com sucesso para aliviar o desconforto da intolerância à lactose.⁴⁷

Outras funcionalidades nutricionais podem incluir a produção de compostos que promovem a saúde. A potência metabólica dos micro-organismos intestinais é enorme e pode competir ou até mesmo ultrapassar a do fígado.⁴⁸ O ambiente intestinal abriga muitas pequenas fábricas químicas que produzem uma abundância de componentes químicos com efeitos de modulação da saúde.⁴⁹ Cepas isoladas que produzem substâncias que promovem a saúde também podem ser consideradas tendo potencial probiótico. Por exemplo, a produção de ácidos linoleicos conjugados (ALC) que promovem a saúde foi relatada para cepas de *Bifidobacterium*,⁵⁰ *L. plantarum* JCM 1551⁵¹ e cepas específicas de *L. acidophilus*. Além disso, a conversão dos precursores de fitoestrógenos para bioativar os metabólitos por micro-organismos suplementados é uma possível forma de administração dos probióticos no futuro. Por exemplo, Decroos et al., já isolaram um consórcio microbiano que converte daidzeína derivada de soja em equol bioativo,⁵² ao passo que Possemiers et al. fizeram uma investigação *in vitro* do potencial probiótico das cepas de *Eubacterium limosum* para converter *hop isoxanthohumol* em 8-prenilnaringenina.⁵³

Funcionalidade fisiológica

Tem sido relatado que os micro-organismos probióticos melhoraram o trânsito gastrointestinal. Hamilton-Miller analisou anteriormente essa funcionalidade para a administração de produtos probióticos em idosos.⁵⁴ Outros possíveis efeitos fisiológicos podem incluir a redução, por probióticos, do inchaço ou produção de gás, a melhoria de absorção de íons pelas células epiteliais do intestino⁵⁵ e a redução da toxicidade dos sais biliares ou a redução dos níveis de colesterol no sangue por probióticos positivos com hidrolase dos sais biliares.^{56,57}

Redução dos componentes prejudiciais à saúde no intestino

Os micro-organismos probióticos também são aplicados para reduzir os riscos à saúde decorrentes de componentes perigosos. Por exemplo, a exposição oral a contaminantes, de uma matriz alimentar ou de uma matriz ambiental (terra, poeira, água...), é o cenário mais dominante pelo qual o corpo humano se expõe internamente a contaminantes. Eles podem incluir: i) micotoxinas, produzidas de fungos em uma grande variedade de culturas, cereais em especial; ii) xenobióticos com propriedades tóxicas, como resíduos indesejados a partir da contaminação ambiental da cadeia alimentar; ou iii) compostos perigosos do processo produtivo alimentar, como produção de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) durante o cozimento da carne. A forma de ação pela qual esses probióticos reduzem o risco decorrente de componentes perigosos ingeridos normalmente está relacionada à anorção do componente à biomassa microbiana. Isso é, por exemplo, o caso da aflatoxina B1, que, *in vitro*, mostrou-se vinculada a cepas probióticas.⁵⁸ Outra forma de ação pode ser a desintoxicação direta do componente perigoso, como a quebra da fumonisina por *Pediococcus pentosaeus* L006, isolado de folhas de milho. Uma forma de ação final é mais indireta e se assemelha à modulação probiótica acima do microambiente no intestino, onde os patógenos (alimentos) produzem toxinas. Por exemplo, relatou-se que a produção de ácidos orgânicos por micro-organismos probióticos afeta negativamente a produção da toxina Shiga 2 da enterohemorragica *E. coli* O157:H7.

Funcionalidade imunológica

Os benefícios imunológicos dos probióticos podem ser devidos à ativação dos macrófagos locais e à modulação da produção de IgA local e sistemicamente, a fim de causar mudanças nos perfis das citocinas pró/anti-inflamatórias ou a modulação da resposta com relação aos antígenos alimentares.^{59,60}

Produtos probióticos na prevenção e tratamento

Os parágrafos a seguir não visam a fornecer uma visão geral de todas as indicações nas quais os probióticos foram estudados como possível intervenção preventiva e/ou terapêutica,

pois novos manuscritos são publicados semanalmente. Focamos nas indicações mais relevantes para crianças.

Diarreia infecciosa aguda

Os probióticos têm sido amplamente estudados a respeito da prevenção de diarreia infecciosa aguda. Grandes ensaios clínicos controlados e randomizados fornecem comprovação de um efeito muito modesto (estatisticamente significativo, porém de importância clínica questionável) de algumas cepas probióticas (*L. rhamnosus* GG e cepas de *L. reuteri* e *Bifidobacterium [B.] animalis* subsp. *lactis*) na prevenção de diarreia adquirida na comunidade.⁶¹⁻⁶⁹ Para prevenção de diarreia adquirida em creches, muitos ensaios clínicos randomizados e controlados por placebo conduzidos em diferentes partes do mundo foram publicados. Os probióticos testados foram principalmente *L. rhamnosus* GG, *B. animalis* subsp. *lactis* sozinhos ou em combinação com *Str. thermophilus* e *L. reuteri*, *L. rhamnosus* (não GG) e *L. acidophilus*, sozinhos ou em um estudo comparativo. A comprovação de sua eficácia nessas configurações é modesta apenas para prevenção de diarreia e, às vezes, também para prevenção de infecções respiratórias.⁶⁶ Contudo, o efeito protetor sobre a prevenção de diarreia se torna menos significativo caso a incidência de diarreia (episódios por paciente-mês), em vez do percentual de pacientes com diarreia, seja considerada.⁶⁸ Em crianças internadas, a administração de *L. reuteri* DSM 17938 em comparação com placebo não apresentou efeito sobre a incidência geral da diarreia nosocomial, incluindo infecção por rotavírus.⁷⁰ Apesar de a mesma cepa não ter evitado a diarreia em crianças em idade pré-escolar,⁷¹ o impacto clínico desses achados pode ser questionado.⁷²

O uso dos probióticos a seguir (em ordem alfabética) pode ser considerado no tratamento de crianças com gastroenterite aguda, além de terapia de reidratação: *L. rhamnosus* GG (baixa qualidade de comprovação; forte recomendação) e *S. boulardii* (baixa qualidade de comprovação; forte recomendação). Comprovação menos convincente está disponível para *L. reuteri* DSM 17938 (qualidade de comprovação muito baixa; recomendação fraca) e *L. acidophilus* LB inativada pelo calor (qualidade de comprovação muito baixa; recomendação fraca).⁷³ Essa, apesar de tradicionalmente discutida juntamente com outros probióticos, não se adequa à definição dos probióticos. Vários ensaios clínicos controlados e randomizados avaliaram o efeito da *Enterococcus faecium* SF6873.⁷³ Uma análise de subgrupo feita em uma revisão Cochrane (data da pesquisa: julho de 2010) constatou que a *E. faecium* SF68 reduziu o risco de diarreia com duração de \geq quatro dias (4 RCTs, n=333; RR 0,21, IC de 95% 0,08 a 0,52).⁷³ Contudo, estudos *in vitro* documentaram que a cepa de *E. faecium* SF68 é um possível receptor de genes de resistência à vancomicina.⁷⁴ Considerando que o risco de conjugação *in vitro* não pode ser descartado, os probióticos com problemas de segurança não devem ser usados.⁷³ Publicações recentes fortaleceram a comprovação dos benefícios da *L. reuteri* no tratamento de diarreia em crianças internadas.^{75,76} Outras cepas ou combinações de cepas foram testadas, porém a comprovação de sua eficácia é fraca ou preliminar. Misturas de diferentes cepas não

necessariamente são mais eficazes.⁷⁷ Como, em países tropicais com regiões onde há deficiência de zinco, o zinco hoje é acrescentado ao sal de reidratação oral (SRO), o impacto dos probióticos sobre a eficácia do zinco deve ser estudado.⁷⁷ Como uma gastroenterite aguda será tratada espontaneamente em quase toda criança, o impacto do custo/benefício determinará, em grande parte, se os probióticos são usados ou não.^{78,79}

Diarreia associada a antibióticos (DAA)

O risco relativo total em uma metanálise de 63 ensaios clínicos controlados e randomizados, que incluíram 11.811 participantes, indicou uma associação estatisticamente significativa da administração de probióticos com a redução da DAA (risco relativo, 0,58; IC de 95%, 0,50 a 0,68; P < 0,001; I(2), 54%; [diferença de risco, -0,07; IC de 95%, -0,10 a -0,05], [número necessário a ser tratado 13; IC de 95%, 10,3 a 19,1]).⁸⁰ Outra metanálise concluiu que o número necessário a ser tratado era de oito.⁸¹ De acordo com uma metanálise recente, os probióticos reduzem significativamente o risco de DAA em crianças.⁸² A análise do subgrupo pré-planejada mostrou que a redução do risco de DAA estava associada ao uso de *L. rhamnosus* GG (IC de 95% 0,15 a 0,6), *S. boulardii* (IC de 95% 0,07 a 0,6) ou *B. lactis* e *Str. thermophilus* (IC de 95% 0,3 a 0,95).⁸² Para cada sete pacientes que desenvolveriam diarreia enquanto tratadas com antibióticos, um a menos desenvolverá DAA se também receber probióticos.⁸² Apenas a *S. boulardii* foi relatada como eficaz na doença *Clostridium difficile* (*C. difficile*).⁸³⁻⁸⁵ Recentemente, um grande estudo de um único centro mostrou que a *S. boulardii* não foi eficaz, em idosos, na prevenção do desenvolvimento de DAA ou na prevenção de infecção por *C. difficile*.⁸⁶ Em muitos estudos, não há comprovação para sustentar o uso de qualquer (outro) probiótico para prevenir a recidiva de infecção por *C. difficile* ou para tratar diarreia por *C. difficile* existente.⁶⁴ Uma nova metanálise concluiu que os probióticos reduzem significativamente a incidência de DAA em crianças (22 ensaios clínicos; RR=0,42; IC de 95%, 0,33 a 0,53) e a incidência de infecção pediátrica por *C. difficile* (5 ensaios; RR=0,35; IC de 95% 0,13 a 0,92).⁸⁵ *S. boulardii* (RR=0,43; IC de 95% 0,32 a 0,60) e *L. rhamnosus* GG (RR=0,36; IC de 95% 0,19 a 0,69) são as duas melhores cepas estudadas.⁸⁷ Em grande parte dos estudos, os probióticos introduzidos juntamente com o tratamento com antibióticos.⁸⁸

Diarreia do viajante

A diarreia do viajante é uma condição frequente de grande impacto socioeconômico. É um desses assuntos sobre os quais há mais análises do que os estudos de pesquisa originais publicados. Diferentes ensaios clínicos controlados e randomizados foram feitos avaliando a eficácia dos probióticos na prevenção da diarreia do viajante. Um ensaio com *L. acidophilus* e dois com *L. rhamnosus* GG mostrou resultados negativos.⁸⁹⁻⁹¹ Um ensaio com *S. boulardii* relatou um pequeno efeito, porém significativo, em um subgrupo e sugeriu diferenças geográficas a respeito da eficácia.⁹² Em uma análise, McFarland concluiu que existe comprovação comparável quanto à eficácia para *L. rhamnosus* GG,

L. casei DN-114001 e *S. boulardii* e nenhuma eficácia para *L. acidophilus*.⁹³ Como o número de estudos sobre a diarreia do viajante é muito limitado, uma metanálise recente concluiu que não há eficácia dos probióticos na diarreia do viajante.⁹⁴ Não existem dados sobre os prebióticos e a prevenção ou tratamento da diarreia do viajante. Em geral, o número de estudos é muito pequeno para possibilitar a formulação de recomendações.⁹⁵

Síndrome do intestino irritável (SII)

Existe uma quantidade substancial na literatura a respeito do efeito dos probióticos sobre a SII em adultos, porém os dados em crianças são limitados. Uma revisão Cochrane em 2009 não conseguiu mostrar o efeito dos suplementos de fibras e registrou um efeito limitado dos lactobacilos sobre os sintomas, em comparação com o placebo (RC 1,17; IC de 95% 0,62, 2,21).⁹⁶

Um ensaio clínico controlado e randomizado de seis semanas com *L. rhamnosus* GG em comparação com o placebo mostrou resultados negativos em 50 crianças e adultos jovens, apesar de ter havido uma menor incidência de percepção de distensão abdominal no grupo *L. rhamnosus* GG.⁹⁷ A *L. rhamnosus* GG, porém não placebo, causou uma redução significativa da frequência e gravidade da dor abdominal, em comparação com a linha de base, e influenciou os testes de permeabilidade intestinal.⁹⁸ Uma metanálise mostrou que, em comparação com o placebo, a suplementação com *L. rhamnosus* GG está associada a uma taxa de respondedores ao tratamento significativamente maior na população geral com dor abdominal relacionada a disfunções gastrointestinais e no subgrupo SII.⁹⁹ Contudo, nenhuma diferença foi encontrada em crianças com dor abdominal funcional ou dispepsia funcional que receberam placebo ou *L. rhamnosus* GG.

Um estudo cruzado randomizado com VSL#3 e placebo por seis semanas, com um período de intervalo de duas semanas, em 59 pacientes mostrou um efeito superior do VSL#3 em comparação com o placebo no alívio de sintomas, bem como na dor/desconforto abdominal, no inchaço abdominal/gases e na avaliação familiar a respeito da perturbação da vida.⁹⁹ Nenhuma diferença significativa foi encontrada no padrão das fezes.¹⁰⁰

Não existem dados sobre a prevenção ou o tratamento da SII com prebióticos. Dados de um ensaio sugerem que, em neonatos, uma fórmula a base de soro de leite com prebióticos fornece maior conforto gastrointestinal do que uma fórmula de controle.¹⁰¹ Uma fórmula à base de peptídeos com fibra foi bem tolerada como uma fórmula sem fibras em uma pequena população de crianças com problemas gastrointestinais.¹⁰² Os extremos da consistência das fezes foram normalizados com fórmula que continha fibras. Não foram observadas diferenças significativas entre as duas fórmulas quanto a vômito, dor abdominal, ingestão de alimentos ou ganho de peso.¹⁰³ Os simbióticos devem ser ainda mais investigados nessa indicação.¹⁰³ Os probióticos são mais eficazes do que o placebo no tratamento de pacientes com dor abdominal relacionada a doenças gastrointestinais funcionais, principalmente a respeito de pacientes com síndrome do intestino irritável.¹⁰⁴

Helicobacter pylori

O uso de probióticos em indivíduos colonizados por *H. pylori* com inflamação gástrica é justificado por muitas observações. Cepas específicas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* exercem efeitos bactericidas *in vitro* sobre o *H. pylori* por meio da liberação de bacteriocinas ou da produção de ácidos orgânicos e/ou inibem sua aderência às células epiteliais. Esses efeitos de proteção foram confirmados em animais. Os ensaios clínicos são muitos importantes, pois os resultados *in vitro* nem sempre podem ser reproduzidos em pacientes. Os probióticos reduzem a carga bacteriana e melhoram a resposta imunológica.¹⁰⁵ Os resultados dos ensaios clínicos indicam que os probióticos em geral não erradicam o *H. pylori*, porém reduzem a densidade da colonização e mantêm, assim, menores níveis desse patógeno no estômago; em associação com tratamentos com antibióticos, alguns probióticos aumentam as taxas de erradicação e/ou reduzem os efeitos adversos causados pelos antibióticos. Vários estudos mostram uma taxa de erradicação de moderada a maior (~10%) do *H. pylori* quando os probióticos são associados aos antibióticos e ao inibidor da bomba de prótons.¹⁰⁶ Apesar de a *L. rhamnosus* GG parece não melhorar a erradicação,¹⁰⁷ grande parte das bactérias probióticas e das leveduras reduz os efeitos adversos dos regimes padrão de erradicação do *H. pylori*.^{108,109} A suplementação com probióticos na terapia tripla para infecção por *H. pylori* pode ter efeitos benéficos sobre a erradicação e sobre os efeitos colaterais da terapia, principalmente diarreia, em crianças.¹¹⁰

Constipação

A constipação é um problema frequente na infância, sobre a qual os prebióticos e probióticos podem ter uma influência positiva sobre a microbiota intestinal, com um efeito sobre a consistência e frequência das fezes. Infelizmente, os resultados dos estudos são contraditórios. Em um ensaio aberto, a *B. breve* foi eficaz no aumento da frequência das fezes em crianças com constipação funcional.¹¹¹ Adicionalmente, teve um efeito positivo sobre a consistência das fezes, reduziu o número de episódios de incontinência fecal e diminuiu a dor abdominal.¹¹¹ Em outro ensaio aberto, uma mistura de probióticos (Ecologic Relief®, Winlove Pro Biotics, Países Baixos) com *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *L. casei*, *L. plantarum* e *L. rhamnosus* mostrou efeitos positivos sobre os sintomas da constipação.¹¹² A *L. rhamnosus* Lcr35 foi eficaz no tratamento de crianças com constipação crônica.¹¹³ Foi relatado que a *B. lactis* não foi eficaz na constipação.^{94,114} A *L. reuteri* DSM 17938 mostrou um efeito positivo sobre a frequência intestinal de crianças com constipação crônica, mesmo quando não houve melhoria na consistência das fezes e nos episódios de choro inconsolável.¹¹⁵ Um estudo brasileiro mostrou uma influência positiva do iogurte sobre a frequência das fezes, com um efeito adicional do iogurte suplementado com *B. longum*.¹¹⁶ Em crianças constipadas, o produto lácteo fermentado com *B. animalis* subsp. *lactis* DN-173 010 não aumentou a frequência das fezes, porém esse aumento foi comparável no grupo controle.¹¹⁷ Atualmente, não existe comprovação suficiente para recomendar o uso de

produtos lácteos fermentados com cepa DN-173 010 nessa categoria de pacientes.¹¹⁷ Não foi encontrada comprovação de qualquer efeito para suplementos líquidos, prebióticos, probióticos ou intervenção comportamental.¹¹⁸ Os probióticos não têm efeitos comprovados sobre crianças com constipação funcional.¹⁰⁴ Até que mais dados sejam oferecidos, os probióticos devem ser considerados em investigação para o tratamento da constipação.¹¹⁹

Enterocolite necrosante

A enterocolite necrosante (ECN) é uma doença grave que ocorre principalmente em bebês prematuros. Levantou-se a hipótese de que o desenvolvimento anormal da microbiota gastrointestinal é um dos possíveis fatores etiológicos. A primeira publicação a relatar que a *L. acidophilus* e a *B. infantis* reduziram a ECN é datada de 1999.¹²⁰ Isso ocorreu após um estudo negativo ter mostrado que sete dias de suplementação com *L. rhamnosus* GG, com início na primeira alimentação, não foram eficazes na redução da incidência de infecção do trato urinário, ECN e sepse em neonatos prematuros.¹²¹ Então, vários ensaios randomizados com diferentes lactobacilos e bifidobactérias mostraram uma redução significativa no desenvolvimento da ECN.^{122,123} Apesar de ter sido mostrado que a *S. boulardii* melhora a ECN induzida por hipóxia/reoxigenação em ratos jovens,¹²⁴ ela não protege os neonatos contra a ECN.¹²⁵ Uma revisão Cochrane concluiu, em 2008, que a suplementação enteral com probióticos reduz a incidência de ECN estágio II ou mais e mortalidade.¹²⁶ Infecções sistêmicas ou eventos adversos graves não foram diretamente atribuídos ao micro-organismo probiótico administrado.¹²⁶ De acordo com os ensaios publicados, o número necessário a ser tratado para prevenir um caso de ECN é 21 e 27.¹²⁶ Contudo, os centros nos quais esses ensaios foram feitos têm uma incidência muito maior de ECN do que grande parte dos centros europeus e americanos. A recomendação poderá ser diferente em centros com uma incidência elevada de ECN, nos quais as outras medidas para reduzir a ECN são difíceis de ser aplicadas. A revisão Cochrane atualizada de 2011 mostra conclusões diferentes: a suplementação enteral de probióticos previne ECN grave e todas as causas de mortalidade em neonatos prematuros.¹²⁷ A revisão atualizada da comprovação disponível justifica uma alteração na prática. São necessários mais estudos para avaliar a eficácia em neonatos com extremo baixo peso ao nascer e para avaliar a formulação e a dose mais eficazes a serem usadas.¹²⁷ O debate a respeito de se administrar ou não sistematicamente probióticos a prematuros continua até hoje. A análise sistemática da Associação Americana de Cirurgia Pediátrica e do Comitê de Ensaios Clínicos concluída em 2012 reconhece que a revisão Cochrane apoia o uso de probióticos profiláticos em neonatos prematuros com menos de 2.500 gramas para reduzir a incidência de ECN, bem como o uso de leite materno em vez de fórmula quando possível. Não existe comprovação clara para justificar o início postergado ou o avanço lento dos alimentos.¹²⁸ Contudo, um grupo de especialistas em nutrição e neonatologistas concluiu que não existe comprovação suficiente para recomendar o uso rotineiro de probióticos para reduzir a ECN.¹²⁹ De acordo com esse grupo, existem dados encorajadores que

justificam a investigação adicional com relação à eficácia e segurança de probióticos específicos em circunstâncias de alta incidência local de ECN grave.¹²⁹ De acordo com outros, as comprovações disponíveis ainda são muito limitadas para recomendar probióticos na redução da ECN.¹³⁰ Outros especialistas sugerem que pode ser antiético não administrar probióticos em bebês prematuros na redução da ECN.¹³¹ A suplementação enteral de probióticos previne ECN grave e todas as causas de mortalidade em neonatos prematuros.¹³²

Cólica

A cólica é um problema frequente em neonatos e os pais normalmente buscam desesperadamente uma solução. Nessa indicação, o efeito da *L. reuteri* tem sido exaustivamente estudado em neonatos amamentados.¹³³⁻¹³⁵ Contudo, dados recentes sugerem que os neonatos que receberam o mesmo probiótico choram 50 minutos mais do que os que receberam placebo.¹³⁶ Dupont et al. relataram a eficácia de outra cepa probiótica em neonatos alimentados por fórmula.¹³⁷ Um sachê simbiótico com um bilhão de CFU de: *L. casei*, *L. rhamnosus*, *Str. thermophilus*, *B. breve*, *L. acidophilus*, *B. infantis*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e fruto-oligossacarídeos mostrou-se eficaz na redução da cólica em bebês amamentados em comparação com o placebo.¹³⁸

Alergia e dermatite atópica

Um tratamento simultâneo com probióticos e prebióticos (uma mistura de quatro cepas e galacto-oligossacarídeos) dado a mulheres grávidas por duas-quatro semanas antes do parto e aos neonatos por seis meses, em comparação com o placebo, não mostrou efeito sobre a incidência acumulada de doenças alérgicas aos dois anos, porém mostrou uma tendência de redução das doenças associadas à IgE (atópica), pois foi observada uma redução significativa do eczema (atópico).¹³⁹ Contudo, Taylor et al. contestaram o papel dos probióticos na prevenção de alergias, pois constataram que a suplementação probiótica precoce com *L. acidophilus* não reduz o risco de dermatite atópica (DA) em neonatos de alto risco e nem mesmo foi associada a um aumento da sensibilização alérgica em neonatos que recebem suplementos.¹⁴⁰ Uma revisão Cochrane de 2007 concluiu que não houve comprovação suficiente para recomendar o acréscimo de probióticos à alimentação dos neonatos para prevenir doenças alérgicas ou hipersensibilidade alimentar.¹⁴¹ Apesar de ter havido uma redução no eczema clínico nos neonatos, esse efeito não foi compatível entre os estudos e foi aconselhado cautela em virtude das preocupações metodológicas com relação aos estudos incluídos.¹⁴² Contudo, a eficácia da intervenção probiótica na redução da dermatite atópica e/ou doença alérgica pode depender do momento da intervenção. A administração preventiva dos probióticos pode ser eficaz apenas se durante a gravidez. Os probióticos administrados a mães não selecionadas reduziram a incidência cumulativa da DA, porém não apresentaram efeito sobre a sensibilização atópica.¹⁴² Uma metanálise recente mostrou que a administração de lactobacilos durante a gravidez preveniu o surgimento de eczema atópico em crianças entre dois e sete anos.¹⁴³

Contudo, uma mistura de várias cepas de bactérias não afeta o desenvolvimento de eczema atópico, independentemente de conterem lactobacilos ou não.¹⁴³ A *L. rhamnosus* HN001 mostrou-se eficaz contra o eczema nos primeiros dois anos de vida e persistiu aos quatro, ao passo que a *B. animalis* subsp. *lactis* HN019 não apresentou efeito.¹⁴⁴ Portanto, não apenas o momento da administração parece ser importante, mas também a especificidade da cepa. Contudo, o momento da administração e a especificidade da cepa foram, então, novamente contraditos pela metanálise de Pelucchi et al., que sustentaram um papel moderado dos probióticos na prevenção da dermatite atópica e da dermatite atópica associada à IgE em neonatos, porém desconsideraram o momento de uso dos probióticos (gravidez ou início da vida) ou o(s) indivíduo(s) que recebeu(ram) os probióticos (mãe, criança ou ambos).¹⁴⁵ Os dados sobre os probióticos e sobre as alergias precisam de esclarecimento adicional, pois são de certa forma contraditórios. Pode ser que as diferenças geográficas ou genéticas desempenhem um papel prejudicial, principalmente na dermatite atópica.

Noventa neonatos com dermatite atópica e idade < sete meses foram randomizados para receber uma fórmula infantil com *B. breve* M-16V e uma mistura de galacto-oligosacarídeos de cadeia curta e fruto-oligosacarídeos de cadeia longa ou a mesma fórmula sem simbióticos durante 12 semanas.¹⁴⁶ Não houve diferenças significativas entre o simbiótico e o grupo placebo.¹⁴⁶ O mesmo grupo mostrou que os simbióticos previnem os sintomas da asma em neonatos com DA.¹⁴⁷ Ao mesmo tempo, outro grupo relatou que uma combinação simbiótica de *L. salivarius* mais fruto-oligosacarídeos é superior ao prebiótico sozinho no tratamento da DA infantil moderada a grave.¹⁴⁸ Apesar de alguns estudos com probióticos como tratamento da DA mostrarem um benefício,¹⁴⁹ grande parte dos estudos é negativa. Nenhum benefício foi relatado a partir da suplementação com *B. animalis* subsp. *lactis* ou *L. paracasei* no tratamento de eczema, quando fornecida como um adjuvante ao tratamento tópico básico, e não houve efeito sobre a progressão da doença alérgica nos indivíduos entre um e três anos.¹⁵⁰ Grande parte das análises conclui que os probióticos não são eficazes na redução da dermatite atópica. Esses resultados contraditórios são sugestivos de especificidade da cepa ou influência genética sobre a eficácia dos probióticos em crianças com dermatite atópica. Uma análise de 13 estudos de probióticos no tratamento de eczema estabelecido não mostrou comprovação convincente de benefícios clinicamente válidos.¹⁵¹ Contudo, de acordo com uma metanálise recente, o resultado geral sugere que os probióticos podem ser uma opção para o tratamento de dermatite atópica, principalmente dermatite atópica moderada a grave, e nenhuma comprovação que sustentasse o papel benéfico dos probióticos em neonatos foi encontrada.¹⁵²

Infecções extraintestinais e outros efeitos

Nenhum estudo pediátrico demonstrou efeitos benéficos definidos da administração de probióticos no tratamento de infecções extraintestinais, como infecções respiratórias ou otite média.^{88,153} Não existe comprovação de que os probióticos reduzem infecções extraintestinais. Há certa

comprovação de que alguns lactobacilos podem prevenir infecções urinárias recorrentes em mulheres. Contudo, os dados em crianças são escassos. O mesmo é verdade para vulvovaginite recorrente. Sazawal et al. mostraram que leite enriquecido com prebióticos e probióticos impediu o surgimento de morbidades dentre as crianças em um ensaio clínico controlado e randomizado em uma comunidade.¹⁵⁴

A candidíase representa 10-20% das infecções sanguíneas nas unidades de terapia intensiva pediátricas (UTIPs) e um aumento significativo na morbidez, na mortalidade e no tempo de internação.¹⁵⁵ Poucos estudos demonstraram que os probióticos conseguem impedir a excrecência e colonização da *Candida* em neonatos, ao passo que seu papel na prevenção de candidíase invasiva nesses pacientes ainda é incerto.¹⁵⁵

Fitases purificadas de *B. longum* subsp. *infantis* e *B. pseudocatenulatum* reduzem o conteúdo do fitato em comparação com as amostras controle (não tratadas ou tratadas com fitase fúngica) e levaram a um aumento nos níveis de trifosfato de mioinositol.¹⁵⁶ Esse é o primeiro exemplo da aplicação de fitases purificadas de bifidobactérias no processamento de alimentos e mostra o potencial dessas enzimas a serem usadas em produtos para consumo humano.¹⁵⁶ As bactérias do ácido láctico melhoram a síntese de vitaminas B2, B11 e B12 e têm possíveis estratégias para aumentar o teor de vitamina B em produtos à base de cereais.¹⁵⁷ A bactéria *L. produtora* de vitaminas tem levado à elaboração de novos alimentos funcionais fermentados.¹⁵⁷

Atualmente, a obesidade pandêmica é assunto de interesse em todos os países desenvolvidos e em desenvolvimento. O tratamento com probióticos muda seletivamente a composição da microbiota intestinal em favor de um gene específico e até mesmo de uma cepa específica. Poucos estudos de intervenção com probióticos em pessoas com sobrepeso ou obesas foram publicados até hoje e grande parte deles foca em *L.* ou *B.* A administração de uma cepa de *L. gasseri* em pacientes obesos e com diabetes tipo 2 mostrou reduzir o índice de massa de gordura (visceral e subcutânea) e de massa corporal.¹⁵⁸ Além disso, Andreasen et al. demonstraram que a administração de *Lactobacillus spp.* afeta positivamente a sensibilidade à insulina.¹⁵⁹ Uma comprovação atrativa sugere que a modulação da microbiota intestinal com probióticos reduz o índice de massa corporal em crianças e limita o ganho de peso excessivo durante os primeiros anos de vida (até 10 anos de acompanhamento).¹⁶⁰ Até agora, apenas poucos dados estão disponíveis a respeito da possível aplicação dos lactobacilos ou bifidobactérias para neutralizar a adiposidade.

Transplante de microbiota fecal

Uma nova abordagem em aplicações terapêuticas microbianas é o transplante de microbiota intestinal, principalmente em condições de difícil tratamento de situações nas quais se sabe que a microbiota fecal é anormal.^{161,162} Os efeitos colaterais observados justificam a cautela na busca contínua por essa opção de tratamento.¹⁶² Existe comprovação de que várias doenças estão relacionadas à disbiose intestinal. Consequentemente, a manipulação da microbiota intestinal é uma abordagem terapêutica muito atrativa. Contudo, os resultados normalmente são negativos,¹⁶² apesar de

resultados positivos terem sido relatados.¹⁶³ A microbiota transplantada deve ser cuidadosamente selecionada para patógenos.¹⁶⁴ Bacteremia foi relatada com um evento adverso.¹⁶⁵ Contudo, foi relatada a primeira cura da colite de início precoce após transplante de microbiota fecal.¹⁶⁶ Estudos adicionais devem agora focar nos motivos para sucesso e falha.

Segurança e efeitos colaterais

Os probióticos têm um extenso histórico de segurança, relacionado principalmente ao uso de lactobacilos e bifidobactérias.¹⁶⁷ A experiência com outros micro-organismos usados como probióticos é mais limitada. Não existe isso de risco zero, principalmente no contexto de determinadas formas de susceptibilidade do hospedeiro.¹⁶⁷ Os probióticos “geralmente são considerados seguros” e seus efeitos colaterais no atendimento ambulatorial quase não foram relatados. Grandes estudos epidemiológicos em países onde o uso de probióticos é endêmico demonstram (em adultos) baixas taxas de infecção sistêmica, entre 0,05 e 0,40%.¹⁶⁸ A administração durante a gravidez e primeira infância é considerada segura.¹⁶⁹ Os componentes dos probióticos podem conter alérgenos ocultos de alimentos e podem não ser seguros para indivíduos com alergia a leite de vaca ou ovo de galinha.¹⁷⁰ Infecções invasivas documentadas foram notadas principalmente em adultos imunocomprometidos. Infecções invasivas em neonatos e crianças são extremamente raras.¹⁷¹⁻¹⁷³ Dois casos de bacteremia atribuíveis à suplementação com lactobacilos com isolados clínicos e de suplementos genotipicamente idênticos foram relatadas recentemente em um neonato e em uma criança sem doença gastrointestinal subjacente ou condição de imunocomprometimento.¹⁷⁴ Foi relatada sepsis com lactobacilos probióticos em crianças com intestino curto. Recentemente, a transferência de plasmídeos resistentes a antibióticos mostrou-se clinicamente possível. O uso de longo prazo de probióticos sob pressão de seleção de antibióticos pode causar resistência antibiótica e o gene resistente pode ser transferido para outras bactérias.¹⁷⁵ Não foi relatada translocação do trato gastrointestinal na circulação sistêmica. Há um pobre conhecimento do público do conceito de risco, em geral, e da análise de risco/benefício, em particular.¹⁶⁸ A incerteza com relação ao potencial de transferência da resistência antibiótica com probióticos persiste, porém o risco parece ser baixo com os produtos probióticos disponíveis atualmente.¹⁶⁸ Como com outras formas terapêuticas, a segurança dos probióticos deve ser considerada de cepa para cepa.¹⁶⁸ Os possíveis benefícios da suplementação devem ser pesados em relação ao risco de desenvolvimento de uma infecção invasiva resultante da terapia probiótica.

Conclusão

Os probióticos entraram na corrente principal de saúde. A microbiota gastrointestinal é essencial para o desenvolvimento do sistema imunológico. Apesar de as principais indicações do uso médico dos probióticos ainda serem na área de prevenção e tratamento de doenças gastrointestinais, gradualmente mais comprovações são coletadas sobre

as indicações extraintestinais, como vaginite, dermatite atópica e infecções respiratórias. Ensaios clínicos controlados e randomizados com o produto vendido nas indicações alegadas são obrigatórios antes do uso de um produto ser recomendado. Hoje, a *L. rhamnosus* GG e *S. boulardii* são as melhores cepas estudadas, apesar de a literatura recente fornecer muitas informações positivas sobre a *L. reuteri*. Apesar de efeitos adversos terem sido esporadicamente relatados, os probióticos podem ser considerados seguros. O uso inadequado e produtos não validados constituem possíveis desvantagens.

Conflitos de interesse

Yvan Vandenplas é consultor da Biocodex e da United Pharmaceuticals. Os outros autores não relataram possíveis conflitos de interesse.

Referências

1. Food and Agriculture Organization (FAO). World Health Organization (WHO). Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 1-4 October 2001, Córdoba, Argentina. [cited 18 Aug 2014]. Available from: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf
2. Food and Agriculture Organization (FAO). World Health Organization (WHO). Report of a Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. April 30, May 1; London Ontario, Canada; 2002. [cited 18 Aug 2014]. Available from: <ftp://ftp.fao.org/esn/food/wgreport2.pdf>
3. Ashwell M. Concepts of functional foods. Brussels: International Life Sciences Institute (ILSI) Europe; 2002.
4. European Food, Feed Cultures Association (EFFCA). Definition of microbial food culture (MFC). Brussels: EFFCA; 2003.
5. Vandenplas Y. Author's reply: Identification of probiotics by specific strain name. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35:860.
6. European Parliament and Council. Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Official Journal of the European Union.* OJ L 404, 30.12.2006. Corrigendum OJ L 12, 18.1.2007, p. 3-18. [cited 18 Aug 2014]. Available from: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Cor_Reg1924_2006.pdf
7. Huys G, Vancanneyt M, D'Haene K, Vankerckhoven V, Goossens H, Swings J. Accuracy of species identity of commercial bacterial cultures intended for probiotic or nutritional use. *Res Microbiol.* 2006;157:803-10.
8. Sanders ME. Probiotics: considerations for human health. *Nutr Rev.* 2003;61:91-9.
9. Stamatova I, Meurman JH. Probiotics: health benefits in the mouth. *Am J Dent.* 2009;22:329-38.
10. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci.* 2005;113:188-96.
11. Hoelsl CE, Altwein JE. The probiotic approach: an alternative treatment option in urology. *Eur Urol.* 2005;47:288-96.
12. Barrons R, Tassone D. Use of *Lactobacillus* probiotics for bacterial genitourinary infections in women: a review. *Clin Ther.* 2008;30:453-68.
13. Reid G, Bocking A. The potential for probiotics to prevent bacterial vaginosis and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189:1202-8.

14. Falagas ME, Betsi GI, Tokas T, Athanasiou S. Probiotics for prevention of recurrent urinary tract infections in women: a review of the evidence from microbiological and clinical studies. *Drugs*. 2006;66:1253–61.
15. Hacini-Rachinel F, Gheit H, Le Ludeuc JB, Dif F, Nancey S, Kaiserlian D. Oral probiotic control skin inflammation by acting on both effector and regulatory T cells. *PLoS One*. 2009;4:e4903.
16. Caramia G1, Atzei A, Fanos V. Probiotics and the skin. *Clin Dermatol*. 2008;26:4–11.
17. Hojsak I, Abdović S, Szajewska H, Milosević M, Krznarić Z, Kolacek S. *Lactobacillus* G.G. in the prevention of nosocomial gastrointestinal and respiratory tract infections. *Pediatrics*. 2010;125:e1171–7.
18. Possemiers S, Marzorati M, Verstraete W, Van de Wiele T. Bacteria and chocolate: a successful combination for probiotic delivery. *Int J Food Microbiol*. 2010;141:97–103.
19. Pereg D, Kimhi O, Tirosh A, Orr N, Kayouf R, Lishner M. The effect of fermented yogurt on the prevention of diarrhea in a healthy adult population. *Am J Infect Control*. 2005;33:122–5.
20. Magalhães KT, Pereira MA, Nicolau A, Dragone G, Domingues L, Teixeira JA, et al. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: evaluation of morphological and microbial variations. *Bioresour Technol*. 2010;101:8843–50.
21. Steidler L, Hans W, Schotte L, Neirynek S, Obermeier F, Falk W, et al. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science*. 2000;289:1352–5.
22. Foligne B, Dessein R, Marceau M, Poiret S, Chamaillard M, Pot B, et al. Prevention and treatment of colitis with *Lactococcus lactis* secreting the immunomodulatory Yersinia LcrV protein. *Gastroenterology*. 2007;133:862–74.
23. Kumar M, Nagpal R, Verma V, Kumar A, Kaur N, Hemalatha R, et al. Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer. *Nutr Rev*. 2013;71:23–34.
24. Huseini HF, Rahimzadeh G, Fazeli MR, Mehrazma M, Salehi M. Evaluation of wound healing activities of kefir products. *Burns*. 2012;38:719–23.
25. Cook MT, Tzortzis G, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy VV. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *J Control Release*. 2012;162:56–67.
26. Kumar M, Nagpal R, Kumar R, Hemalatha R, Verma V, Kumar A, et al. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:902917.
27. Van den Abbeele P, Grootaert C, Possemiers S, Verstraete W, Verbeke K, et al. *In vitro* model to study the modulation of the mucin-adhered bacterial community. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2009;83:349–59.
28. Macfarlane S, Furrie E, Kennedy A, Cummings JH, Macfarlane GT. Mucosal bacteria in ulcerative colitis. *Br J Nutr*. 2005;93:567–72.
29. Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011;140:1720–8.
30. Lebeer S, Claes I, Tytgat HL, Verhoeven TL, Marien E, von Ossowski I, et al. Functional analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG pili in relation to adhesion and immunomodulatory interactions with intestinal epithelial cells. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78:185–93.
31. Nagao F, Nakayama M, Muto T, Okumura K. Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the immune system in healthy human subjects. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2000;64:2706–8.
32. Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A, Meurman JH, Poussa T, Näse L, et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ*. 2001;322:1327.
33. Makino S, Ikegami S, Kume A, Horiuchi H, Sasaki H, Orii N. Reducing the risk of infection in the elderly by dietary intake of yoghurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *Br J Nutr*. 2010;104:998–1006.
34. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent*. 2008;18:3–10.
35. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res*. 2001;35:412–20.
36. Sarantos SR. The importance of probiotic supplementation in conjunction with orthodontic therapy. *J N J Dent Assoc*. 2006;77:10–3.
37. Reid G, Beuerman D, Heinemann C, Bruce AW. Probiotic *Lactobacillus* dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2001;32:37–41.
38. Rossi A, Rossi T, Bertini M, Caccia G. The use of *Lactobacillus rhamnosus* in the therapy of bacterial vaginosis Evaluation of clinical efficacy in a population of 40 women treated for 24 months. *Arch Gynecol Obstet*. 2010;281:1065–9.
39. Andreeva P, Dimitrov A. The probiotic *Lactobacillus acidophilus* – an alternative treatment of bacterial vaginosis. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2002;41:29–31.
40. Cats A, Kuipers EJ, Bosschaert MA, Pot RG, Vandenbroucke-Grauls CM, Kusters JG. Effect of frequent consumption of a *Lactobacillus casei*-containing milk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;17:429–35.
41. Ushiyama A, Tanaka K, Aiba Y, Shiba T, Takagi A, Mine T, et al. *Lactobacillus gasseri* OLL2716 as a probiotic in clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003;18:986–91.
42. Collado MC, González A, González R, Hernández M, Ferrús MA, Sanz Y. Antimicrobial peptides are among the antagonistic metabolites produced by *Bifidobacterium* against *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;25:385–91.
43. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D. Probiotics reduce the risk of necrotizing enterocolitis in preterm infants: a meta-analysis. *Neonatology*. 2010;97:93–9.
44. Weber TK, Polanco I. Gastrointestinal microbiota and some children diseases: a review. *Gastroenterol Res Pract*. 2012;2012:676585.
45. Santos F, Vera JL, Van der Heijden R, Valdez G, De Vos WM, Sesma F, et al. The complete coenzyme B12 biosynthesis gene cluster of *Lactobacillus reuteri* CRL1098. *Microbiology*. 2008;154:81–93.
46. Fabian E, Majchrzak D, Dieminger B, Meyer E, Elmadfa I. Influence of probiotic and conventional yoghurt on the status of vitamins B1 B2 and B6 in young healthy women. *Ann Nutr Metab*. 2008;52:29–36.
47. de Vrese M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotics – compensation for lactase insufficiency. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:421S–9S.
48. Sousa T, Paterson R, Moore V, Carlsson A, Abrahamsson B, Basit AW. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. *Int J Pharm*. 2008;363:1–25.
49. Fischbach MA. Antibiotics from microbes: converging to kill. *Curr Opin Microbiol*. 2009;12:520–7.
50. Gorissen L, Raes K, Weckx S, Dannenberger D, Leroy F, De Vuyst L, et al. Production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid isomers by *Bifidobacterium* species. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010;87:2257–66.
51. Ando A, Ogawa J, Kishino S, Shimizu S. CLA production from ricinoleic acid by lactic acid bacteria. *J Am Oil Chem Soc*. 2003;80:889–94.
52. Decroos K, Vanhemmens S, Cattoir S, Boon N, Verstraete W. Isolation and characterisation of an equol-producing mixed microbial culture from a human faecal sample and

- its activity under gastrointestinal conditions. Arch Microbiol. 2005;183:45–55.
53. Possemiers S, Rabot S, Espín JC, Bruneau A, Philippe C, González-Sarriás A, et al. *Eubacterium limosum* activates iso-xanthohumol from hops (*Humulus lupulus* L.) into the potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin *in vitro* and in rat intestine. J Nutr. 2008;138:1310–6.
 54. Hamilton-Miller JM. Probiotics and prebiotics in the elderly. Postgrad Med J. 2004;80:447–51.
 55. Borthakur A, Gill RK, Tyagi S, Koutsouris A, Alrefai WA, Hecht GA, et al. The probiotic *Lactobacillus acidophilus* stimulates chloride/hydroxyl exchange activity in human intestinal epithelial cells. J Nutr. 2008;138:1355–9.
 56. De Boever P, Wouters R, Verschaeve L, Berckmans P, Schoeters G, Verstraete W. Protective effect of the bile salt hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* against bile salt cytotoxicity. Appl Microbiol Biotechnol. 2000;53:709–14.
 57. De Smet I, De Boever P, Verstraete W. Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. Br J Nutr. 1998;79:185–94.
 58. Gratz S, Mykkänen H, Ouwehand AC, Juvonen R, Salminen S, El-Nezami H. Intestinal mucus alters the ability of probiotic bacteria to bind aflatoxin B1 *in vitro*. Appl Environ Microbiol. 2004;70:6306–8.
 59. Kabeerdoss J, Devi RS, Mary RR, Prabhavathi D, Vidya R, Mechenro J, et al. Effect of yoghurt containing *Bifidobacterium lactis* Bb12® on faecal excretion of secretory immunoglobulin A and human beta-defensin 2 in healthy adult volunteers. Nutr J. 2011;10:138.
 60. Ghadimi D, Fölster-Holst R, de Vrese M, Winkler P, Heller KJ, Schrezenmeir J. Effects of probiotic bacteria and their genomic DNA on TH1/TH2-cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy and allergic subjects. Immunobiology. 2008;213:677–92.
 61. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. Lancet. 1994;344:1046–9.
 62. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armańska M, Mikolajczyk W. Efficacy of *Lactobacillus* GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants. J Pediatr. 2001;138:361–5.
 63. Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Balbo L, Russo R, Mazzacara A, et al. Effect of *Lactobacillus* GG and breast-feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2002;35:527–31.
 64. Szajewska H, Setty M, Mrukowicz J, Guandalini S. Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2006;42:454–75.
 65. Agustina R, Kok FJ, van de Rest O, Fahmida U, Firmansyah A, Lukito W, et al. Randomized trial of probiotics and calcium on diarrhea and respiratory tract infections in Indonesian children. Pediatrics. 2012;129:e1155–64.
 66. Guandalini S. Probiotics for prevention and treatment of diarrhea. J Clin Gastroenterol. 2011;45:S149–53.
 67. Szajewska H, Mrukowicz JZ. Use of probiotics in children with acute diarrhea. Paediatr Drugs. 2005;7:111–22.
 68. Chouraqui JP, Van Egroo LD, Fichot MC. Acidified milk formula supplemented with *Bifidobacterium lactis*: impact on infant diarrhea in residential care settings. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004;38:288–92.
 69. Thibault H, Aubert-Jacquín C, Goulet O. Effects of long-term consumption of a fermented infant formula (with *Bifidobacterium breve* c50 and *Streptococcus thermophilus* 065) on acute diarrhea in healthy infants. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004;39:147–52.
 70. Wanke M, Szajewska H. Lack of an effect of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in preventing nosocomial diarrhea in children: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Pediatr. 2012;161:40–3.
 71. Gutierrez-Castrellon P, Lopez-Velazquez G, Diaz-Garcia L, Jimenez-Gutierrez C, Mancilla-Ramirez J, Estevez-Jimenez J, et al. Diarrhea in preschool children and *Lactobacillus reuteri*: a randomized controlled trial. Pediatrics. 2014;133:e904–9.
 72. Vandenplas Y. *Lactobacillus reuteri* is an effective option for the prevention of diarrhoea in preschool children but may not be cost-effective in all settings. Evid Based Med. 2014.
 73. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014;58:531–9.
 74. Lund B, Edlund C. Probiotic *Enterococcus faecium* strain is a possible recipient of the vanA gene cluster. Clin Infect Dis. 2001;32:1384–5.
 75. Dinleyici EC, PROBAGE Study Group. Vandenplas Y. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 effectively reduces the duration of acute diarrhoea in hospitalised children. Acta Paediatr. 2014;103:e300–5.
 76. Szajewska H, Urbańska M, Chmielewska A, Weizman Z, Shamir R. Meta-analysis: *Lactobacillus reuteri* strain DSM 17938 (and the original strain ATCC 55730) for treating acute gastroenteritis in children. Benef Microbes. 2014;5:285–93.
 77. Hegar B, Waspada IM, Gunardi H, Vandenplas Y. A double blind randomized trial showing probiotics to be ineffective in acute diarrhea in Indonesian children. Indian J Pediatr. 2014 [Epub ahead of print].
 78. Vandenplas Y, De Hert S. Probiotal study group Cost/benefit of synbiotics in acute infectious gastroenteritis: spend to save. Benef Microbes. 2012;3:189–94.
 79. Phavichitr N, Puwdee P, Tantibhaedhyangkul R. Cost-benefit analysis of the probiotic treatment of children hospitalized for acute diarrhea in Bangkok, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2013;44:1065–71.
 80. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, Wang Z, Miles JN, Shanman R, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. JAMA. 2012;307:1959–69.
 81. Vidlock EJ, Cremonini F. Meta-analysis: probiotics in antibiotic-associated diarrhoea. Aliment Pharmacol Ther. 2012;35:1355–69.
 82. Szawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. Lancet Infect Dis. 2006;6:374–82.
 83. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. Am J Gastroenterol. 2006;101:812–22.
 84. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. Cochrane Database Syst Rev. 2011;(11):CD004827.
 85. Tung JM, Dolovich LR, Lee CH. Prevention of *Clostridium difficile* infection with *Saccharomyces boulardii*: a systematic review. Can J Gastroenterol. 2009;23:817–21.
 86. Pozzoni P, Riva A, Bellatorre AG, Amigoni M, Redaelli E, Ronchetti A, et al. *Saccharomyces boulardii* for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in adult hospitalized patients: a single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Am J Gastroenterol. 2012;107:922–31.
 87. McFarland LV, Goh S. Preventing pediatric antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections with probiotics: a meta-analysis. World J Meta-Anal. 2013;1:102–20.
 88. Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, 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.* 2011;52:238–50.
89. Katelaris PH, Salam I, Farthing MJ. *Lactobacilli* to prevent traveler's diarrhea? *N Engl J Med.* 1995;333:1360–1.
 90. Hilton E, Kolakowski P, Singer C, Smith M. Efficacy of *Lactobacillus* GG as a diarrheal preventive in travelers. *J Travel Med.* 1997;4:41–3.
 91. Oksanen PJ, Salminen S, Saxelin M, Hämäläinen P, Ihantola-Vormisto A, Muurasniemi-Isoviita L, et al. Prevention of travelers' diarrhoea by *Lactobacillus* GG. *Ann Med.* 1990;22:53–6.
 92. Kollaritsch H. Traveller's diarrhea among Austrian tourists to warm climate countries: II Clinical features. *Eur J Epidemiol.* 1989;5:355–62.
 93. McFarland LV. Probiotics and diarrhea. *Ann Nutr Metab.* 2010;57:10–1.
 94. Ibnou-Zekri N, Blum S, Schiffrin EJ, Von der Weid T. Divergent patterns of colonization and immune response elicited from two intestinal *Lactobacillus* strains that display similar properties in vitro. *Infect Immun.* 2003;71:428–36.
 95. DuPont HL, Ericsson CD, Farthing MJ, Gorbach S, Pickering LK, Rombo L, et al. Expert review of the evidence base for prevention of travelers' diarrhea. *J Travel Med.* 2009;16:149–60.
 96. Huertas-Ceballos AA, Logan S, Bennett C, Macarthur C. Dietary interventions for recurrent abdominal pain (RAP) and irritable bowel syndrome (IBS) in childhood. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;(1):CD003019.
 97. Bausserman M, Michail S. The use of *Lactobacillus* GG in irritable bowel syndrome in children: a double-blind randomized control trial. *J Pediatr.* 2005;147:197–201.
 98. Francavilla R, Miniello V, Magistà AM, De Canio A, Bucci N, Gagliardi F, et al. A randomized controlled trial of *Lactobacillus* GG in children with functional abdominal pain. *Pediatrics.* 2010;126:e1445–52.
 99. Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H. Meta-analysis: *Lactobacillus* rhamnosus GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33:1302–10.
 100. Guandalini S, Magazzù G, Chiaro A, La Balestra V, Di Nardo G, Gopalan S, et al. VSL#3 improves symptoms in children with irritable bowel syndrome: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;51:24–30.
 101. Vivatvakín B, Mahayosnond A, Theamboonlers A, Steenhout PG, Conus NJ. Effect of a whey-predominant starter formula containing LCPUFAs and oligosaccharides (FOS/GOS) on gastrointestinal comfort in infants. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2010;19:473–80.
 102. Khoshoo V, Sun SS, Storm H. Tolerance of an enteral formula with insoluble and prebiotic fiber in children with compromised gastrointestinal function. *J Am Diet Assoc.* 2010;110:1728–33.
 103. Piirainen L, Kekkonen RA, Kajander K, Ahlroos T, Tynkkynen S, Nevala R, et al. In school-aged children a combination of galacto-oligosaccharides and *Lactobacillus* GG increases bifidobacteria more than *Lactobacillus* GG on its own. *Ann Nutr Metab.* 2008;52:204–8.
 104. Korterink JJ, Ockeloen L, Benninga MA, Tabbers MM, Hilbink M, Deckers-Kocken JM. Probiotics for childhood functional gastrointestinal disorders: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr.* 2014;103:365–72.
 105. Yang YJ, Sheu BS. Probiotics-containing yogurts suppress *Helicobacter pylori* load and modify immune response and intestinal microbiota in the *Helicobacter pylori*-infected children. *Helicobacter.* 2012;17:297–304.
 106. Szajewska H, Horvath A, Piwowarczyk A. Meta-analysis: the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during treatment. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32:1069–79.
 107. Szajewska H, Albrecht P, Topczewska-Cabane A. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial: effect of lactobacillus GG supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during treatment in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;48:431–6.
 108. Malfertheiner P, Selgrad M, Bornschein J. *Helicobacter pylori*: clinical management. *Curr Opin Gastroenterol.* 2012;28:608–14.
 109. Wilhelm SM, Johnson JL, Kale-Pradhan PB. Treating bugs with bugs: the role of probiotics as adjunctive therapy for *Helicobacter pylori*. *Ann Pharmacother.* 2011;45:960–6.
 110. Li S, Huang XL, Sui JZ, Chen SY, Xie YT, Deng Y, et al. Meta-analysis of randomized controlled trials on the efficacy of probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy in children. *Eur J Pediatr.* 2014;173:153–61.
 111. Tabbers MM, de Milliano I, Roseboom MG, Benninga MA. Is *Bifidobacterium breve* effective in the treatment of childhood constipation? Results from a pilot study. *Nutr J.* 2011;10:19.
 112. Bekkali NL, Bongers ME, Van den Berg MM, Liem O, Benninga MA. The role of a probiotics mixture in the treatment of childhood constipation: a pilot study. *Nutr J.* 2007;6:17.
 113. Bu LN, Chang MH, Ni YH, Chen HL, Cheng CC. *Lactobacillus casei* rhamnosus Lcr35 in children with chronic constipation. *Pediatr Int.* 2007;49:485–90.
 114. Ritchie ML, Romanuk TN. A meta-analysis of probiotic efficacy for gastrointestinal diseases. *PLoS One.* 2012;7:e34938.
 115. Coccorullo P, Strisciuglio C, Martinelli M, Miele E, Greco L, Staiano A. *Lactobacillus reuteri* (DSM 17938) in infants with functional chronic constipation: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Pediatr.* 2010;157:598–602.
 116. Guerra PV, Lima LN, Souza TC, Mazochi V, Penna FJ, Silva AM, et al. Pediatric functional constipation treatment with *Bifidobacterium*-containing yogurt: a crossover, double-blind, controlled trial. *World J Gastroenterol.* 2011;17:3916–21.
 117. Tabbers MM, Chmielewska A, Roseboom MG, Crastes N, Perrin C, Reitsma JB, et al. Fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 in childhood constipation: a randomized, double-blind, controlled trial. *Pediatrics.* 2011;127:e1392–9.
 118. Tabbers MM, Boluyt N, Berger MY, Benninga MA. Nonpharmacologic treatments for childhood constipation: systematic review. *Pediatrics.* 2011;128:753–61.
 119. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: probiotics for functional constipation. *World J Gastroenterol.* 2010;16:69–75.
 120. Hoyos AB. Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* to neonates in an intensive care unit. *Int J Infect Dis.* 1999;3:197–202.
 121. Dani C, Biadaioli R, Bertini G, Martelli E, Rubaltelli FF. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study. *Biol Neonate.* 2002;82:103–8.
 122. Lin HC, Su BH, Chen AC, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics.* 2005;115:1–4.
 123. Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M, Kaplan M, Rudensky B, Caplan M, et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. *J Pediatr.* 2005;147:192–6.
 124. Akisu M, Baka M, Yalaz M, Huseyinov A, Kultursay N. Supplementation with *Saccharomyces boulardii* ameliorates hypoxia/reoxygenation-induced necrotizing enterocolitis in young mice. *Eur J Pediatr Surg.* 2003;13:319–23.
 125. Costalos C, Skouteri V, Gounaris A, Sevastidou S, Triandafilidou A, Ekonomidou C, et al. Enteral feeding of

- premature infants with *Saccharomyces boulardii*. *Early Hum Dev.* 2003;74:89–96.
126. Alfaleh K, Bassler D. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(1):CD005496.
 127. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D, Al-Kharfi T. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;(3):CD005496.
 128. Downard CD, Renaud E, St Peter SD, Abdullah F, Islam S, Saito JM, et al. Treatment of necrotizing enterocolitis: an American Pediatric Surgical Association Outcomes and Clinical Trials Committee systematic review. *J Pediatr Surg.* 2012;47:2111–22.
 129. Mihatsch WA, Braegger CP, Decsi T, Kolacek S, Lanzinger H, Mayer B, et al. Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Clin Nutr.* 2012;31:6–15.
 130. Fallon EM, Nehra D, Potemkin AK, Gura KM, Simpser E, Comphe C, et al. A.S.P.E.N. clinical guidelines: nutrition support of neonatal patients at risk for necrotizing enterocolitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2012;36:506–23.
 131. Janvier A, Lantos J, Barrington K. The politics of probiotics: probiotics, necrotizing enterocolitis and the ethics of neonatal research. *Acta Paediatr.* 2013;102:116–8.
 132. Alfaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;4:CD005496.
 133. Savino F, Pelle E, Palumeri E, Oggero R, Miniero R. *Lactobacillus reuteri* (American type culture collection strain 55730) versus simethicone in the treatment of infantile colic: a prospective randomized study. *Pediatrics.* 2007;119:e124–30.
 134. Savino F, Cordisco L, Tarasco V, Palumeri E, Calabrese R, Oggero R, et al. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics.* 2010;126:e526–33.
 135. Szajewska H, Gyrzczak E, Horvath A. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for the management of infantile colic in breastfed infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pediatr.* 2013;162:257–62.
 136. Sung V, Hiscock H, Tang ML, Mensah FK, Nation ML, Satzke C, et al. Treating infant colic with the probiotic *Lactobacillus reuteri*: double blind, placebo controlled randomised trial. *BMJ.* 2014;348:g2107.
 137. Dupont C, Rivero M, Grillon C, Belaroussi N, Kalindjian A, Marin V. Alpha-lactalbumin-enriched and probiotic-supplemented infant formula in infants with colic: growth and gastrointestinal tolerance. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64:765–7.
 138. Kianifar H, Ahanchian H, Grover Z, Jafari S, Noorbakhsh Z, Khakshour A, et al. Synbiotic in the management of infantile colic: a randomised controlled trial. *J Paediatr Child Health.* 2014 Jun 24 [Epub ahead of print].
 139. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, et al. Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics.* 2008;122:8–12.
 140. Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:184–91.
 141. Osborn DA, Sinn JK. Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(4):CD006475.
 142. Dotterud CK, Storrø O, Johnsen R, Oien T. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *Br J Dermatol.* 2010;163:616–23.
 143. Doege K, Grajecki D, Zyriax BC, Detinkina E, Zu Eulenburg C, Buhling KJ. Impact of maternal supplementation with probiotics during pregnancy on atopic eczema in childhood – a meta-analysis. *Br J Nutr.* 2012;107:1–6.
 144. Wickens K, Black P, Stanley TV, Mitchell E, Barthow C, Fitzharris P, et al. A protective effect of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 against eczema in the first 2 years of life persists to age 4 years. *Clin Exp Allergy.* 2012;42:1071–9.
 145. Pelucchi C, Chatenoud L, Turati F, Galeone C, Moja L, Bach JF, et al. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis. *Epidemiology.* 2012;23:402–14.
 146. Van der Aa LB, Van Aalderen WM, Heymans HS, Henk Sillevius Smitt J, Nauta AJ, Knippels LM, et al. Synbiotics prevent asthma-like symptoms in infants with atopic dermatitis. *Allergy.* 2011;66:170–7.
 147. Bath-Hextall FJ, Jenkinson C, Humphreys R, Williams HC. Dietary supplements for established atopic eczema. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;2:CD005205.
 148. Wu KG, Li TH, Peng HJ. *Lactobacillus salivarius* plus fructo-oligosaccharide is superior to fructo-oligosaccharide alone for treating children with moderate to severe atopic dermatitis: a double-blind, randomized, clinical trial of efficacy and safety. *Br J Dermatol.* 2012;166:129–36.
 149. Han Y, Kim B, Ban J, Lee J, Kim BJ, Choi BS, et al. A randomized trial of *Lactobacillus plantarum* CJLP133 for the treatment of atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012;23:667–73.
 150. Gore C, Custovic A, Tannock GW, Munro K, Kerry G, Johnson K, et al. Treatment and secondary prevention effects of the probiotics *Lactobacillus paracasei* or *Bifidobacterium lactis* on early infant eczema: randomized controlled trial with follow-up until age 3 years. *Clin Exp Allergy.* 2012;42:112–22.
 151. Thomas DW, Greer FR, American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Gastroenterology Hepatology, and Nutrition. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics.* 2010;126:1217–31.
 152. Kim SO, Ah YM, Yu YM, Choi KH, Shin WG, Lee JY. Effects of probiotics for the treatment of atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014;113:217–26.
 153. Van der Aa LB, Lutter R, Heymans HS, Smids BS, Dekker T, van Aalderen WM, et al. No detectable beneficial systemic immunomodulatory effects of a specific synbiotic mixture in infants with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy.* 2012;42:531–9.
 154. Sazawal S, Dhingra U, Hiremath G, Sarkar A, Dhingra P, Dutta A, et al. Prebiotic and probiotic fortified milk in prevention of morbidities among children: community-based, randomized, double-blind, controlled trial. *PLoS One.* 2010;5:e12164.
 155. Kumar S, Singh S. Role of probiotics in prevention of *Candida* infection in critically ill children. *Mycoses.* 2013;56:204–11.
 156. Sanz-Penella JM, Frontela C, Ros G, Martinez C, Monedero V, Haros M. Application of bifidobacterial phytases in infant cereals: effect on phytate contents and mineral dialyzability. *J Agric Food Chem.* 2012;60:11787–92.
 157. Capozzi V, Russo P, Dueñas MT, López P, Spano G. Lactic acid bacteria producing B-group vitamins: a great potential for functional cereals products. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012;96:1383–94.
 158. Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, Ogawa A, Ikuyama K, Akai Y, et al. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64:636–43.
 159. Andreasen AS, Larsen N, Pedersen-Skovsgaard T, Berg RM, Møller K, Svendsen KD, et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. *Br J Nutr.* 2010;104:1831–8.
 160. Luoto R, Kalliomäki M, Laitinen K, Isolauri E. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of

- overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes (London)*. 2010;34:1531–7.
161. Lo Vecchio A, Cohen MB. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: benefits and barriers. *Curr Opin Gastroenterol*. 2014;30:47–53.
 162. Rubin DT. Curbing our enthusiasm for fecal transplantation in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:1631–3.
 163. Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H Jr, et al. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;56:597–601.
 164. Vrieze A, De Groot PF, Kootte RS, Knaapen M, Van Nood E, Nieuwdorp M. Fecal transplant: a safe and sustainable clinical therapy for restoring intestinal microbial balance in human disease? *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2013;27:127–37.
 165. Quera R, Espinoza R, Estay C, Rivera D. Bacteremia as an adverse event of fecal microbiota transplantation in a patient with Crohn's disease and recurrent *Clostridium difficile* infection. *J Crohns Colitis*. 2014;8:252–3.
 166. Vandenplas Y, Veereman G, Van der Werff Ten Bosch J, Goossens A, Pierard D, Samsom JN, et al. Fecal microbial transplantation in a one-year-old girl with early onset colitis - caution advised. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Jan 2 [Epub ahead of print].
 167. Shanahan F. A commentary on the safety of probiotics. *Gastroenterol Clin North Am*. 2012;41:869–76.
 168. Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and prebiotics in gastrointestinal disorders. *Curr Opin Gastroenterol*. 2004;20:146–55.
 169. Allen SJ, Jordan S, Storey M, Thornton CA, Gravenor M, Garaiova I, et al. Dietary supplementation with lactobacilli and bifidobacteria is well tolerated and not associated with adverse events during late pregnancy and early infancy. *J Nutr*. 2010;140:483–8.
 170. Martín-Muñoz MF, Fortuni M, Caminoa M, Belver T, Quirce S, Caballero T. Anaphylactic reaction to probiotics. Cow's milk and hen's egg allergens in probiotic compounds. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012;23:778–84.
 171. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis*. 2003;36:775–80.
 172. Mackay AD, Taylor MB, Kibbler CC, Hamilton-Miller JM. *Lactobacillus* endocarditis caused by a probiotic organism. *Clin Microbiol Infect*. 1999;5:290–2.
 173. Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H, Pietarinen I, Saxelin M, Tynkkynen S, et al. Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis*. 1999;28:1159–60.
 174. Cabana MD, Shane AL, Chao C, Oliva-Hemker M. Probiotics in primary care pediatrics. *Clin Pediatr (Phila)*. 2006;45:405–10.
 175. Dai M, Lu J, Wang Y, Liu Z, Yuan Z. *In vitro* development and transfer of resistance to chlortetracycline in *Bacillus subtilis*. *J Microbiol*. 2012;50:807–12.