



PROBIÓTICO IMPORTANTE FERRAMENTA PARA A CONSTRUÇÃO DA SAÚDE INTESTINAL DE SUÍNOS

POR DR. ANDRÉ VIANA (CHIEF TECHNOLOGY OFFICE)

PROBIÓTICOS - HISTÓRIA DO USO DE MICRO-ORGANISMOS NO PREPARO DE ALIMENTOS

O uso de micro-organismos no preparo de alimentos é um costume de povos antigos, sendo muito difícil precisar onde se originou. Há referências muito antigas de processos fermentativos com o uso de micro-organismos em alimentos em culturas ancestrais como dos mesopotâmios que, 6 mil anos antes de Cristo, produziam bebidas e pães em processos fermentativos com o auxílio de micro-organismos. Em muitas dessas tradições, o objetivo era o de se obter fermentações alcoólicas ou que pudessem alterar o sabor dos alimentos.

Questiona-se em que momento o homem passou a ter consciência dos benefícios dos alimentos fermentados para a saúde, ainda que não compreendesse a existência de bactérias como agentes colonizadores do trato digestivo.

O leite fermentado, que deu origem ao atual iogurte, teve provavelmente origem nas regiões balcânicas e da Turquia Asiática. Algumas fontes históricas relatam que foram os búlgaros, nômades da Ásia, que trouxeram o iogurte para a Europa na segunda metade do século VII. O kefir, por exemplo, é um leite fermentado produzido a partir dos grãos de kefir. Os “grãos de kefir” são uma colônia de micro-organismos simbióticos imersa em uma matriz composta de polissacarídeos e proteínas, formada por bactérias (*Lactobacilos* e *Bifidobactérias*), podendo conter leveduras. De origem antiga e aparentemente misteriosa, o kefir era conhecido na antiguidade como a “bebida do profeta” e o fermento usado para prepará-lo, como “Grãos do profeta Maomé”. O kefir teve sua origem nas montanhas do Cáucaso. Acredita-se que os caucasianos descobriram que o leite fresco carregado em bolsas de couro poderia ocasionalmente fermentar, resultando em uma bebida efervescente (IRIGOYEN et al., 2005, citado por Portal da UFRB).



Figura 1. Kefir.

Sob a ótica da ciência moderna, encontramos relatos de Elie Metchnikoff (1907), que, pesquisando a longevidade de camponeses búlgaros, observou que a dieta destes era rica em leite fermentado à base de bactérias produtoras de ácidos lácticos e uma baixa incidência de câncer de cólon. Em 1935, Shirota isola *Lactobacillus* capaz de fixação no trato gastrintestinal.

O termo probiótico que significa “a favor da vida” foi, entretanto, primeiramente utilizado por Richard Parker em 1960 e posteriormente por Lilly e Stillwell em 1965 que definiram o termo como “substâncias secretadas por um micro-organismo que estimulam o crescimento de outro”, contrapondo-se ao termo antibiótico.

O termo antibiótico foi primeiramente usado por Waksman em 1942 como a substância produzida por micro-organismos (bactérias, fungos, actinomicetos), antagonista ao desenvolvimento ou à vida de outros micro-organismos em altas diluições no meio bioquímico do nosso corpo. A descoberta, entretanto, da penicilina ocorreu apenas um ano depois por Alexander Fleming.

Apenas em 1974, o termo probiótico foi utilizado por Parker para se referir a organismos ou substâncias que contribuem para o balanço da microbiota intestinal. Fuller (1989) posteriormente se referiu ao termo como “Um micro-organismo vivo suplementado na dieta o qual beneficia o animal hospedeiro por melhorar o balanço microbiano intestinal”. Nessa época, as críticas ao uso de antibióticos e a procura por alternativas como os probióticos já floresciam nas academias de ciência. O *Food and Drugs Administration (FDA)* definiu probiótico como “fonte de micro-organismos viáveis que ocorrem naturalmente, podendo ser utilizado diretamente na ração de animais” (DFM: Direct-Fed Microbial).

Para o uso em animais, são da década de 1970 os primeiros relatos do uso de *Lactobacillus acidophilus* como suplemento alimentar.

PROBIÓTICOS - CARACTERÍSTICAS DESEJÁVEIS

Para que um micro-organismo possa ser considerado como um candidato a probiótico, deve reunir algumas características desejáveis dentre as quais: a capacidade de sobreviver às condições naturais do trato gastrointestinal e estarem presentes em número significativo; ter capacidade de se adaptar ao intestino do hospedeiro; sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal; ter capacidade de se estabelecer no intestino delgado; não deteriorar os alimentos que lhe servirão de veículo; não apresentar patogenicidade; ser produtor de ácido e ser ácido resistente; apresentar excreção de fator anti *E. Coli*, *Salmonella*, *Clostridium* ou outro micro-organismo patogênico; ser resistente à bile; ser cultivável em escala industrial; e ser estável no produto comercial.

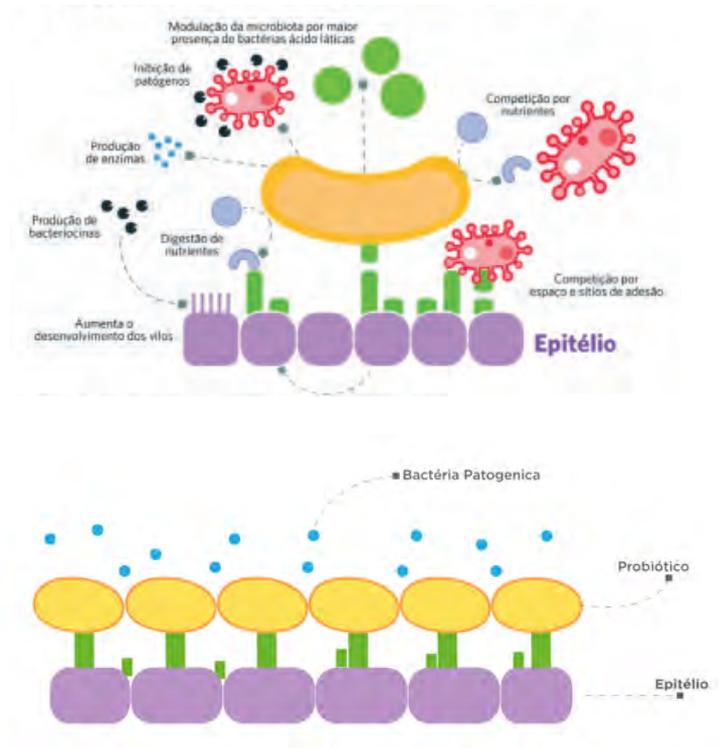


Figura 2 e 3. Modo de ação dos probióticos.

Muitos micro-organismos (como os *Lactobacillus*) possuem a capacidade de se aderir ao epitélio intestinal, sendo este fenômeno essencial para sua permanência e desenvolvimento, evitando assim serem removidos com os movimentos peristálticos do trato gastrointestinal. Um método de prevenção contra a colonização do intestino por patógenos consiste em saturar os sítios receptores do epitélio, impedindo assim a adesão de micro-organismos indesejados. A adesão de *Lactobacillus* em suínos é controlada pelo glicocálix e também pelas proteínas da parede celular da bactéria (WADSTROM, 1987, citado por BUDINO, 2018).

Dentre os micro-organismos mais utilizados como probióticos, destacam-se as bactérias lácticas como *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *Streptococcus faecium*, *S. lactis* e *S. thermophilus*, *Enterococcus spp.*, e *Pediococcus acidilactici*. Outros micro-organismos são *Bacillus subtilis*, *B. Licheniformes*, *B. Amiloliquefaciens*, *B. toyoi*, *Aspergillus oryzae*, *Torulopsis sp.*, *Bifidobacterium bifidum* e *Sacharomyces cerevisiae*.



Figura 4. Probióticos.

Todavia, muitos micro-organismos comercializados como probióticos não necessariamente atendem a todos os quesitos citados, podendo mesmo não serem habitantes normais da flora intestinal dos animais, mas que, quando fornecidos na dieta, conseguem alterar o ambiente intestinal trazendo benefícios ao equilíbrio de uma flora microbiana saudável.

DESENVOLVIMENTO DA FLORA MICROBIANA DO TRATO INTESTINAL DE LEITÕES

O intestino de leitões ao nascimento é estéril e sofre uma colonização imediatamente após o nascimento, momento no qual entra em contato com as secreções vaginais da porca e das bactérias presentes no ambiente. Em um segundo momento, é também inoculado bactérias provenientes da glândula e tetas das porcas.



Figura 5. Leitões se amamentando.

Durante os primeiros quatro dias de vida, a ingestão de colostro proporciona a ação de imunoglobulinas (IgG e IgM) que atuam controlando agentes patogênicos na flora intestinal. Após o quarto dia de vida, a concentração de imunoglobulinas decai e não consegue mais exercer o controle de antes. Apenas após aproximadamente 21 dias é que o intestino consegue desenvolver imunidade local. Portanto, entre o quarto e o vigésimo primeiro dia de vida, a proteção da mucosa do epitélio intestinal contra micro-organismos patogênicos é fraca e a maior proteção vem de uma flora microbiana saudável e equilibrada.

Inicialmente, *E. coli* e espécies de *Streptococcus* e *Clostridium* proliferam-se principalmente devido ao alto pH do estômago. Com a ingestão de colostro e posteriormente de leite materno, ocorre queda no pH estomacal em função da produção de ácido láctico a partir da lactose, ocasionando uma mudança progressiva na flora com redução da predominância de *E. coli*, com colonização predominante de anaeróbios facultativos na porção superior do intestino delgado (*Lactobacillus* e *Streptococcus*) e uma população de anaeróbios estritos no intestino grosso (*Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Fusibacterium*, *Clostridium*).

Encontramos na flora intestinal uma flora dominante (90%) composta por micro-organismos benéficos que se encontram em relação simbióticas com o hospedeiro, (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteróides*, *Eubacterium*, etc.), uma flora subdominante (<10%) (*E. coli*, *Enterococcus*) e uma flora flutuante (-0,01% - *Clostridium* e *Proteus*).



Figura 6. Microbiota do intestino delgado de um leitão.

A microbiota do intestino delgado do leitão é dominada por espécies aeróbias e anaeróbias facultativas, na concentração aproximada de 10^{13} UFC/g de conteúdo intestinal na qual o *Lactobacillus* e o *Streptococcus* são os gêneros predominantes, em uma densidade de 10^7 a 10^9 UFC/g. Os *Bifidobacterium* estão presentes ao longo de todo o trato gastrintestinal do leitão, em uma densidade populacional de 10^4 a 10^6 UFC/g e 10^8 UFC/g da porção distal do intestino delgado.

A microbiota do ceco e do cólon contém quantidades similares de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*, além de *Bacteroides* e *Eubacteriaceae* e quantidades variáveis de *E. coli* (JOHNSSON e CONWAY, 1992). Estes micro-organismos podem ocupar diferentes posições no lúmen intestinal do leitão. Algumas famílias podem estar localizadas no próprio lúmen, entretanto, geralmente, estas são mortas e eliminadas nas fezes. Algumas podem estar no muco, sendo que estas são a maior parte dos agentes ativos, sendo o muco o seu ambiente nutritivo. Finalmente, algumas aderem as células do intestino, representando alguns grupos patogênicos (TOURNUT, 1998). Entretanto, as espécies de *Lactobacillus*, que são benéficas, também possuem o comportamento de se ligar à superfície do epitélio, além de serem exclusivas para determinado hospedeiro não colonizando outra espécie animal (TANNOCK, 1997, citado por Budino 2018).

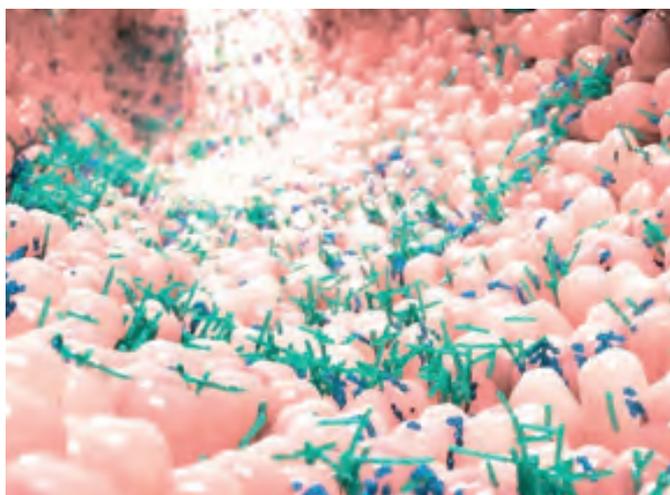


Figura 7. Micro-organismos no lúmen intestinal de um leitão.

De acordo com CHESSON citado por BUDINO (2018), os probióticos podem ainda possuir ação na imunomodulação do hospedeiro, devido à produção de glicopeptídeos ou outros metabólitos. Alguns gêneros de bactérias intestinais como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* estão diretamente relacionados com o aumento da resposta imune, apresentando efeitos no aumento da produção de anticorpos, na ativação de macrófagos, na proliferação de células T e na produção de interferon. Pesquisas demonstraram que o número de leucócitos no sangue e a concentração plasmática de IgG de leitões desmamados aumentaram após a administração de *Lactobacillus acidophilus* (POLLMANN et al., 1980; CHESSON, 1994, MENTEN, 2001, citados por BUDINO, 2018).

Sob condições normais, essa flora alcança o que chamamos de equilíbrio, uma condição benéfica ao hospedeiro em que as funções gastrointestinais não são apenas preservadas, mas estimuladas para um saudável desenvolvimento. Esse equilíbrio pode ser perdido em situações de enfermidades e principalmente quando do uso de antibióticos para combatê-las, ocasionando assim a morte de muitos micro-organismos benéficos, forçando uma nova evolução da flora microbiana em busca de seu equilíbrio.

Geralmente, a flora subdominante e flutuante, embora presentes, não ocasionam maiores problemas, mas, em situações de disbioses intestinais, proliferam-se causando a produção de enterotoxinas, inflamação da mucosa e diarreias.

Em leitões, foi relatada a presença de *E. coli* no intestino duas horas após o nascimento, enquanto que bactérias benéficas como o *Lactobacillus spp.* só foram observadas após 18 horas (BERTECHINI e HOSSAIN, 1993). Os *Lactobacillus* são praticamente os últimos micro-organismos da sequência de colonização, o que permite entender a frequência e gravidade da colibacilose em leitões durante os três primeiros dias de vida. Uma vez colonizado o trato intestinal, essas bactérias começam a produzir enterotoxinas e a provocar diarreias.

Independentemente de ter ou não ocorrido um desequilíbrio da flora na fase de aleitamento dos leitões, na fase de desmame, a alteração do equilíbrio da flora microbiana é inevitável face à transição do regime alimentar do leite de porca para uma dieta seca e sólida com a introdução de novos ingredientes e, portanto, novos substratos para o crescimento de micro-organismos no trato intestinal.



Figura 8. Leitões em fase de desmame.

É de amplo conhecimento que a flora bacteriana no trato intestinal é altamente influenciada pela alimentação dos animais e demais condições do ambiente intestinal. Como dito anteriormente, com a ingestão de leite, a população de *Lactobacillus* cresce, a qual em seu metabolismo consome a lactose e produz ácido lático, reduzindo assim o pH do intestino e modulando a população microbiana. Com a mudança da dieta, alterações inevitáveis ocorrerão no pH do ambiente intestinal, no tipo de alimento em processo de digestão-substrato para o crescimento de micro-organismos e, assim, da própria microbiota intestinal.

A desmama provoca mudanças macro e microscópicas do trato intestinal, reduzindo o tamanho das vilosidades e aumentando a profundidade das criptas. As dietas secas causam maiores alterações morfológicas do que as dietas líquidas. Essas mudanças são menos significativas quando a desmama é mais tardia. O consumo de alimento pós-desmama afeta o nível das enzimas e o peso dos órgãos digestivos. Os níveis das enzimas digestivas sacarase e lactase não se alteram com as mudanças ocorridas na mucosa intestinal, mas as atividades da maltase e da amilase aumentam. A digestão é claramente prejudicada pela desmama, mas a recuperação é muito rápida devido ao processo normal de maturação e indução da produção de enzimas provocados pelos componentes da dieta. Dietas com lactose e proteínas de origem animal, por exemplo, diminuem a severidade dos efeitos provocados pela desmama.

Os leitões desmamados encontram-se fisiologicamente imaturos para se alimentarem com dietas sólidas. As funções digestivas dos leitões desmamados precocemente são inadequadas, devido à insuficiente produção de ácido clorídrico e enzimas digestivas, resultando em aproveitamento incompleto das dietas - mesmo daquelas com maior conteúdo em lácteos, proteínas e carboidratos de alta digestibilidade. O período de 7 a 14 dias pós desmama é considerado crítico e se caracteriza por baixo consumo de ração, baixa digestibilidade e um estado geral de deficiência energética. O baixo consumo de ração associado à mudança no tipo da dieta pode contribuir para uma redução brusca do tamanho das vilosidades, o que predispõe o leitão à má absorção de nutrientes, possível desidratação, diarreias e infecções entéricas.



Figura 9. Leitão com possível desidratação, diarreia e infecção entérica.

A atividade enzimática proteolítica gástrica e pancreática é inconstante antes da terceira semana de idade e a desmama tende a induzir maior atividade dessas enzimas. Sugere-se que a falta de atividade proteolítica gástrica e pancreática se deve a não liberação de zimógenos no estômago e duodeno; e à baixa produção de ácido clorídrico. A secreção de ácido clorídrico é essencial na conversão do pepsinogênio em pepsina para que ocorra a digestão inicial das proteínas. Se o ácido não é liberado, as proteínas não são adequadamente digeridas e tornam-se substrato para micro-organismos no intestino, muito diferente daquele anteriormente fornecido somente pela ingestão de leite das porcas.

PRINCIPAIS ESTRATÉGIAS PARA TRABALHAR A SAÚDE INTESTINAL NO PERÍODO DE DESMAME DOS LEITÕES

Assim como principais estratégias adotadas por nutricionistas para mitigar as dificuldades encontradas nas fases de maternidade e de creche, em especial no período da desmama, estão a utilização de dietas ricas em lácteos e uso de ingredientes de alta digestibilidade, com baixo poder de neutralização de ácidos e baixo poder tamponante; a utilização de enzimas, ácidos orgânicos, óleos essenciais; e a utilização de prebióticos e probióticos.

A utilização de dietas com baixo poder neutralizante e tamponante e a utilização de ácidos orgânicos se baseiam na ineficiência dos leitões em manter o pH gástrico apropriado nesse período, o que resulta em diminuição do aproveitamento do alimento. Vários pesquisadores demonstraram que a acidificação da dieta inicial melhora o desempenho dos leitões recém-desmamados. A inclusão de diferentes enzimas (fitases, carboidrases e proteases) nas rações de leitões reduz a presença de componentes antinutricionais nas rações como fitatos, proteínas alergênicas e mesmo proteínas inibidoras de tripsina. Também melhora a digestibilidade dos nutrientes reduzindo o fluxo de substrato não digerido no trato intestinal, o que poderia causar desequilíbrio da flora microbiana presente. O uso de óleos essenciais (timol, carvacrol, capsaicina, cinamaldeído, alicina, garlicina, etc.) procura manter reduzidas as populações de micro-organismos indesejados e reduzir a inflamação dos epitélios intestinais. Os prebióticos, em geral, são oligossacarídeos que possuem dois efeitos principais. O primeiro serve de substrato para o crescimento de uma flora microbiana desejável, obtido com a utilização de determinados fruto-oligossacarídeos (FOS) e galacto-oligossacarídeos (GOS). Já os manano-oligossacarídeos (MOS) contribuem para uma flora bacteriana saudável por possuírem a característica de servir de sítio de adesão para micro-organismos indesejados (como *Salmonella* e *Clostridium*) evitando assim a adesão destes no epitélio intestinal.

PROBIÓTICOS - BIOTECNOLOGIA APLICADA À SAÚDE INTESTINAL DE LEITÕES

A utilização de probióticos em leitões foi por muito tempo questionada com relação à sua efetividade em melhorar o desempenho dos animais. Os primeiros probióticos eram normalmente culturas de um único micro-organismo (em geral bactérias lácticas ou leveduras), fornecido aos animais pela ração, água ou diretamente na boca dos leitões ao nascer. A inconsistência dos resultados foi, muitas vezes, decorrente de produtos com baixa viabilidade dos micro-organismos na dieta, produtos com baixa concentração de micro-organismos (incapazes de modificar a flora dominante) entre outros fatores. A utilização de forma equivocada de probióticos em leitões também foi motivo da inconsistência de resultados. Muito se falava da substituição de antibióticos por probióticos. É de amplo conhecimento que probióticos não são drogas anti-infecciosas. Não se deve esperar de um probiótico a mesma eficácia de um antibiótico em uma situação de ocorrência de uma infecção por uma bactéria patogênica.

Probióticos podem e devem ser usados para reduzir a necessidade de intervenção com antibioticoterapias, e devem ser fornecidos na dosagem correta por um período mínimo para que surtam efeitos. Em geral, a utilização de antibióticos traz efeitos mais rápidos, sendo notados com 24 a 48 horas após o início de seu uso. Já os efeitos de administração de probióticos aos animais demora pelo menos 7 dias para serem notados.

Segundo BUDINO (2018) em um estudo de meta-análise conduzido por OHH em 2011, foi feito um levantamento dos trabalhos que avaliaram a influência da suplementação de probióticos na dieta de suínos e foi constatado que 85,0% apresentaram resposta benéfica sobre a microbiota intestinal; e 59,5% e 72,0% não tiveram influência sobre o ganho de peso e sobre a conversão alimentar, respectivamente.

Em uma segunda geração de probióticos baseada em micro-organismos à base de *Bacillus spp*, a concentração de micro-organismos nos produtos comerciais aumentou significativamente, assim como a sobrevivência e persistência nas rações. Muitas cepas foram selecionadas com base em critérios de secreções de fatores de inibição de bactérias patogênicas como *Clostridium*, *E.coli* e *Salmonella*, além de atuarem pelo mecanismo de exclusão competitiva, ocupando sítios de adesão no intestino e impedindo as bactérias patogênicas de aderirem. O problema ainda presente neste tipo de produto é que, baseados em um único micro-organismo, muitas vezes não natural do trato gastrointestinal, esses probióticos não conseguiam promover a colonização por uma diversidade de cepas saudáveis, influenciando assim a população microbiana de forma positiva, mas necessitando de uma adição contínua e permanente.

As soluções mais modernas e eficientes trouxeram então uma nova geração de probióticos, baseados no conceito de inocular uma diversidade de micro-organismos (em geral de 4 a 8 diferentes cepas) em altas concentrações, selecionadas por avançadas técnicas de genética molecular que identificam algumas das principais características destes. Muitas dessas cepas podem ser aplicadas em ração ou na água de bebida e podem sobreviver e persistir em condições adversas, como em águas cloradas ou mesmo resistir ao tratamento térmico de rações (peletização) por meio de tecnologias de *coating*.



Figura 10. Provitam. Imagem meramente ilustrativa.

Recomenda-se a ingestão de probióticos pelos leitões tão cedo quanto possível de forma a influenciar a formação de uma flora microbiana saudável, estável e resistente, mantendo em níveis muito reduzidos os micro-organismos indesejados. O uso dessas cepas não ocorre apenas no nascimento, mas também é recomendado nas porcas e ainda nos leitões dias antes de épocas críticas como o desmame, a transferência da creche para a terminação, em trocas de ingredientes na ração, em momentos de vacinação e antibioticoterapia (neste último caso, especialmente no momento posterior também) e em momentos de queda de imunidade geral do plantel.

A estratégia de se usar uma diversidade de bactérias tem apresentado resultados mais consistentes, em especial do que convencionamos chamar de saúde intestinal. Ela não evita completamente as desordens intestinais, mas reduz a sua severidade e duração e, principalmente, acelera a recomposição da flora saudável do intestino. Enquanto as primeiras gerações de probióticos conseguiam atingir melhoras de 3% no GPD e até 5% na eficiência alimentar (TOURNUT, 1998), as novas gerações de probióticos alcançam resultados de ganhos acima de 5% no GPD e acima de 10% na eficiência alimentar. Embora os ganhos em produtividade sejam significativos, tão importante quanto é a obtenção de uma flora mais equilibrada e saudável, reduzindo assim a necessidade de uso de antibióticos e óxido de zinco para controle de diarreias. O uso indiscriminado de antibióticos tem ocasionado o aumento da frequência de bactérias resistentes, dificultando assim a gestão sanitária do plantel.

Recomenda-se a ingestão de probióticos pelos leitões tão cedo quanto possível de forma a influenciar a formação de uma flora microbiana saudável, estável e resistente, mantendo em níveis muito reduzidos os micro-organismos indesejados.



Dr. André Viana
Chief Technology
Office

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a vida do suíno, o balanço da flora intestinal não é estável devido a vários fatores. Do nascimento, passando pelo estresse da desmama, pela mudança das características das dietas de creche até a fase de terminação, das quedas de imunidade provocado por manejo estressante dos animais como vacinações, transferências de instalações... Todos esses fatores podem provocar o desequilíbrio da flora intestinal. Os probióticos aparecem como uma alternativa de aditivo alimentar para melhorar o peso de leitões à desmama e minimizar casos de diarreias, reduzindo o uso de óxido de zinco e antibióticos. Também pode melhorar o ganho de peso e eficiência alimentar de animais ao abate, bem como ajuda a reduzir a perda de peso de porcas na fase de lactação (TOURNUT, 1998).