

## CAPÍTULO 2

# PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS Y SIMBIÓTICOS: PROPIEDADES PARA PREVENIR ENFERMEDADES Y FORTALECER EL SISTEMA INMUNOLÓGICO EN TIEMPOS DE PANDEMIA Y POSPANDEMIA

*Data de aceite: 26/10/2023*

### **Noe Benjamín Pampa Quispe**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8072-249X>

### **Julissa Torres Acurio**

Facultad de Ingeniería y Arquitectura,  
Universidad Peruana Unión, Perú  
<https://orcid.org/0000-0002-1845-9034>

### **Olivia Magaly Luque Vilca**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9000-4624>

### **Jose Luis Pineda Tapia**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ciencias de la Ingeniería  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-9498-1169>

### **Lenin Quille Quille**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
<https://orcid.org/0000-0003-3824-5268>

### **Tania Jakeline Choque Rivera**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
Orcid <https://orcid.org/0000-0002-3305-0755>

### **Carlos Ricardo Hanco Cervantes**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
Orcid: <https://orcid.org/0009-0002-8527-0274>

### **Luz Delia Mamani Perales**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
Orcid: <https://orcid.org/0009-0002-8527-0274>

### **Edgardo Martín Figueroa Donayre**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
<https://orcid.org/0000-0001-7891-3334>

### **Yimy Hanco Cayllahua**

Universidad Nacional de Juliaca, Facultad  
de Ingeniería de Procesos industriales  
<https://orcid.org/0000-0002-8250-9665>

**RESUMEN:** El consumo de probióticos, prebióticos y simbióticos es beneficioso para la salud humana, puesto que previene enfermedades y modula el sistema inmunológico al reestablecer el balance gastrointestinal, lo que implica una mejor respuesta del sistema inmunitario para combatir la COVID-19. Con este

antecedente los conceptos de alimentos funcionales nacen diseñados con componentes que afectan funciones fisiológicas del organismo de manera específica, positiva e intensa. Dentro de la gama de alimentos funcionales están los prebióticos, los probióticos y los simbióticos. El presente trabajo tiene como objetivo realizar una revisión analítica de las propiedades funcionales para prevenir las enfermedades y fortalecer el sistema inmunológico por el consumo de probióticos, prebióticos y simbióticos en pandemia. Los probióticos son microorganismos vivos que, al ser incorporados como suplemento en la dieta, benefician el desarrollo de la flora microbiana en el intestino. Los prebióticos son alimentos no digeribles que impulsan el crecimiento de las bacterias en el colon y por último los simbióticos conjugan en sus formulaciones la asociación de prebióticos y probióticos, lo que permite aprovechar más los beneficios de esa asociación. El consumo regular de alimentos simbióticos puede ser empleado en la prevención de afecciones relacionadas a la pandemia.

**PALABRAS CLAVES:** Probióticos, Prebióticos, Simbióticos, Inmune, Prevención, Pandemia.

## 1 | INTRODUCCIÓN

La pandemia COVID-19 conocida también como la pandemia del coronavirus es una grave problemática en la salud pública derivada de la enfermedad respiratoria, causada por el coronavirus SARS-CoV-2, con síntomas que varían desde leves y no específicos, hasta neumonía y complicaciones potencialmente mortales como el Síndrome de dificultad Respiratoria Aguda (SAR) e insuficiencias orgánicas múltiples. La transmisión del SARS-CoV-2 se da principalmente a través de microgotas muy finas, lo que le permite entrar a las vías respiratorias; pero también puede ocurrir por la vía tracto gastrointestinal (Gu et al., 2020), debido a que el SARS-CoV-2 puede invadir los enterocitos del estómago, actuando estas células como reservorio del virus (Lin, et al., 2020), hecho que se ha evidenciado con la detección del ARN del SARS-CoV-2 en la vía gastrointestinal y en muestras de heces de pacientes infectados, así como en sistemas de alcantarillado de las ciudades que han sido foco de la pandemia en todo el mundo (Wu, et al., 2020).

El sistema inmunológico es responsable de la defensa del cuerpo contra enfermedades infecciosas y sustancias extrañas. Los errores en la regulación de este sistema pueden desencadenar procesos patológicos como autoinmunidad y alergias. Los factores genéticos y ambientales son las principales causas de las alergias. La inducción de tolerancia a través de la exposición a sustancias alérgenos parece ser un método más apropiado que la restricción. Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio al huésped (Costa & Varavallo, 2011).

El concepto de alimento funcional fue promovido por primera vez en 1984, por científicos japoneses que estudiaron las relaciones entre nutrición, satisfacción sensorial, fortificación y la modulación de los sistemas fisiológicos. En 1991 se introdujo un sello de aprobación para esa categoría de alimentos para uso específico a la salud conocida como

FOSHU (Food for Specified Health Uses) (Burdock et al., 2006). El término fue rápidamente adoptado mundialmente (Hasler, 2002). Pero, las reclamaciones como también los criterios para su aprobación, pueden variar conforme la reglamentación de cada país o de cada nivel económico (Stringheta et al., 2007). Ashwell (2005) indica que los alimentos funcionales son alimentos en los que algunos de sus componentes afectan funciones del organismo de manera específica y positiva, promoviendo un efecto fisiológico más allá de su valor nutritivo tradicional. Dicho efecto puede ser beneficioso y contribuir a la mantención de la salud y bienestar, a la disminución del riesgo de enfermar, o ambas cosas. Los probióticos y prebióticos son considerados alimentos funcionales.

Los probióticos son microorganismos vivos, que, administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del huésped (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2003). La influencia benéfica de los probióticos sobre la microbiota intestinal humana incluye factores como efectos antagónicos, competición y efectos inmunológicos, resultando en un aumento de la resistencia contra patógenos. Así, la utilización de cultivos bacterianos probióticos estimula la multiplicación de bacterias beneficiosas, en detrimento de la proliferación de bacterias potencialmente perjudiciales, reforzando los mecanismos naturales de defensa del huésped (Puupponen-Pimiä et al., 2002).

Prebióticos son aquellos componentes alimentarios no digeribles que afectan benéficamente al huésped, por estimular selectivamente a la proliferación o actividad de poblaciones de bacterias deseables en el colon. Adicionalmente, el prebiótico puede inhibir la multiplicación de patógenos, garantizando beneficios adicionales a la salud del huésped. Esos componentes actúan más frecuentemente en el intestino grueso, sin embargo, ellos pueden tener también algún impacto sobre los microorganismos del intestino delgado (Mattila-Sandholm et al., 2002).

Un producto que puede ser considerado como simbiótico es aquel en el cual un probiótico y un prebiótico están combinados. La interacción entre el probiótico y el prebiótico *in vivo* puede ser favorecida por una adaptación del probiótico al sustrato prebiótico anterior al consumo. Esto puede, en algunos casos, resultar una ventaja competitiva para el probiótico, si este fuera consumido conjuntamente con el prebiótico. Alternativamente, ese efecto simbiótico puede ser direccionado a las diferentes regiones “objetivo” del tracto gastrointestinal, los intestinos delgado y grueso. El consumo de probióticos y de prebióticos seleccionados apropiadamente puede aumentar los efectos benéficos de cada uno de ellos, una vez que el estímulo de cepas probióticas conocidas lleva a escoger dos pares simbióticos sustrato-microorganismo ideales (Mattila-Sandholm et al., 2002).

Los primeros estudios científicos que comprobaron el vínculo entre alimentación y salud surgieron en los años 1960, apuntando a los impactos negativos del exceso de grasas y azúcar. En la década de 1980, los productos diet y light comenzaron a ser comercializados con éxito. Recientemente, se viene exigiendo aún más de los alimentos, pues además de

no hacer mal a la salud, ellos deben aún desempeñar funciones terapéuticas (Raud, 2008).

Los cambios del estilo de vida y el aumento de la expectativa de vida de la población, aliados al crecimiento de los costos médico-hospitalarias, han estimulado la búsqueda de nuevos conocimientos científicos y nuevas tecnologías para el desarrollo de alimentos que atiendan a esas necesidades (Saad y Bedani, 2013). Prioritariamente, hoy los alimentos no se destinan apenas a satisfacer el deseo de alimentarse y en fortalecer los nutrientes necesarios para los seres humanos, sino que además está la prevención de enfermedades relacionadas con la nutrición y que resulte en mejoras del bienestar físico y mental del individuo (Sanz, Salvador y Fiszman, 2008).

Según la definición de alimentos funcionales, los mismos deben permanecer en su forma original, o sea, alimentos, y deben demostrar efectos benéficos a la salud en cantidades normalmente ingeridas en la dieta (Alzamora et al., 2005). Ya el término nutracéutico no debe ser confundido con el término alimento funcional, pues los nutracéuticos poseen compuestos bioactivos, independientemente de la existencia de una matriz alimentaria y son presentados al consumidor generalmente en la forma de píldoras, ampollas o cápsulas (Jones, 2002).

De acuerdo con Annunziata y Vecchio (2013), las actuales preocupaciones con la salud, la familiaridad con el concepto de alimento funcional, la naturaleza del vehículo del ingrediente funcional, como también los posibles efectos sobre la salud influencia considerablemente la búsqueda de esos alimentos por el consumidor. Sin embargo, el desarrollo y comercio de los productos funcionales todavía son bastante complejos, pues, además del producto, atender la alegación funcional, es indispensable que estén presentes características sensoriales satisfactorias para el consumidor, además de la practicidad y accesibilidad.

En este sentido, diferentes estudios han mostrado que la aceptación de alimentos funcionales por el consumidor está lejos de ser incondicional. Como principales condiciones para la aceptación de un nuevo producto por el consumidor son considerados los atributos de sabor, el precio, la conveniencia y la confiabilidad de las alegaciones de salud. De forma general, los consumidores parecen evaluar primero alimentos funcionales como alimentos. En otras palabras, los beneficios funcionales pueden proporcionar un valor adicional para los consumidores, mas no pueden prevalecer sobre las propiedades sensoriales de los alimentos (Siró et al., 2008).

La compra de alimentos funcionales posibilita a los consumidores una impresión moderna y positiva de sí mismos, pues sus hábitos de consumo se vuelven una manera moderna de seguir una alimentación y un estilo de vida más saludable. De forma general, es una actitud positiva, tanto para los consumidores como para el mercado de alimentos funcionales, que viene presentando una tendencia sustentable en múltiples nichos de mercado (Siró et al., 2008).

## 2 | MICROBIOTA INTESTINAL

El tracto gastrointestinal humano consiste en un gran tubo compuesto por la boca, esófago, estómago, intestino delgado e intestino grueso. El intestino delgado se divide en duodeno, yeyuno e íleon, y el intestino grueso en ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente y recto (Macfarlane y Cummings, 1991). El intestino grueso es la región más colonizada del tracto digestivo, con más de  $10^{12}$  bacterias por cada gramo, por lo que esta microbiota residente tiene una función importante en la nutrición y en la salud (Gibson y Macfarlane, 1995).

La microbiota intestinal está constituida por una variedad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas que interactúan entre sí en un ecosistema complejo y dinámico capaz de influenciar en los factores microbiológicos, inmunológicos y bioquímicos en el huésped (Monreal et al., 2005). Cada persona alberga unos 100 billones de bacterias de unas 400 a 500 diferentes especies bacterianas, incluyendo principalmente las bacterias anaeróbicas, destacándose, en orden decreciente: bacteroides, bifidobacterias, lactobacilos, entre otros microorganismos (Trindade, 2004 y Salminen et al., 1998). Más del 95% vive en el tracto digestivo, sobre todo en el colon (Raibaud, 1999).

La primera función de la microbiota, llamada de “exclusión competitiva” o efecto de barrera microbiológica, puede ser definida como la capacidad de impedir o reducir la multiplicación de microorganismos exógenos que ocasionalmente penetran en el ecosistema digestivo (Ramos, 2006). Esa protección envuelve mecanismos como la competición por nutrientes esenciales, competición por sitios de adhesión en el epitelio intestinal y la producción de sustancias o metabolitos antagonistas tales como: los péptidos antibacterianos, los ácidos orgánicos y otros compuestos, como el peróxido de hidrógeno, que también es parte do mecanismo de exclusión competitiva (O’flaherty y Klaenhammer, 2010).

La inmunomodulación es otra función importante en las infecciones, ya que permite una respuesta de las defensas inmunológicas locales y sistémicas del huésped a una tentativa de agresión por microorganismos patógenos. Al adherir en la mucosa intestinal con la formación de microcolonias, las bacterias autóctonas son reconocidas por un sistema sofisticado que consigue detectar antígenos bacterianos, permitiendo al huésped distinguir, de entre su microbiota, las bacterias residentes y las indeseables, como, por ejemplo, los agentes patógenos (Turroni et al., 2008). Las bacterias intestinales, al ligarse a los receptores localizados en la superficie de las células epiteliales, desencadenan una cascada de mecanismos de defensa inmunológica, incluyendo la producción de citocinas pró y antiinflamatorias (Saad & Bedani, 2013).

La tercera función de la microbiota es su contribución nutricional. La microbiota intestinal posee muchas capacidades metabólicas, que faltan en el huésped y, así, puede ser considerada como indispensable para la vida de los seres humanos (Savage, 2001).

Ella contribuye a la nutrición del huésped, mejorando el aprovechamiento de energía de la dieta, como la síntesis de vitaminas esenciales, por ejemplo, las vitaminas del complejo B. En el caso de las bacterias lácticas, las enzimas que son liberadas en el lumen intestinal pueden ejercer efectos sobre la digestión, aliviando síntomas de deficiencia en la absorción de nutrientes (Saad & Bedani, 2013), como la liberación de  $\beta$ -galactosidasa endógena durante el metabolismo de la lactosa por la microbiota, favoreciendo la digestión para los individuos intolerantes a la lactosa (Rabot et al., 2010).

Sin embargo, el estrés, la dieta desbalanceada, los tratamientos con antibióticos, las infecciones, las intoxicaciones alimentarias y la edad avanzada son considerados factores que pueden interferir en el equilibrio gastrointestinal e inmunológico y desencadenar algunas enfermedades inflamatorias crónicas para el huésped (Nagalingam & Lynch, 2012). Así, la microbiota intestinal en equilibrio, a su vez, puede ser caracterizada por el predominio de bacterias benéficas o promotoras de la salud sobre bacterias potencialmente patógenas (Cummins et al., 2004).

A partir del conocimiento de la microbiota intestinal y sus interacciones con el huésped, es posible el desarrollo de estrategias alimentarias priorizando la manutención y el estímulo de las bacterias normales presentes en la mucosa intestinal (Gibson & Fuller, 2000). De esta forma, la corrección de las propiedades de la microbiota autóctona desbalanceada puede ser realizada por microorganismos probióticos (Slover & Danziger, 2008).

Los microorganismos probióticos son considerados potencialmente exitosos, cuando presentan varias propiedades deseadas y son capaces de ejercer efectos benéficos. Los criterios de selección considerados relevantes para cualquier microorganismo con potencial probiótico, previene de que el mismo sea de origen humano, y fuera para uso en humanos (especificidades de estirpe); que presente estabilidad con relación a la acidez gástrica y la bilis; que sean seguros para uso en alimentos y en ensayos clínicos; que presenten efectos benéficos en la salud, documentados científicamente y clínicamente validados; y que posean propiedades tecnológicas deseables (Salminen et al., 1998).

Ha sido destacado que la ingestión de esas bacterias probióticas puede aumentar la resistencia a infecciones por microorganismos patógenos, pudiendo inclusive contribuir en la prevención de algunos tipos de cáncer (Salminen, 2005). Ese efecto puede estar relacionado a la capacidad de los microorganismos probióticos de interactuar con las placas de Peyer y las células epiteliales intestinales, estimulando las células B productoras de IgA y la migración de células T del intestino (Forsythe & Bienenstock, 2010). Además, los probióticos pueden favorecer la actividad fagocitada inespecífica de los macrófagos, sugiriendo una acción sistémica por secreción de mediadores que estimularía el sistema inmunológico (Cross, 2002).

Sin embargo, es importante resaltar que el potencial prebiótico de una determinada especie puede diferenciarse de una cepa para a otra. Diferentes cepas de una misma

especie son incomparables y pueden poseer áreas de adherencia distintas, efectos inmunológicos específicos y diferentes mecanismos de acción sobre la mucosa saludable o inflamada (Isolauri, 2004).

### 3 I PROPIEDADES DE LOS PREBIÓTICOS

El término prebiótico es definido como un ingrediente alimentario no digerible por la mayoría de los microorganismos del intestino, y que afecta benéficamente al huésped, por el estímulo selectivo del crecimiento y/o actividad de apenas uno o de un número limitado de bacterias en el colon (Gibson y Roberfroid, 1995).

Fooks et al. (1999) mencionan, para que un ingrediente alimentario sea clasificado como un prebiótico es necesario:

- i. No sufrir hidrólisis y ni ser absorbido en la parte superior del tracto gastrointestinal;
- ii. Ser un sustrato selectivo para un número limitado de bacterias potencialmente benéficas del colon, que son estimuladas para crecer y desenvolverse en actividades metabólicas;
- iii. Ser capaz de promover una biota intestinal saludable y, como consecuencia, inducir efectos en el lumen que benefician al huésped.

Como ejemplo de sustancias prebióticas se puede citar algunos oligosacáridos como la lactulosa, lactitol, lactosacarosa, rafinosa, fructooligosacáridos (FOS), y polisacáridos como la inulina y el almidón resistente (Conway, 2001).

Entre los oligosacáridos de ocurrencia natural, los fructooligosacáridos (FOS) son los principales compuestos conocidos y utilizados en alimentos a los cuales se atribuyen propiedades prebióticas (Nitschke, 2002). Dependiendo de la longitud de la cadena, definida por el número de unidades de monosacáridos y también el llamado grado de polimerización (DP), los FOS pueden ser denominados como oligofruktosas (DP < 10, DP media = 4,8) o inulina (DP 2 - 60, media = 12) (Niness, 1999).

Los prebióticos no solamente proporcionan un aumento potencial del número de bacterias benéficas en el intestino grueso de humanos, predominantemente los lactobacilos y las bifidobacterias, también aumentan su actividad metabólica a través del suministro de sustrato fermentable (Bielecka et al., 2002).

Varios ingredientes alimentarios han sido propuestos como potenciales prebióticos, siendo que los fructanos, inulina y oligofruktosa son considerados como prebióticos modelos (Roberfroid, 2008). Debido a su estructura química, los prebióticos no son absorbidos en el intestino delgado, más son fermentados y usados como fuente de energía por bacterias endógenas en el colon, preferentemente por las bifidobacterias, favoreciendo su crecimiento y su actividad metabólica (Nazzaro et al., 2012). De esta forma, los prebióticos no promueven la multiplicación de potenciales patógenos, como los clostridios productores de toxinas, los bacteróides proteolíticos y la *Escherichia coli* toxigénica (Manning & Gibson,

2004).

La especificidad de las bifidobacterias en utilizar los fructanos, probablemente, se debe a la producción de inulina intracelular, enzima necesaria para hidrolizar enlaces glicosídicos del tipo  $\beta$ -b-(2,1) entre las unidades de fructosa (Roberfroid et al., 1999). Como producto final de la fermentación de las fibras prebióticas, son obtenidos algunos sustratos, como el ácido láctico y los ácidos grasos de cadena corta (SCFAs), los cuales pueden desempeñar varias funciones biológicas benéficas al huésped (Nazzaro et al., 2012). El aumento de los niveles de ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) durante la fermentación y la reducción de pH en la región luminal aumenta la solubilidad de las sales de calcio y magnesio y, con eso, hay una mejora en la absorción de esos minerales por el huésped (Lavanda et al., 2011). Otro efecto benéfico de los ácidos grasos de cadena corta, en el caso del butirato, es la prevención del cáncer de colon, pues el butirato es utilizado de manera eficiente por las células de la mucosa intestinal para su mantenimiento (Thammarutwasik et al., 2009).

Oligofruktosa y fruto-oligosacáridos (FOS) son términos sinónimos, utilizados para denominar fructanos del tipo inulina con grado de polimerización inferior a 10. El término oligofruktosa es lo más frecuentemente utilizado en la literatura para describir inulinas de cadena corta, obtenidas por la hidrólisis parcial de la inulina de la achicoria. Ya el término FOS describe la mezcla de fructanos del tipo inulina de cadena corta, sintetizados a partir de sacarosa (Saad, 2006).

Químicamente, los fructanos del tipo inulina son cadenas lineales de carbohidratos, consistiendo principalmente de enlaces  $\beta$  - (2  $\rightarrow$  1)-fructosil-fructosa, pudiendo contener una molécula inicial de  $\alpha$ -D-glucosa. Los fructanos del tipo inulina contienen glucosa, fructosa, sacarosa y pequeños oligosacáridos y, en función de su configuración  $\beta$  de C2 en sus monómeros de fructosa, resisten a la hidrólisis por las enzimas intestinales digestivas de humanos, los cuales son específicos para enlaces  $\alpha$ -glicosídicos (Roberfroid, 2005).

Hasta el momento, la raíz de la achicoria nativa, perteneciente a la familia Compositae ha sido la principal fuente de extracción industrial de fructanos de tipo inulina. Varios trabajos han sido documentados, como la planta Agave tequilana Weber var. Azul, como fuente de fructanos altamente ramificados con estructuras complejas que combinan las moléculas de fructosa con enlaces  $\beta$  (2-1) e  $\beta$ (2-6) con grado de polimerización (DP) variando de 3 a 29 (Avila- Fernandez et al., 2008). De esta forma, la inulina derivada de la agave presenta resistencia a la hidrólisis por enzimas digestivas humanas, siendo fermentada por la microbiota intestinal, con la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFA), según López; Mancilla-Margalli y Mendoza-Díaz, (2003) y con potencial efecto prebiótico, una vez que estimula la multiplicación de bifidobacterias y lactobacilos (Gomes et al. 2010).

Constituida por cadenas largas, la inulina es menos soluble que la oligofruktosa y, cuando está dispersa en agua o en la leche, forma microcristales que interactúan para dar origen a una textura cremosa. Consecuentemente, es utilizada como sustituta de grasas en

productos lácteos, patés, salsas, rellenos, coberturas, productos de panificación y postres congelados (Saad y Bedani, 2013). Cuando es utilizada de forma compartida con cepas probióticas, puede estimular la multiplicación y la estabilidad de estos microorganismos en el producto funcional, durante su vida de prateleira (Akalin et al., 2007). Puede, inclusive, mantener la viabilidad en alimentos congelados, por presentar efecto crioprotector, con la reducción del tamaño de los cristales de hielo al interactuar con el agua disponible en los alimentos (Franck, 2008).

El almidón resistente es definido en términos fisiológicos como la suma del almidón y el producto de su degradación no digerido en el intestino delgado. De este modo, esta fracción del almidón presenta comportamiento semejante a la fibra alimentaria (Lobo & Silva, 2003). El almidón resistente no digerido al llegar al colon es utilizado como sustrato de fermentación por diversas bacterias intestinales, especialmente las anaeróbicas (bacteroides, eubacterias, bifidobacterias y Clostridium) que constituyen el 99% de la microbiota intestinal humana, razón por la cual es considerado como agente prebiótico (Salgado et al., 2005).

## 4 | PROPIEDADES DE LOS PROBIÓTICOS

La palabra probiótico proviene del griego (pro, “para,” y bios, “vida”). Su significado fue cambiando con el transcurrir del tiempo. Metchnikoff fue el primero en sugerir que las bacterias ingeridas, en forma de yogurt y otros alimentos fermentados, podrían afectar beneficiosamente a la flora intestinal. El término probiótico fue introducido por Lilly & Stillwell en 1965 para describir “sustancias secretadas por un microorganismo, las cuales estimulan el crecimiento de otros” (Suskovic et al., 2001). Sin embargo, el término probiótico fue redefinido por Fuller (1989) como un “suplemento alimenticio compuesto de células microbianas vivas, las cuales tienen efectos benéficos para el huésped, por mejorar o mantener el equilibrio microbiano en el intestino”.

Los microorganismos probióticos, principalmente algunas variedades de lactobacilos y bifidobacterias, fermentan la lactosa, produciendo ácido láctico. Ellos tienen la capacidad de mantenerse vivos en un producto fermentado y sobrevivir al paso por el tracto gastrointestinal, fijándose en el intestino y trayendo mejoras en el balance de la flora microbiana de individuos que consumen periódicamente esos productos (Behrens et al., 2000).

El criterio de selección y de evaluación de los microorganismos probióticos fue resultado de las investigaciones institucionales y de universidades con las industrias de alimentos. Los linajes de bacterias para clasificarse como probióticas deben presentar las siguientes propiedades (Suskovic et al., 2001):

- i. Poseer identificación taxonómica exacta;
- ii. Ser un habitante normal de especies blanco: origen humano para probióticos

- humanos;
- iii. No ser tóxica y patogénica;
  - iv. Ser genéticamente estable;
  - v. Capacidad de sobrevivir, proliferar y estimular la actividad metabólica en el tracto gastrointestinal;
  - vi. Poseer características de adherencia y colonización;
  - vii. Características deseables de viabilidad durante la preparación, almacenamiento y consumo del cultivo;
  - viii. Alta viabilidad de la población, con alrededor de  $10^7$  -  $10^8$  bacterias por gramo de producto;
  - ix. Producción de sustancias antimicrobianas, incluyendo bacteriocinas, peróxido de hidrógeno y ácidos orgánicos;
  - x. Antagonista de patógenos;
  - xi. Capacidad de competir con la microbiota normal, o una especie específica, ser potencialmente resistente a otras sustancias antimicrobianas producidas por la microbiota. Antagonista de los agentes patógenos;
  - xii. Capacidad de competir con la microbiota normal, o una especie específica, ser potencialmente resistente a las bacteriocinas, ácidos y otras sustancias antimicrobianas producidas por la microbiota residente; Resistencia al jugo gástrico y a la bilis;
  - xiii. Propiedad inmunoestimuladora;
  - xiv. Capaz de ejercer efectos beneficiosos para la salud (documentados y validados clínicamente);
  - xv. Favorable para el proceso de producción: crecimiento, recuperación, concentración, congelación, deshidratación, almacenamiento y distribución adecuados;
  - xvi. Proporcionan cualidades organolépticas deseables.

## 5 I PROPIEDADES DE LOS SIMBIÓTICOS

El término simbiótico es utilizado cuando el alimento contiene tanto probióticos y prebióticos que afectan al huésped de manera benéfica (Schrezenmeir & Vrese, 2001). Esta combinación podría mejorar la supervivencia del microorganismo probiótico porque su sustrato específico se encuentra disponible para su fermentación. Por ello se podría esperar que el sustrato prebiótico confiere protección al microorganismo durante su tránsito por el tracto gastrointestinal superior a la acidez gástrica y contra el ataque proteolítico de las proteasas gástricas y pancreáticas, probablemente a través de los mecanismos de

revestimiento de la superficie del probiótico e impedimento estérico (Mountzouris y et al., 2002).

La interacción entre el probiótico y prebiótico *in vivo* pueden ser favorecidas por una adaptación del probiótico a través del consumo del prebiótico. Este debe resultar una ventaja competitiva para que el probiótico fuera consumido juntamente con el prebiótico (Puuponen-Pimiä et al., 2002).

El consumo regular de prebióticos y probióticos puede ser empleado en la profilaxia y tratamiento de una serie de condiciones patológicas, la mayor parte en la esfera de gastroenterología (Chermesh & Eliakim, 2006).

Existen evidencias de investigación de beneficios relacionados al consumo de prebióticos y probióticos y son:

- i.Reducción de infección por *Helicobacter pylori*, que está asociado a la gastritis y úlceras pépticas (Cruchet et al., 2003);
- ii.Reducción de síntomas de alergias alimentares (Salminen, Ouwehand & Isolauri, 1998);
- iii.Regular la función intestinal, combatiendo la obstrucción intestinal (Marteau & Boutron-RualT, 2002);
- iv.Atenuar el síndrome del intestino irritable y enfermedades de Crohn (Marteau et al, 2002);
- v.Eliminar los síntomas de intolerancia a la lactosa (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001);
- vi.Efectos benéficos en el metabolismo mineral, particularmente en la densidad y estabilidad ósea (Anderson et al., 2001);
- vii.Prevenir el cáncer de colon y otros tipos de cáncer (Marteau et al., 2001);
- viii.Reducir el colesterol y concentración de triglicéridos plasmáticos (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001);
- vix Resistir la infección del tracto urogenital (Reid, 2001).

Según Schrezenmeir & Vrese (2001), los beneficios a la salud que están bien establecidos por la literatura son:

- i.Diminución de la frecuencia y duración de la diarrea asociada al uso de antibióticos (*Clostridium difficile*), infección por rotavirus, quimioterapia, y, en menor grado, diarrea del viajante;
- ii.Estimulación humoral e inmunidad celular; y
- iii.Disminución de metabolitos desfavorables como amonio y enzimas pró-carcinogénicas del colon.

La alegación funcional permitida para alimentos probióticos y prebióticos es restricta a la contribución para el equilibrio de la microbiota intestinal. Para que el alimento sea considerado probiótico, debe presentar, en su porción diaria, de 10<sup>7</sup> a 10<sup>9</sup> UFC de

microorganismos viables. Con respecto a los alimentos prebióticos, la recomendación diaria mínima de FOS y de inulina es de 3 g para alimentos sólidos de 1.5 g para alimentos líquidos (Anvisa, 2008). Los probióticos y prebióticos, cuando incorporados simultáneamente en un alimento, ejercen una interacción simbiótica, que favorece la sobrevivencia de bacteria probiótica en el alimento, bien como en las condiciones entéricas y gastrointestinales

Esa interacción entre el probiótico y prebiótico in vivo puede, inclusive, ser favorecida por una adaptación del probiótico al sustrato prebiótico en la matriz alimenticia anterior al consumo. Esto puede, en algunos casos, resultar en una ventaja competitiva para el probiótico sobre las especies endógenas del huésped, que fue consumido juntamente con el prebiótico. De esta forma, la identificación de un probiótico que tiene efectos sinérgicos con un prebiótico es, por lo tanto, de elevado interés comercial para la industria de alimentos (Macfarlane et al., 2008).

## 6 | CONCLUSIÓN

El concepto de Alimentos Funcionales surge como un instrumento para mejorar la salud de la población y reducir el riesgo de ciertas enfermedades, a partir de la mayor esperanza de vida y del crecimiento de las enfermedades crónicas y sus consecuencias sobre la salud pública. Es importante resaltar que un alimento funcional debe seguir siendo un alimento y ejercer sus acciones benéficas en las cantidades habitualmente consumidas en la dieta.

Los prebióticos representan un sustrato preferencial para bacterias beneficiosas para la salud como los lactobacilos y las bifidobacterias. Se encuentran presentes en una amplia variedad de alimentos vegetales pero debido a sus características son utilizados por la industria alimentaria como espesantes, gelificantes, humectantes o sustitutos de algún macroelemento como la grasa.

La evidencia científica muestra efectos positivos sobre funciones como regulación de la microflora y resistencia a infecciones agudas, el tránsito intestinal, la absorción de minerales (calcio y magnesio), el metabolismo de glúcidos y lípidos, etc. Para la evaluación de sus efectos debe tenerse en cuenta la concentración utilizada en el producto y las características iniciales que presente el intestino de quien las consume. La fibra, como componente natural de la dieta, ha sido reconocida como un importante modificador del ecosistema intestinal con beneficios sobre el tránsito y prevención de enfermedades degenerativas, entre otros.

Los probióticos han sido utilizados históricamente por el hombre para conservar y procesar alimentos, pero fue recién a principios del siglo pasado cuando comenzaron a enunciarse las funciones positivas de algunas especies de bacterias sobre el cuerpo humano. La información analizada permite inferir que el consumo diario de productos con probióticos y simbióticos a lo largo del tiempo, brindaría beneficios nutricionales adicionales

y mejoraría el estado de salud y, en determinados casos, colaboraría con la prevención de ciertas enfermedades, todo ello, junto con una alimentación equilibrada y diversificada.

Es necesario destacar que el mercado de alimentos funcionales se encuentra en pleno desarrollo y día a día se conocen mejor los mecanismos de acción de cada componente. Por eso, son los nutricionistas y especialistas quienes deben investigar para establecer mayor confianza en su consumo y poder tener una aproximación a la recomendación óptima con su valedero científico.

Investigaciones sugieren que el consumo de los probióticos por vía oral puede implicar la respuesta del sistema inmune para combatir esta enfermedad (COVID-19) y próximas pandemias, ya que el tracto digestivo es un punto focal de las defensas del cuerpo, y así prevenir la infección viral.

## REFERENCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002. Akalin, A. S.; Gönç, S.; Ünal, G.; Fenderya, S. Effects of fructooligosaccharide and whey protein concentrate on the viability of starter culture in reduced-fat probiotic yogurt during storage. *Journal of Food Science*, v.72, n.7, p.M222-M227, 2007.
2. ALZAMORA, S.M.; SALVATORI, D.; TAPIA, M.S.; LÓPEZ-MALO, A.; WELTI-CHANES, J.; FITO, P. Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering*, v.67, p.205-214, 2005.
3. ANDERSON H.; ASP, N.; BRUCE, A.; ROOS, S.; WADSTROM, T.; WOLD, A. E. Health effects of probiotics and prebiotics: a literature review on human studies. *Scandinavian Journal of Nutrition*, v. 45, p. 58-75, 2001.
4. ÁVILA-FERNÁNDEZ, A.; RENDÓN-POUJOL, X.; OLVERA, C.; GONZÁLEZ, F.; CAPELLA, S.; PEÑA-ÁLVAREZ, A.; LÓPEZ-MUNGUÍA, A. Enzymatic hydrolysis of fructans in the tequila production process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.57, n.12, p. 5578- 5585, 2009.
5. BEHRENS, J. H.; ROIG, S. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos de funcionalidade, de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e culturas lácteas probióticas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 34, n. 2, p.99 106, 2000.
6. BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. *Food Res. Int.*, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.125-131, 2002.
7. CHERMESH, I.; ELIAKIM, R. Probiotics and the gastro Intestinal tract: where are we in 2005? *World Journal of Gastroenterology*, v. 12, n.6, p.853 857, 2006.
8. CROSS, M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilliand their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v.34, n.4, p.245-253, 2002.

9. CRUCHET, S.; OBREGON, M. C.; SALAZER, G.; DIAZ, E.; GOTTELAND, M. E.; GOTTELAND, M. Effect of the ingestion of a dietary product containing *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* Colonization in children. *Applied Nutritional Investigation*, v. 19, n.9, p.716-721, 2003.
10. CUMMINGS, J.; ANTOINE, J. M.; AZPIROZ, F.; BOURDET-SICARD, R.; SOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.C. Probiotics. *Best Practice & Research, Clinical Gastroenterology*, v.18, n.2, p.299-313, 2004.
11. DOS SANTOS COSTA, E., & VARAVALLO, M. A. Probióticos e prebióticos: relações com a imunidade e promoção da saúde. *Revista científica do ITPAC*, 2(4), 1-8, 2011.
12. FERREIRA, C. L. L.; TESHIMA, E. Prebióticos: Estratégia dietética para manutenção da microbiota colônica desejável. *Biocologia, Ciência & Desenvolvimento*, ano III, n. 16, p. 22-25, 2000.
13. FOOKS, L.J.; FULLER, R.; GIBSON, G.R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.9, p.53-61, 1999.
14. FORSYTHE, P.; BIENENSTOCK, J. Immunomodulation by Commensal and Probiotic Bacteria. *Immunological Investigations*, v.39, n.4-5, p.429-448, 2010.
15. FULLER, R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.
16. GIBSON, G.R.; FULLER, R. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *The Journal of Nutrition*, Bethesda, v.130, p.391S-394S, 2000.
17. GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, Bethesda, v.125, p.1401-1412, 1995.
18. GU J., HAN B., WANG J. COVID-19: Gastrointestinal manifestations and potential fecal- oral transmission. *Gastroenterology*. 4 (4) p 76-87, 2020.
19. HARTEMINK, R. 1999. Prebiotic effects of non-digestible oligo- and polysaccharides. PhD. Thesis, University of Wageningen, The Netherlands.
20. HASLER, C.M. Functional Foods: Benefits, Concerns and Challenges a Position paper from the American Council on Science and Health. *Journal of Nutrition*, v. 132, n. 12, p.3772-3781, 2002.
21. HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. *Food Res. Int.*, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.109-116, 2002.
22. ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. Probiotic. *Best Practice & Research, Clinical Gastroenterology*, v.18, p. 299-313, 2004.
23. JONES, P.J. Clinical nutrition: 7. Functional foods - more than just nutrition. *Canadian Medical Association Journal*, v.166, n.12, p.1555-1563, 2002.
24. LAVANDA, I.; SAAD, S.M.I.; LOBO, A.R.; COLLI, C. Prebióticos y su efecto en la biodisponibilidad del calcio. *Revista de Nutrição*, v. 24, n.2, p.333-44, 2011.

25. LIN, L., X. JIANG, Z. ZHANG, S. HUANG, Z. ZHANG, AND Z. FANG. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. China: Gut. 2020.
26. LOBO A.R. Y SILVA G.M.L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. Rev. Nutr. 2003; 16(2).
27. LOPEZ, M.G.; MANCILLA-MARGALLI, N.A; MENDOZA-DIAZ, G. Molecular structures of fructans from Agave tequilana Weber var. azul. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.51, p. 7835–7840, 2003.
28. LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal, v. 11, n. 1-2, p. 1-17, 2001.
29. LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.11, p.1-17, 2001.
30. MACFARLANE, G.T. Y CUMMINGS, J.H. The colonic flora, fermentation, and large bowel digestive function. En: The large intestine: physiology pathophysiology and disease. Phillips, S.F.; Pemberton, J.H. y Shorter, R.G. (eds.). Raven Press, New York. Pp. 51-92. 1991.
31. MACFARLANE, G.T.; STEDD, H.; MACFARLANE, S. Bacterial metabolismo and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotic. Journal of Applied Microbiology, v.104, p.305-344, 2008.
32. MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Prebiotics Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. v.18, n.2, p. 287–298, 2004.
33. MARTEAU, P.; BOUTRON-RUAULT, M. C. Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. British Journal of Nutrition, v. 87, n. 2, p. S153-S157, 2002.
34. MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G., FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.12, p.173-182, 2002
35. MONREAL, M.T.F.D.; PEREIRA, P.C.M.; LOPES, C.A.M. Intestinal microbiota of patients with bacterial infection of the respiratory tract with Amoxicillin. Brazilian Journal Infectious Diseases, v.9, p.292-300, 2005.
36. NAGALINGAM, N. A; LYNCH, S.V. Role of the microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Disease*, v. 18, n.5, p. 968-980, 2012.
37. NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; ORLANDO, P.; COPPOLA, R. Biochemical Traits, Survival and Biological Properties of the Probiotic *Lactobacillus plantarum* Grown in the Presence of Prebiotic Inulin and Pectin as Energy Source. *Pharmaceuticals*, v. 5, p.481-492, 2012.
38. NINESS, K.R. Inulin and oligofructose: what are they? *J. Nutr.*, Bethesda, v.129, suppl.7, p.1402S-1406S, 1999.
39. NNUNZIATA, A.; VECCHIO, R. Consumer perception of functional foods: A conjoint analysis with probiotics. *Food Quality and Preference*, v.28, p.348-355, 2013.

40. O'FLAHERTY, S.; KLAENHAMMER, T.R. The role and potential of probiotic bacteria in the gut, and the communication between gut microflora and gut/host. *International Dairy Journal*, v.20, p.262-268, 2010.
41. PUUPPONEN, P. R.; AURA, A.; OKSMAN C. K.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA, S. T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. *Trends in Food Science & Technology*, v.13,n.1,p.3 11,2002.
42. PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.M.; OKSMAN-CALDENTEY, K.M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Sci. Technol.*, Amsterdam, v.13, p.3-11,2002.
43. RABOT, S.; RAFTER, J.; RIJKERS, G.; WATZL, B.; ANTOINE, J.M. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: Impact of probiotics on digestive system metabolism. *The Journal of Nutrition*, v.140, p. 677–689, 2010.
44. RAMOS, M.P.P. Influência da ingestão de *Bifidobacterium breve* carreado no leite humano na modulação da microbiota intestinal, na histomorfometria do cólon, na produção de citocinas e de espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio em modelo murino. Tese de Doutorado- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 125p, 2006.
45. RAUD, C. Os Alimentos Funcionais: A nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias da Danone e da Nestlé no mercado brasileiro de iogurtes. *Revista Sociologia Política*, Curitiba, v.16, n.31, p. 85-100, 2008
46. REID, G. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 73, n. 2, p. 437s-443s, 2001.
47. ROBERFROID, M.B. Prebiotics: concept, definition, criteria, methodologies, and products. In: Gibson, G.R.; Roberfroid, M.B., eds. *Handbook of prebiotics*. Boca Raton: CRC. p.39-68, 2008
48. SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.42, n.1, p.1-16, 2006.
49. SAAD, S.M.I.; Bedani, R. Alimentos funcionais probióticos e prebióticos. In. Tirapegui, J., ed, *Nutrição e Aspectos Atuais*, 3. ed. São Paulo: Atheneu. cap. 21, p. 241-356. 2013.
50. SALGADO S.M., FARO Z.P., GUERRA N.B. Y OLIVEIRA A.V.S. Aspectos físico-químico do amido resistente. *B. ceppa*; 23(1):109-122, 2005.
51. SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, v.8, p.563 572,1998.
52. SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A.; MORELLI, L.; MARTEAU, P.; BRASSART, D.; VOS, W. M.; FONDEN, R.; SAXELIN, M.; COLLINS, K.; MOGENSEN, G.; BIRKELAND, S. E.; MATTILA-SANDHOLM, T. Demonstration of safety of probiotics. *International Journal Food Microbiology*, v. 44, p. 93-106, 1998.
53. SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. *Nutr. Rev.*, New York, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

54. SANZ, T., SALVADOR, A., & FISZMAN, S. M. Evaluation of four types of resistant starch in muffin baking performance and relationship with batter rheology. *European Food Research & Technology*, v.227, p.813–819, 2008.
55. SAVAGE, D.C. Microbial biota of the human intestine: a tribute to some pioneering scientists. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, v.2, p.1–15, 2001.
56. Schrezenmeir, J.; Vrese, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 73, p. 361s-364s, 2001.
57. SCHREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics And synbiotics—approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 73, p. 361-364, 2001.
58. SIRÓ I, KAPOLNA E, KAPOLNA B, Lugasi. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance a review. *Appetite*, v.51, p. 456–467, 2008.
59. SLOVER, C.M.; DANZIGER, L. Lactobacillus: a review. *Clinical Microbiology Newsletter*, v.30, n.4, p.23-27, 2008.
60. STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, T.T.; GOMES, R.C.; PENHA, M.; AMARAL, H.; CARVALHO, A. F.; VILELA, M.A.P. Políticas de Saúde e Alegações de Propriedades Funcionais e de Saúde para Alimentos no Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.43, n.2, p.181-194, 2007
61. SUSKOVIC, J.; KOS, B.; GORETA, J.; MATOSIC, S. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in symbiotic effect. *Food Technology and Biotechnology*, v. 39, n. 3, p. 227 235, 2001.
62. THAMMARUTWASIK, P.; HONGPATTARAKERE, T.; CHANTACHUM, S.; KIJROONGROJANA, K.; ITHARAT, A.; REANMONGKOL, W.; TEWTRAKUL, S.; OORAIKUL, B. Prebiotics – a review. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, v.31, n.4, p.401-408, 2009
63. TRINDADE, E.B.S.M. Avaliação da flora bacteriana intestinal e do estado nutricional de indivíduos infectados pelo HIV-1, suplementados com fibra solúvel e probiótico, Botucatu, Tese (doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, 2004
64. TURRONI, F.; RIBBERA, A.; FORONI, E.; VAN SINDEREN, D.; VENTURA, M. Human gut microbiota and bifidobacteria: from composition to functionality. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 94, p.35–50, 2008
65. WU, F., A. XIAO, J. ZHANG, X. GU, WL. LEE, AND K. KAUFFMAN. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. China: medRxiv. 2020.
66. ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.8, p.473-479, 1998.