

ALIMENTOS POTENCIADORES DE SAÚDE: PRODUTOS LÁCTEOS PROBIÓTICOS

Victor M. Balcão
Professor Associado
Faculdade de Ciências da Saúde – UFP
vbalcao@ufp.pt

Carla G. Moutinho
Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências da Saúde – UFP
carlamo@ufp.pt

Carla M. Matos
Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências da Saúde – UFP
cmatos@ufp.pt

Cristina V. Almeida
Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências da Saúde – UFP
calmeida@ufp.pt

Os alimentos probióticos em geral têm sido definidos como sendo “suplementos alimentares incorporando microorganismos vivos (bactérias probióticas) que afectam benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da sua microflora a nível intestinal”. O leite e os produtos lácteos em geral contêm vários biocomponentes que fornecem elementos nutritivos críticos e protecção imunológica, bem como substâncias biologicamente activas tanto a recém-nascidos como a adultos, pelo que estes alimentos pertencem ao grupo dos chamados alimentos funcionais. Produtos alimentares à base de leite inteiro ou lácteos fortificados ou enriquecidos podem, de facto, produzir efeitos potencialmente benéficos na melhoria da saúde humana e na prevenção de doenças, quando consumidos como parte de uma dieta variada e de forma regular.

1. O QUE SÃO PRODUTOS PROBIÓTICOS?

Os alimentos probióticos têm sido definidos como sendo “*suplementos alimentares incorporando microrganismos vivos (bactérias probióticas) que afectam benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da sua microflora a nível intestinal*”. A ingestão regular de um inóculo bacteriano capaz de sobreviver ao ambiente do tracto gastro-intestinal proximal (TGI) e que lá promova um equilíbrio benéfico da microflora comensal, constitui uma ferramenta nutricional bastante apelativa para a promoção da saúde humana [Brassart e Schiffrin, 1997]. Em termos gerais, qualquer produto alimentar que incorpore tais componentes microbianos vivos pode ser designado por *alimento funcional* [Chandan, 2000], podendo ser conceptualizado como um alimento que, por virtude de componentes fisiologicamente activos, promove funções potenciadoras da saúde no corpo humano para além do seu papel nutricional intrínseco [Roberfroid, 1998]. Até ao momento, os dados gerados pela comunidade científica dão corpo ao conceito de que a dieta alimentar afecta a saúde do ser humano não apenas a curto-prazo mas, mais importante, a longo-prazo, no que diz respeito ao desenvolvimento de doenças crónicas tais como cancro, diabetes, doenças cardiovasculares, osteoporose e obesidade.

2. PRODUTOS LÁCTEOS: ALIMENTOS FUNCIONAIS

O leite e os produtos lácteos em geral contêm vários biocompostos que fornecem elementos nutritivos críticos e protecção imunológica, bem como substâncias biologicamente activas tanto a recém-nascidos como a adultos, pertencendo assim ao grupo dos chamados *alimentos funcionais*. O excelente perfil nutricional do leite e produtos derivados está relacionado por um lado com a grande variedade de componentes bioactivos nativos no leite e, por outro, com os muitos produtos metabólicos emergentes em consequência da performance metabólica da microflora exógena (a ele deliberadamente adicionada). No entanto, tais vantagens advêm provavelmente em primeiro lugar dos próprios microrganismos viáveis ingeridos (que induzem alterações *in vivo* e influenciam positivamente o ambiente do TGI), e só depois dos metabolitos presentes nos leites. Uma vez que as bactérias lácticas (produtoras de ácido láctico) utilizadas na produção de vários alimentos lácteos fermentados [Gilliland, 1990] não conseguem sobreviver no ambiente do TGI, a tendência mais recente consiste em incorporar bactérias probióticas tais como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei imunitass* e *Bifidobacterium* spp. em alimentos lácteos fermentados (cuja capacidade tamponante ajuda a assegurar a sua sobrevivência no TGI humano).

3. FUNCIONALIDADE ASSOCIADA A PROTEÍNAS FORTUÍTAS E PEPTÍDEOS DELAS DERIVADOS

Vários ingredientes potenciadores da saúde foram já descobertos no leite e produtos lácteos, incluindo aqueles originários tanto da proteína como da gordura lácteos, tais como peptídeos bioactivos (como por exemplo fosfopeptídeos caseínicos para promover a absorção de minerais, o que pode ajudar na prevenção da osteoporose), leites fermentados para reduzir a hipertensão e ácido linoleico conjugado (um ácido gordo com propriedades anticarcinogénicas). Adicionalmente, leites fermentados e iogurtes contendo culturas probióticas tais como lactobacilos e bifidobactérias encontram-se presentemente entre os mais conhecidos alimentos funcionais na Europa, com pretensões de promoção da saúde que variam desde a redução de sintomas de intolerância à lactose, tratamento de diarreias, supressão do cancro e redução dos níveis de colesterol plasmático. Os alimentos lácteos constituem o transportador por excelência para a entrega de tais bactérias benéficas no intestino humano, dado o ambiente adequado que o leite e certos produtos lácteos incluindo iogurte e queijo constituem para promover o crescimento e/ou manter a viabilidade destas culturas bacterianas. As proteínas lácteas constituem, presentemente, a principal fonte de peptídeos bioactivos. As bioactividades dos peptídeos encriptados nas principais proteínas lácteas estão obviamente numa forma latente, até que as sequências apropriadas sejam libertadas e eventualmente activadas por proteólise enzimática durante, por exemplo, o processo digestivo dos alimentos no tracto gastrointestinal, ou o processamento tecnológico desses mesmos alimentos. Os peptídeos bioactivos podem actuar como substâncias reguladoras exógenas em diferentes locais-alvo (i.e. receptores ou enzimas) no interior do organismo humano. Os peptídeos ingeridos oralmente ou os produtos resultantes da sua proteólise intestinal podem ou produzir efeitos locais na face luminal do TGI, ou serem absorvidos por transporte paracelular ou mediado por transportadores e depois atingir tecidos-alvo. Alguns investigadores reportaram já evidência para a libertação *in vivo* de β -casomorfina e caseínofosfopeptídeos a partir da caseína no lúmen intestinal de mamíferos, após ingestão de leite ou alimentos contendo caseínas [Meisel e Bockelmann, 1999; FitzGerald *et al.*, 2003]. Os peptídeos bioactivos derivados das proteínas lácteas têm associadas pretensões de potenciamento da saúde, podendo por isso ser utilizados em formulações de alimentos funcionais e preparações nutracêuticas [Clare e Swaisgood, 2000]. São promissoras as possibilidades que se abrem para a utilização de peptídeos bioactivos como suplementos dietéticos *per se* ou como ingredientes na elaboração de produtos nutracêuticos derivados do leite para ajudar a reduzir ou até controlar doenças crónicas relacionadas com a dieta alimentar. Os peptídeos bioactivos favoritos para integrar aplicações em formulações alimentares projectadas para potenciar benefícios à saúde incluem, por exemplo, peptídeos inibidores da enzima conversora da angiotensina-I, caseínofosfopeptídeos e peptídeos imuno-moduladores [Meisel e FitzGerald, 2000; FitzGerald *et al.*, 2003].

Para além das fracções lácteas normalmente presentes no leite, as imunoglobulinas de origem bovina (proteínas imunes) têm sido objecto de estudo na formulação de preparações terapêuticas para administração oral; tais anticorpos policlonais, activos contra muitos patógenos humanos, são isolados do colostro das vacas durante os primeiros 4 dias pós-parto e quando ingeridos pelo ser humano debelam infecções no seu TGI. São administrados oralmente (incluídos em formulações de colostro em pó) para fornecer imunidade passiva, aumentando assim a resistência à infecção (víricas, bacterianas, alergias, fungos e leveduras) (Stephan *et al.*, 1990; Greenberg e Cello, 1996).

As imunoglobulinas são proteínas especializadas que reconhecem substâncias estranhas potencialmente perigosas e as rotulam para ataque pelas células imunitárias. Existem cinco tipos de imunoglobulinas no colostro, especificamente IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM. O colostro bovino contém principalmente IgG, com pequeníssimas quantidades de IgA, IgD, IgE, e IgM. O colostro humano contém tipicamente 2% IgG, enquanto que o colostro bovino pode conter entre 8% a mais de 25% de IgG. Está provado que estes compostos são eficazes no bloqueio da adesão da *Helicobacter pylori*, bactéria associada à formação de gastrites, úlceras gástricas e duodenais, e a alguns tipos de tumores gástricos. A imunoglobulina G é extremamente eficaz no combate às bactérias, defendendo activamente o nosso sistema digestivo. Os factores imunes e de crescimento presentes no colostro são transferíveis entre espécies mamíferas e não são específicas da espécie, o que significa que a IgG do colostro bovino é extremamente benéfica para os seres humanos. A IgA, localizada ao longo dos tractos intestinal e respiratório, bloqueia a entrada de substâncias perigosas no corpo humano. A adição destas imunoglobulinas ao leite, *per se* ou em associação com culturas lácticas específicas, poderá constituir outra via para o *design* de alimentos funcionais “à medida”, direccionados para a manutenção da microflora naturalmente existente no TGI humano e consequente preservação da saúde intestinal do consumidor.

4. FUNCIONALIDADE ASSOCIADA A MICROORGANISMOS ADICIONADOS

Muitos produtos alimentares probióticos existentes hoje em dia em grande variedade no mercado Europeu são de origem láctea, sendo os leites fermentados os veículos alimentares mais apetecíveis, destacando-se entre muitos outros: Actimel™ (Danone, França, contendo *Lactobacillus casei Immunitass*) ou Bio™ (Danone, França, contendo bifidobactérias); Yakult™ (Yakult Honsha Co Ltd, Japão, contendo *Lactobacillus casei Shirota*); LC1 GO™ (Nestlé, Suíça, contendo *Lactobacillus johnsonii* La1); Multibionta™ (Seven Seas, Reino Unido, contendo *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum*); AB-yogurt™ (President Enterprise Corporation, Tainan, Taiwan, contendo *Bifidobacterium bifidum*). Para além

da produção de novos aromas e texturas, a fermentação subsequente à adição de culturas bacterianas dota o leite de vários atributos benéficos para a saúde. Tais alimentos são designados por *alimentos probióticos*, sendo geralmente definidos como *alimentos que contêm microorganismos vivos*, os quais, quando ingeridos vivos e em número suficiente se pensa que potenciem activamente a saúde dos hospedeiros melhorando o balanço microbiológico nos seus intestinos. A grande maioria dos alimentos probióticos é de natureza bacteriana, sendo o *Lactobacillus* e o *Bifidobacterium* os géneros mais comuns. Tendo por meta uma melhoria a nível da microflora intestinal do hospedeiro, pensa-se que estão implicadas várias acções biológicas intrínsecas, nomeadamente (i) capacidade digestiva aumentada; (ii) defesas intestinais melhoradas; (iii) imunidade intestinal modulada e sustentada; (iv) barreira potenciada nas mucosas; e (v) baixa sensibilização alérgica aos alimentos. Estas actividades podem ocorrer no lúmen do TGI, na superfície das mucosas, no interior dos tecidos do hospedeiro, no estômago, no intestino grosso ou no cólon, e durante diferentes etapas da vida (ver Figura 1).

Adicionalmente, as estirpes bacterianas probióticas têm sido consideradas como agentes não apenas com acção preventiva mas também com acção activa e mesmo curativa ou terapêutica, nomeadamente (i) digestibilidade melhorada (degradação parcial de gorduras, proteínas e hidratos de carbono); (ii) utilização melhorada da lactose (redução do teor de lactose no produto alimentar e disponibilidade acrescida de lactase); (iii) acção antagonista centrada em microorganismos patogénicos entéricos (acidez, inibição microbiana e prevenção da adesão e/ou activação de microorganismos patogénicos); (iv) colonização do intestino (sobrevivência ao ácido gástrico, resistência à lisozima e à baixa tensão superficial no intestino, aderência à mucosa intestinal, multiplicação no TGI e modulação imune); (v) efeito anticarcinogénico (degradação de ou conversão de potenciais pré-carcinogénicos em compostos menos perigosos, acção inibidora contra alguns tipos de cancro pela estimulação do sistema imunitário); (vi) acção hipocolesterolémica (produção de inibidores da síntese do colesterol e uso do colesterol por assimilação e precipitação com sais biliares não-conjugados); (viii) modulação imune (potenciação da formação de macrófagos e estimulação da produção de γ -interferon). Dois requisitos importantes para a eficácia dos produtos alimentares probióticos são, por um lado o número mínimo de bactérias probióticas viáveis ($1-10 \times 10^6$ UFC/g produto alimentar) na altura do consumo e, por outro, o armazenamento dos produtos alimentares a temperaturas de refrigeração; assim, a sobrevivência destes microorganismos a longo-prazo é essencial para que consigam povoar o intestino humano (Dave e Shah, 1997; Heller, 2001).

A criação de uma microflora protectora transiente por administração de alimentos probióticos cujas bactérias probióticas competem fortemente com microorganismos patogénicos, ligando-se firmemente à superfície epitelial, pode resultar na prevenção de infecções intestinais. As funções protectoras do leite materno humano parecem estar parcialmente asso-

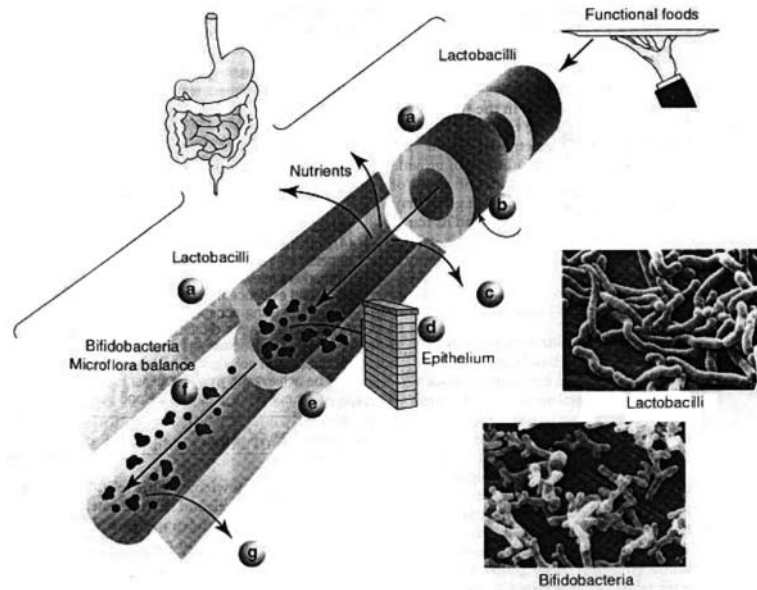


Fig.1 Alvos presumíveis para os produtos alimentares probióticos através do TGI humano. [Legenda: [a] as bactérias probióticas inibem as patogênicas em vários locais do TGI, desde a *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica à *Salmonella* sp. e *Clostridia* sp. no intestino; [b] múltiplos ingredientes alteram a velocidade e extensão da digestão de nutrientes; [c] a absorção de nutrientes e factores anti-nutricionais através do estômago e intestino é afectada pela presença, forma e actividade dos componentes funcionais do alimento; [d] os probióticos modificam as funções de barreira do epitélio intestinal; [e] os nutrientes (desde vitaminas e minerais aos probióticos) interagem com, e potenciam as funções das células imunitárias gastrointestinais, e o sistema imunitário de todo o corpo humano por comunicação sistémica; [f] os probióticos modulam a ecologia global da microflora intestinal; [g] os produtos de fermentação da microflora nutrem não apenas o intestino mas também melhoram a diferenciação, maturação e saúde global das células que povoam o cólon](Adaptado de German *et al.*, 1999).

ciadas com a promoção da microflora bifidogénica no intestino do bebé alimentado com leite materno. As bifidobactérias produzem elevados níveis de ácido acético devido à presença da enzima frutose-6-fosfato fosfocetolase o que, associado à baixa capacidade tamponante do leite materno, torna as fezes ácidas e com capacidade inibidora para microorganismos patogênicos intestinais (como por exemplo enterobactérias e clostridia gram-negativas).

5. MELHORIA NUTRICIONAL

Os benefícios nutricionais atribuídos aos alimentos probióticos têm sido essencialmente estudados em produtos alimentares derivados do leite após fermentação por Lactobacilos e Bifidobactérias; tais produtos distinguem-se dos leites não fermentados pelos mais baixos níveis de lactose residual (o que também ajuda a aliviar os sintomas de intolerância à lactose) bem como por níveis mais elevados de aminoácidos livres e algumas vitaminas (Saloff-Coste, 1997). Adicionalmente, por acção das Bifidobactérias os leites fermentados contêm, para além de ácido acético, maior proporção de ácido L(+)-lático em relação a ácido D(-)-lático, sendo o ácido L(+)-lático mais facilmente metabolizado pelos seres humanos (Rasic e Kurmann, 1983), pelo que pode ser adequadamente prevenido o aparecimento de acidose metabólica em bebés com idade inferior a um ano de idade. Tem sido ainda descrito na literatura científica que as estirpes bacterianas probióticas possuem capacidade para sintetizar ácido fólico quando incorporadas em vários produtos lácteos, niacina, riboflavina, piridoxina e vitamina K em iogurtes, os quais são lentamente absorvidos pelo organismo humano (Rasic e Kurmann, 1983; Tamine *et al.*, 1995).

As vitaminas do complexo B são obtidas normalmente pela ingestão de determinados alimentos, como ingredientes naturalmente existentes nestes, pelo que a adição de Bifidobactérias à dieta incrementará os níveis da sua ingestão. A biodisponibilidade de minerais tais como cálcio, manganésio, ferro, cobre, zinco, e fósforo pode também ser incrementada pela ingestão de produtos lácteos fermentados contendo Bifidobactérias; a ingestão de produtos lácteos fermentados provoca um abaixamento do pH no estômago facilitando a ionização dos minerais, um requisito necessário para a sua absorção (Rasic e Kurmann, 1983).

6. IMUNOMODULAÇÃO PELA SIMBIOSE ENTRE A MICROFLORA INTESTINAL E AS BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

O número de células produtoras de imunoglobulina A é aumentado pela presença de bactérias indígenas. A microflora intestinal desempenha um papel importantíssimo no equilíbrio crítico representado, por um lado, pela reacção imune controlada (tolerância) à microflora do hospedeiro e, por outro lado, pela capacidade de combate contra bactérias patogênicas. As células bacterianas (ou componentes da sua parede celular) têm sido usadas como adjuvantes orais porque podem estimular respostas imunes inatas. Nesta sequência, células de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* podem mesmo potenciar uma resposta secretória de imunoglobulina A contra um antigénio oral potentíssimo como por exemplo a toxina da cólera. Uma possível explicação para a protecção conferida pelas bactérias probió-

ticas contra bactérias patogénicas poderá depender de uma resposta inata do hospedeiro, que reconhece sinais bacterianos transmitidos por bactérias vivas aderidas no TGI. Todavia, se estiverem presentes factores adicionais de virulência (como nas bactérias patogénicas) seguir-se-à uma resposta mais enérgica, desencadeando mecanismos inflamatórios e mesmo danificação de tecidos (Haller *et al.*, 2000). Processos de antibioterapia, inflamação intestinal, supercrescimento bacteriano e imunossupressão provocam uma perturbação genérica da ecologia microbiana no TGI, pelo que a possibilidade de utilização de estirpes probióticas (ingeridas enquanto parte de alimentos probióticos) nestas condições é de extrema relevância na prevenção da necessidade de administrações frequentes de antibióticos, os quais, por seu turno, promovem o aparecimento de resistências a antibióticos.

7. QUESTÕES TERAPÊUTICAS

7.1. PERTURBAÇÕES E INFECÇÕES INTESTINAIS

Quando ocorrem perturbações tanto da microflora intestinal normal como das células intactas do epitélio intestinal, tais como as desencadeadas por antigénios existentes na dieta, microorganismos patogénicos, produtos químicos ou radiações, surgem defeitos nos mecanismos de barreira pelo que a alteração de permeabilidade facilita a invasão do sangue por microorganismos patogénicos, antigénios exógenos e outras substâncias altamente perigosas. A utilização de estirpes bacterianas probióticas no tratamento de desordens intestinais, alergias alimentares e desordens colónicas provocadas por radioterapia pélvica (por vezes associadas ao desenvolvimento de cancro do cólon) está bem documentada na literatura científica (Marteau e Rambaud, 1993; Salminen *et al.*, 1996). Possíveis mecanismos postulados para tais respostas clínicas favoráveis incluem: (i) promoção de barreiras de defesa no intestino, tanto imunológicas como não-imunológicas (Bernet *et al.*, 1993); (ii) capacidade para impedir a aderência de microorganismos patogénicos através da produção de metabolitos inibidores (bacteriocinas, ácidos orgânicos, peróxido de hidrogénio e sais biliares não-conjugados (Gibson e Wang, 1994; Fujiwara *et al.*, 1997), ou por sequestração de iões ferrosos (acção similar à da lactoferrina existente no colostro bovino, que sequestra ferro tornando-o inacessível aos microorganismos patogénicos) (Kot *et al.*, 1994); e (iii) modificação da actividade enzimática bacteriana e conseqüente influência sobre a permeabilidade da mucosa intestinal (Salminen *et al.*, 1996).

7.2. PROPRIEDADES ANTICARCINOGÉNICAS

Experiências realizadas in vivo com pacientes alimentados com leite fermentado por *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. resultaram em níveis diminuídos de enzimas fecais tais como a β -glucuronidase, β -glucosidase, urease e nitroreductase, as quais convertem pró-carcinogénos em carcinogénos; uma conclusão óbvia a retirar de tais resultados é a de que tais estirpes bacterianas probióticas diminuem o risco de desenvolvimento tumoral (Mital e Garg, 1992; Saxelin, 1997). Os referidos efeitos benéficos podem ser resultado de um decréscimo no pH intestinal, com conseqüentes alterações favoráveis na composição da microflora intestinal. Experiências recentes com ratinhos de laboratório alimentados com iogurte adicionado com *Bifidobacterium longum* produziram uma redução significativa na formação de marcadores neo-plásicos (Anjana *et al.*, 1997). Estudos epidemiológicos recentes (Chandan, 2000) mostraram também a existência de uma correlação positiva entre o consumo de iogurte e a prevenção do cancro do cólon, sendo que a actividade antitumoral exibida pelo iogurte parece ser mediada por uma potenciação da resposta imune (Perdigon *et al.*, 1998) bem como por um aumento da produção de imunoglobulina A provocado pelas Bifidobactérias administradas oralmente (Hosono *et al.*, 1997). O mecanismo aparentemente envolvido na actividade antitumoral de Bifidobactérias administradas por via sistémica baseia-se essencialmente na modulação da resposta imune do hospedeiro e inclui a activação de factores celulares não-específicos tais como leucócitos polimorfonucleares, macrófagos (Fernandes e Shahani, 1990), e regulação da produção de γ -interferão (que exhibe propriedades tanto antivíricas como antiproliferativas).

8. CONCLUSÕES

Quando consumidos regularmente como parte de uma dieta variada, os produtos lácteos no seu todo, seja na forma natural, fortificada, enriquecida ou potenciada, podem promover efeitos benéficos na saúde humana. Em particular, as culturas probióticas adicionadas ao leite possuem um potencial tremendo na melhoria da saúde humana e prevenção de doenças, com aplicações interessantíssimas em medicina preventiva direccionada a crianças e idosos, e mesmo como parte de estratégias terapêuticas contra colonizações microbianas indesejáveis a nível do TGI.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anjana, C., Ramkishan-Rao, D., Chawan, C. B. e Shackelford, L. (1997). *Bifidobacterium longum* and lactulose suppress azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats. *In: Carcinogenesis* 18, pp. 517-521
- Bernet, M. F., Brassart, D., Neeser, J. R. e Servin, A. (1993). Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *In: Appl. Environ. Microbiol.* 59, pp. 4121-4128.
- Brassart, D. e Schiffrin E.J. (1997). The use of probiotics to reinforce mucosal defense mechanisms. *In: Trends Food Sci. Technol.* 9, pp. 321-326.
- Chandan, R.C. (2000). Enhancing market value of milk by adding cultures. *In: J. D. Sci.* 82, pp.2245-2256.
- Clare, D. A. e Swaisgood, H. E. (2000). Bioactive milk peptides: a prospectus. *In: J. Dairy Sci.* 83, pp. 1187-1195.
- Dave, R. I. e Shah, N. P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *In: Int. Dairy J.* 7, pp. 31-41.
- Fernandes, C. F. e Shahani, K. M. (1990). Anticarcinogenic and immunological properties of dietary lactobacilli. *In: J. Food Protection* 53, pp. 704-710.
- FitzGerald, R. J., Murray, B. A. e Walsh, D. J. (2003). *The Emerging Role of Dairy Proteins and Bioactive: Peptides in Nutrition and Health* Hypotensive Peptides from Milk Proteins. Supplement to *J. Nutrition*. Presented as part of the 94th American Oil Chemists' Annual Meeting & Expo held in Kansas City, MO, May 4-7, 2003.
- Fujiwara, S., Hashiba, H., Hirota, T. e Forstner, J. F. (1997). Proteinaceous factor(s) in culture supernatant fluids of bifidobacteria which prevents the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* to ganglioside GM1. *In: Appl. Environ. Microbiol.* 63, pp. 506-512.
- German, B., Schiffrin, E. J., Reniero, R., Mollet, B., Pfeifer, A. e Neeser, J.-R. (1999). The development of functional foods: lessons from the gut. *In: TIBTECH* 17, pp. 492-498.
- Gibson, G. R. e Wang, X. (1994). Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *J. Appl. Bact.* 77, pp. 412-420.
- Gilliland, S. E. (1990). Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *In: FEMS Microbiol. Rev.* 87, pp. 175-188.
- Greenberg, P. D. e Cello, J. P. (1996). Treatment of severe diarrhoea caused by *Cryptosporidium parvum* with oral bovine immunoglobulin concentrate in patients with AIDS. *In: J. AIDS Human Retrovir.* 13, pp. 348-354.
- Haller, D., Bode C, Hammes W.P., Pfeifer A. M. A., Schiffrin E. J. e Blum S. (2000). Non-pathogenic bacteria elicit a differential cytokine response by intestinal epithelial cell/leucocyte co-cultures. *In: Gut* 47, pp. 79-87.
- Heller, K. J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *In: Am J Clin Nutr* 73 (suppl) , pp. 374S-379S.
- Hosono, A., Lee, J., Ametani, A., Natsume, M., Hirayama, M., Adachi, T. e Kaminogawa, S. (1997). Characterization of a water-soluble polysaccharide fraction with immunopotentiating activity from *Bifidobacterium adolescentis* M101-4. *In: Biosci., Biotechnol. Biochem.* 61, pp. 312-316.
- Kot, E., Haloftis, G. e Bezkorovainy, A. (1994). Iron accumulation by bifidobacteria at low pO₂ and in air: action of putative ferroxidase. *In: J. Agric. Food Chem.* 42, pp. 685-688.
- Marteau, P. e Rambaud, J.-C. (1993). Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man. *In: FEMS Microbiol. Rev.* 12, pp. 207-220.
- Meisel, H. e FitzGerald, R. J. (2000). Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences. *In: British J Nutr.* 84, pp. S27-S31.
- Meisel, H. e Bockelmann, W. (1999). Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and tropho-functional properties. *In: Antonie van Leeuwenhoek* 76, pp. 207-215.
- Mital, B. K. e Garg, S. K. (1992). Acidophilus milk products: manufacture and therapeutics. *In: Food Rev. Int.* 8, pp. 347-389.
- Perdigon, G., Valdez, J. C. e Rachid, M. (1998). Antitumor activity of yoghurt: study of possible immune mechanisms. *In: J. Dairy Res.* 65, pp. 129-138.
- Rasic, J. L. e Kurmann, J. A. (1983). *Bifidobacteria and Their Role*. Birkhäuser, Basel, Switzerland.

Roberfroid, M. B. (1998). Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *In: British J. Nutrition* 80: Suppl. 2, pp. S197-S202.

Salminen, S., Isolauri, E. e Salminen, E. (1996). Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *In: Antonie van Leeuwenhoek* 70, pp. 347-358.

Saloff-Coste, C. J. (1997). Health benefits of fermented milks and probiotics. *Danone World Newsletter* 15, 1-19 [http://www.danonevitapole.com/nutri_views/newsletter/eng/news_15/intro.html].

Saxelin, M. (1997). *Lactobacillus* GG-A human probiotic strain with thorough clinical documentation. *In: Food Rev. Int.* 13, pp. 293-313.

Stephan, W., Dichtelmuller, H. e Lissner, R. (1990). Antibodies from colostrum in oral immunotherapy. *In: J. Clinic. Chem. Clinic. Biochem.* 28, pp. 19-23.

Tamine, A. Y., Marshall, V. M. e Robinson, R. K. (1995). Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *In: J. Dairy Sci.* 62, pp. 151-187.