

Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de cães

Paulo Campos Christo Fernandes
Med. Veter., Doutorando em Ciência Animal
EV-UFMG - Belo Horizonte – MG
E-mail: fernandespcc@excite.com

Almir Vieira Silva
Eng. Agrôn., Doutorando em Zootecnia
DZO - Universidade Federal de Viçosa
Cep:36571-000 – Viçosa - MG
E-mail: avsilva@alunos.ufv.br

Norberto Mário Rodriguez
Prof. Titular, PhD em Ciência animal
EV-UFMG – Belo Horizonte-MG

Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira
Prof. Titular, PhD em Ciência dos alimentos
DTA - Universidade Federal de Viçosa
Cep: 36571-000 - Viçosa-MG
E-mail: ciferrei@mail.ufv.br

1. INTRODUÇÃO

A mucosa do trato gastrointestinal (TGI) possui o ambiente ideal para a colonização e crescimento de microorganismos (Richter,1992) que possuem grande importância na digestão e absorção dos nutrientes dietéticos tais como carboidratos, proteínas, lipídios, minerais e ainda participam da síntese de vitaminas (Kozasa, 1989). De acordo com Richter (1992), um outro papel importante da microflora, é preparar o intestino do neonato para futuramente ser

um órgão imunológico, visto que animais com ausência de colonização bacteriana em sua mucosa, possuem menos linfócitos e plasmócitos em sua lâmina própria se comparados aos animais convencionais. Assim sendo, a exposição intestinal aos antígenos bacterianos causa uma proliferação das células linfóides na lâmina própria do intestino. Outra importante atividade da microflora intestinal é que ela impede a fixação de microorganismos patogênicos por ocupação de sítios de ligação e, segundo Kozasa (1989), certas bactérias produzem substâncias antibacterianas como produto de seu metabolismo.

O feto no útero materno é estéril. o estabelecimento da microflora se dá no momento do nascimento quando ele passa pela vagina durante o parto e adquire microorganismos habitantes da flora vaginal da mãe (Fuller,1989). A partir daí inicia-se a formação da microflora do neonato que ainda vai sofrer influência do ambiente e, em poucas horas, estará definitivamente estabelecida uma relação simbiótica que perdurará pelo resto da vida do animal (Sharpe, 1981; Eving & Cole, 1994).

O crescimento da inquietação pública sobre o uso de antibióticos e seus possíveis problemas como toxicidade, alergias, e desenvolvimento de resistência (Montes & Pugh, 1993) tem estimulado o interesse clínico pelos probióticos como uma terapia auxiliar (Sissons, 1989; Parker, 1990). Por causa da popularidade dos probióticos na alimentação animal, vêm aparecendo várias formas destes produtos (Fox, 1988; Higginbotham & Bath, 1993; Montes & Pugh, 1993) o que torna muito importante a sua discussão de modo mais aprofundado.

2. O QUE SÃO PROBIÓTICOS

Através dos anos a palavra probiótico vem sendo usada de diversas maneiras. Ela foi usada originalmente para descrever substâncias produzidas por protozoários que estimulavam outras substâncias (Lilly & Stillwell, 1965), mais tarde foi usada para denominar suplementos microbianos que exerciam um efeito benéfico sobre o hospedeiro afetando a sua flora intestinal (Parker, 1974).

Em uma forma generalista este termo foi definido como “sendo organismos ou substâncias que contribuem para o equilíbrio da microflora intestinal”. No entanto esta definição não é satisfatória porque ela é imprecisa, já que permite a inclusão dos antibióticos nesse conceito, portanto, a melhor definição para probióticos seria “um suplemento alimentar microbiano vivo, capaz de afetar benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da sua microflora intestinal” (Fuller, 1989).

Fox (1988) definiu como probióticos os preparados bacterianos e combinações de leveduras, na sua maioria produtores de ácido láctico, administrados por via oral ou adicionados aos alimentos.

Mais recentemente, de acordo com Chesson (1993) apud Ewing & Cole (1994), existem dois termos que devem ser definidos distintamente e não podem ser confundidos, são eles: probiose e probióticos. Ele considera como sendo “probiose a propriedade normal da flora intestinal adulta de resistir ao crescimento excessivo de espécies que a compõe e ao estabelecimento de espécies estranhas a esta flora”, probióticos na sua opinião “visam reforçar ou estabelecer a probiose aonde ela foi quebrada por causa de um estresse

ambiental ou como resultado de tratamentos antibióticos em altas dosagens e/ou por longos períodos”.

3. A MICROFLORA NORMAL

As várias porções do TGI possuem funções e características morfológicas específicas. Desta forma, é esperado que os microorganismos presentes sejam também específicos em cada local de colonização, assim cada espécie microbiana colonizará segmentos do trato digestivo nos quais estará mais bem adaptada (Simon & Gorbach, 1984). Esta afirmativa pode ser verificada na tabela 1, que também apresenta a classificação das principais espécies observadas para cães nos seus respectivos “habitats”. Além das espécies bacterianas que estão sempre presentes no TGI e fazem o papel mais importante da população residente normal, existem ainda espécies que estão em menor número, como contaminantes e transientes oriundos da boca e da dieta.

Segundo Strombeck & Guilford (1991) a cavidade oral é considerada a maior fonte de bactérias que colonizam o TGI. O número de bactérias na boca é de 10^7 ufc por grama de secreções residuais. Já o estômago é praticamente livre de bactérias, possuindo apenas de 10^1 a 10^2 microorganismos por grama de secreções residuais, sendo que estes números aumentam após as refeições e abaixam significativamente após a secreção de ácido clorídrico. O intestino delgado vazio apresenta 10^1 a 10^2 microorganismos por grama de conteúdo na parte cranial e aumenta para 10^3 a 10^4 na parte caudal. No intestino grosso este número está entre 10^{10} a 10^{11} por grama de conteúdo.

4. REGULAÇÃO DA MICROFLORA INTESTINAL

A distribuição e o tamanho da população bacteriana intestinal é determinada pelas funções normais do TGI e pelos fatores ambientais que são capazes de interagirem no lúmen do trato digestivo.

A microflora estabelecida após o nascimento, permanece relativamente constante, a não ser que mudanças na função fisiológica do hospedeiro, de seu ambiente ou a troca da dieta, modifique o ambiente intra-luminal do trato digestivo (Smith & Crabb, 1961).

A regulação fisiológica da microflora intestinal é exercida por uma série de funções que são necessárias para manter cada espécie bacteriana em seus locais de colonização e em níveis normais de crescimento. Esta regulação previne possíveis efeitos patológicos tais como: crescimento anormal da flora residente, colonização por microorganismos de sítios atípicos da mucosa e fixação de microorganismos transientes ou patogênicos (Strombeck & Guilford, 1991).

Os seguintes fatores são responsáveis pela regulação da microflora intestinal:

- Secreções gástricas do ácido clorídrico:

A secreção normal de ácido clorídrico mantém o ambiente estomacal relativamente estéril uma vez que destrói as bactérias que conseguem alcançar o estômago. O ácido clorídrico ainda previne a colonização e/ou invasão do trato digestivo posterior por patógenos.

Quando a secreção de ácido clorídrico é inibida ou reduzida no intestino delgado dos cães, há um aumento do crescimento bacteriano (*E. coli* e *Clostridium*), na porção cranial deste segmento (Smith,1965; Broido, et al.1972; Simon & Gorbach,1984).

TABELA 01 - Composição da microflora do trato digestivo de cães com o número de microorganismos por grama de conteúdo de digesta

Família	Gênero	Class.	Boca	Estôm.	Intest. Delgado	Intest. Grosso
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i> *	AE	-			+
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i> *	ANF	-	10^1-10^3		10^7-10^8
	<i>Klebsiella</i> *	ANF		10^1-10^2	10^1-10^3	10^7-10^8
	<i>Enterobacter (aerobacter)</i> *	ANF		$10^{1,8}$	$10^{1,6}$	
	<i>Proteus</i> *	ANF				
Bacteroidaceae	<i>Bacteroides</i> *	AN	+	0	10^1	10^8-10^{10}
	<i>Fusobacterium</i> *	AN	+			
Neisseriaceae	<i>Neisseria</i>	ANF	+			+
	<i>Veillonella</i>	AN	+			$10^{5,9}$
Micrococcaceae	<i>Staphylococcus</i> *	ANF	+	$10^{0,4}$	$10^{0,4}$	$10^{4,7}$
Lactobacillaceae	<i>Streptococcus</i> *	ANF	+	$<10^1$	10^1-10^3	10^8-10^9
	<i>Lactobacillus</i> *	ANF	+	$<10^1-10^{1,3}$	10^2	10^8-10^9
	<i>Bifidobacterium</i> *	AN	+		+	$10^{6,6}$
	<i>Ruminococcus</i>					+
Propionobacteriaceae	<i>Eubacterium</i>	AN	-			+
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>	ANF	+			$10^{8,7}$
Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	AN				$10^{5,4}$
	<i>Clostridium</i> *	AN		$10^{0,3}-10^3$	$10^{0,1}-10^4$	$10^7-10^{9,1}$
Leveduras			-			10^5

*microorganismos de significado clínico

Fonte: Strombeck & Guilford (1991)

+ presente

- ausente

AE aeróbios

AN – anaeróbios

ANF – anaeróbios facultativos

- Peristaltismo intestinal:

O peristaltismo intestinal é necessário para manter baixas concentrações de bactérias no intestino delgado, prevenindo que os microorganismos se multipliquem excessivamente numa determinada porção do trato intestinal, expulsando-os rapidamente e impedindo sua fixação e multiplicação.

Quando ocorre a perda da função peristáltica, o número de bactérias gastrointestinais pode aumentar e microorganismos fecais podem aparecer na parte cranial do intestino delgado. Nestas circunstâncias *Bacteroides*, *Bifidobateria* e *Coliformes* passam a ser predominantes (Sumners & Kent, 1970).

- Barreira mucosa :

A barreira mucosa é uma camada de células com uma superfície protetora de mucopolissacarídeos e imunoglobulinas. Ela previne a colonização bacteriana, e por consequência evita a invasão e aderência de bactérias patogênicas, dificultando a absorção de toxinas. Além disso, a população de bactérias não patogênicas, normalmente aderidas à superfície da mucosa, previne a colonização por bactérias patogênicas transientes.

Sendo consideradas exceções, *Shiguella*, *Salmonella* e *E. coli*, são espécies enteroinvasivas e a barreira é efetiva em prevenir a invasão de um grande número de microorganismos intestinais (Rowley, 1974).

- Imunoglobulinas:

As imunoglobulinas são sintetizadas pelo hospedeiro na lâmina própria e são barreiras importantes contra doenças. As imunoglobulinas do tipo IgA são

produzidas nas células do plasma e secretadas na superfície das células das mucosas, no entanto são direcionadas a organismos específicos, potencialmente patogênicos; portanto, elas não regulam o número de bactérias normalmente existente no lúmen intestinal, mas visam diretamente os agentes patogênicos (Clancy & Bienenstock, 1976).

- Intra-regulação da microflora bacteriana:

A população bacteriana normal é muito estável dificultando assim a colonização do intestino por outras bactérias. Esta estabilidade é comprovada pela possibilidade de um segmento intestinal possuir certas espécies e outro segmento possuir espécies diferentes. Agentes potencialmente patogênicos, quando ingeridos, na maioria das vezes não são capazes de produzir doenças.

- Dieta do animal

A influência exercida pela alimentação tem sido mais estudada em seres humanos, embora se saiba que ela também atua na microflora intestinal dos animais. Poucos estudos discutiram o efeito da dieta na microflora normal em diferentes sítios no TGI. Alguns destes estudos descrevem efeitos da dieta mudando o local da colonização de algumas espécies bacterianas, bem como a sua quantidade no TGI. A deficiência de proteína na dieta, por exemplo, está associada com a diarreia tropical, que se caracteriza pelo aumento do número total de bactérias no intestino delgado e por um índice além do normal de coliformes.

Deste modo, torna-se claro que a dieta pode causar mudanças na população de microorganismos e levar o animal a processos patológicos, e

neste sentido, muitos pontos ainda precisam ser esclarecidos. Também é possível que o crescimento exacerbado da microflora seja um evento secundário à má nutrição, sendo que ela geralmente tem um efeito na colonização por uma grande variedade de microorganismos, que levam a algumas doenças crônicas e debilitantes.

A mudança na dieta é capaz de influenciar a microflora no intestino delgado com maior intensidade do que no intestino grosso. Em alguns casos ocorre o crescimento de leveduras e microorganismos anaeróbios.

A dieta também pode provocar mudanças na ação da atividade das enzimas fecais, por exemplo, afetam a produção e ação da β -gluconidase, β -glucosidase, β -galactosidase, nitroreductase, azoreductase, α -dehidroxilase, e colesterol desidrogenase. As dietas ricas em proteínas oriundas do leite e em fibras, são capazes de produzir mudanças significativas na atividade das enzimas bacterianas fecais, e estas mudanças estão associadas com a redução de incidência de alguns distúrbios intestinais (Dubos, 1965, Smith, 1965, Hill et al., 1971 apud Strombeck & Guilford, 1991).

5. AGENTES ANTIBACTERIANOS EXÓGENOS E ENDÓGENOS

Existem fatores exógenos e endógenos regulando o crescimento bacteriano intestinal. O regulador endógeno de maior importância é o ácido biliar, que é capaz de inibir o crescimento de muitos microorganismos intestinais (Floch et al., 1972). Por ser regulado pela ingestão de gordura, os níveis desse

ácido aumentam sua concentração fecal quando a gordura está elevada na dieta. O aumento dos níveis de ácidos biliares no cólon pode determinar desordens crônicas, pois os ácidos biliares que chegam a essa região são metabolizados a ácidos biliares desconjugados e formas hidroxiladas que interferem com a absorção de fluidos e na motilidade dos intestinos delgado e grosso (Midtvet, 1974).

Entre os agentes exógenos os antibióticos merecem maior destaque no papel da regulação do crescimento bacteriano intestinal, sua administração aos animais pode ter o propósito de eliminar, suprimir ou alterar drasticamente a flora microbiana (Guillot & Lafont, 1989).

O uso de um único produto antibacteriano é pouco eficaz contra aeróbios e anaeróbios ao mesmo tempo, e devido ao evento do aparecimento da resistência bacteriana a um grande número destes produtos, pode ocorrer a supressão das bactérias da microflora que ainda continuam sensíveis à sua ação antimicrobiana e com isso pode favorecer o restante da flora, aumentando ainda mais os desequilíbrios existentes. De fato alguns estudos revelaram que a supressão efetiva de anaeróbios sem nenhum efeito sobre aeróbios pode causar o aumento de coliformes em certas partes do intestino além dos níveis normais resultando em morte do hospedeiro. Este é um exemplo extremo, mas mostra o que pode ocorrer se antibióticos forem usados indiscriminadamente no trato digestivo (Strombeck & Guilford, 1991).

Nestes casos os probióticos se apresentam como um potencial agente de uso auxiliar nos tratamentos com substâncias antibióticas.

6. COMO AGEM OS PROBIÓTICOS

Existem alguns modos de atuação propostos para os probióticos em relação à sua atividade contra microorganismos patógenos, aumentando a resistência do hospedeiro às desordens gastrointestinais (Fox, 1988; Fuller, 1989; Sissons, 1989; Porubcan, 1990; Vanbelle et al. 1990; Montes & Pugh, 1993; Stewart & Chesson, 1993; Wu et al., 1993).

As seguintes hipóteses são cogitadas como sendo possíveis mecanismos de ação dos probióticos no animais hospedeiros:

- Competição pelos sítios de adesão

Sugere-se que certas espécies de bactérias produtoras de ácido láctico competem com coliformes por sítios de aderência intestinais (Sissons, 1989), entretanto, Vanbelle (1990), relata em um estudo conduzido na França com espécies de *Bifidobacterium*, que a propriedade de competir pelos sítios de adesão é dependente do número de bactérias viáveis que chegam ao local a ser colonizado e do tipo de receptor específico para a bactéria. Além disto, acredita-se na existência de interrelações entre alguns dos metabólitos produzidos pelas espécies probióticas.

Algumas espécies de *Bifidobacterium* têm afinidade de ligação pelos receptores β - glucosamine que são os mesmos sítios de ligação de algumas espécies de *E. coli* enteropatogênicas. Deste modo, a hipótese da competição por sítios de adesão pode ser comprovada em alguns casos específicos.

- Atividade antimicrobiana

A produção de ácido láctico e acético pelas bactérias utilizadas como probióticos reduzem o pH do ambiente do trato gastro intestinal, prevenindo o crescimento de vários patógenos inclusive de coliformes, e permitindo o desenvolvimento de certas espécies de *Lactobacillus* (Klaenhammer, 1982; Atherton & Robbins, 1987). Outras substâncias antimicrobianas como bacteriocinas, nisina, acidofilina, lactalina, e toxinas letais para certos patógenos também são produzidas por microorganismos de ação probiótica. Possivelmente elas também colaboram para o equilíbrio microbiano da mucosa intestinal (Geder, 1974,1975; Brugier & Patte, 1975; Tagg et al., 1976; Lipinska,1977; Harasowa et al., 1980; Gedek, 1980, 1981, 1984, 1986; Polonelli & Morace, 1986 ; apud Vanbelle et al., 1990), e esta afirmativa foi comprovada por Shahani et al (1976) que demonstraram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana do *L. acidophilus* e do *L. bulgaricus*.

- Neutralização de enterotoxinas

Alguns estudos mostram que certos microorganismos produzem metabólitos que são capazes de neutralizar os efeitos de enterotoxinas produzidas por coliformes (Sissons,1990), e ainda reduzem a absorção de substâncias tóxicas, como por exemplo, da amônia (Vanbelle et al., 1990). Segundo Stewart & Chesson., (1993), probióticos contendo *Bifidobacterium* previnem a formação de aminas tóxicas pelas bactérias intestinais.

- Aumento da imunidade

Nos recém-nascidos a imunidade é o resultado da exposição intestinal a uma variedade de antígenos, tais como bactérias patogênicas e proteínas dietéticas, o que é importante na defesa dos animais jovens contra diarreia (Porter et al. 1977; Newby et al. 1984; apud Sissons, 1990). As bactérias produtoras de ácido láctico aumentam a atividade de macrófagos e linfócitos (Sissons, 1990) e ainda podem estimular o sistema imunológico através da produção de vitaminas e do aumento da capacidade das células das microvilosidades de absorverem lactose, sacarose e maltose, não deixando estes açúcares disponíveis para o crescimento de patógenos (Vanbelle et al., 1990). Stewart & Chesson (1993) relataram que os probióticos parecem possuir uma ação anti-carcinogênica.

Como foi visto, os mecanismos de ação dos probióticos podem ser vários entretanto, é necessária uma melhor compreensão da forma pela qual os probióticos mantêm o equilíbrio da microflora, em favor de bactérias benéficas, no intestino de animais jovens (Vanbelle, 1989).

7. QUANDO USAR PROBIÓTICOS

Levando em consideração a importância da flora intestinal e a ação das bactérias dessa microflora na manutenção da “saúde” do ambiente intestinal (Tab. 2 e 3), vários autores concordam que o probiótico pode ser usado em qualquer situação em que o equilíbrio da microflora intestinal possa estar sendo afetado (Fuller, 1989; Kozasa, 1989; Porubcan, 1990; Vanbelle et al., 1990).

Segundo Willians (1991), o uso de probióticos em monogástrico pode ser recomendável em três diferentes situações:

- Ajudar na manutenção da estabilidade da flora intestinal não patogênica;
- Restaurar a estabilidade da microflora intestinal após um desequilíbrio;
- Promover a estabilidade da microflora intestinal não patogênica nos recém-nascidos.

Os fatores mais importantes responsáveis pelo desequilíbrio da microflora intestinal estão associados ao estresse, qualquer que seja sua forma (doenças, trocas alimentares, desmama, mudança brusca de ambiente, etc), e ao uso de antibióticos orais (Kosaza, 1989; Fuller, 1989; Porubcan, 1990; Vanbelle, 1990). Fuller (1989) ainda considera a higiene excessiva, capaz de restringir o acesso da mãe ao recém nascido, um fator que influencia no equilíbrio da microflora intestinal (Fig.01).

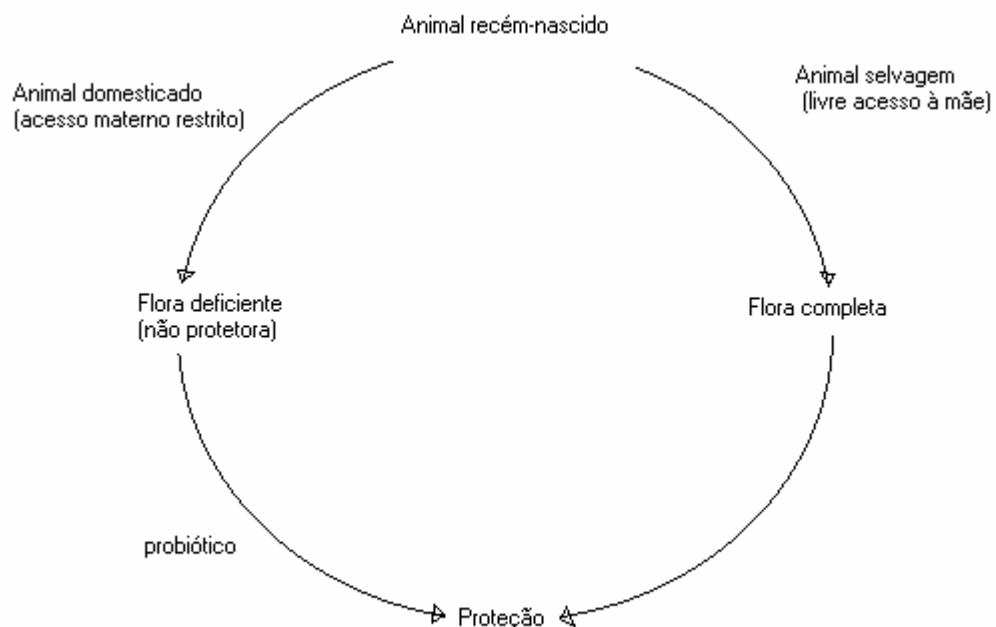
Existe a opinião popular de que eles reduzem a variação no consumo (Zinn & Shen, 1994), aumentam a eficiência da conversão alimentar e a longevidade, previnem diarreias em animais jovens (Sissons, 1989) e ajudam a estabilizar a população microbiana normal dos intestinos (Higginbotham & Bath, 1993).

Alguns autores citam a indicação terapêutica para os probióticos. Tornut (1989), diz que esta ação terapêutica depende do momento em que o probiótico for introduzido, em infecções subclínicas do trato gastro intestinal, onde os patógenos ainda não conseguiram multiplicar-se, seu uso foi efetivo, porém depois da multiplicação dos patógenos o resultado não foi satisfatório mas houve ainda influência do probiótico. Porém em condições nas quais os animais já apresentavam sinais clínicos nenhum efeito curativo foi observado. Este

mesmo autor recomenda o uso de probióticos principalmente como preventivo nas infecções bacterianas de animais recém-nascidos.

Molitor (1996), usando como probiótico a bactéria *Enterococcus faecium* como aditivo alimentar para cães, não observou nenhum efeito benéfico em cães saudáveis.

Figura 01 - Fontes de microrganismos em animais recém-nascidos, selvagens e domésticos



Fonte: Fuller (1989)

TABELA 02 - Efeitos benéficos das bactérias intestinais ao hospedeiro

GÊNERO	Síntese de vitaminas e proteínas	Auxílio na digestão e absorção de alimentos	Previnem a colonização por patógenos	Antagonizam bactérias prejudiciais ao intestino
<i>Bacteroidaceae</i>	+	+	+	+
<i>Peptostreptococcus</i>			+	+
<i>Eubacterium</i>			+	+
<i>Lactobacillus</i>				+
<i>Bifidobacterium</i>	+	+		+
<i>Spirillaceae</i>	+		+	+
<i>Escherichia coli</i>	+			+
<i>Streptococcus</i>				+

TABELA 03 - Efeitos das bactérias intestinais prejudiciais ao hospedeiro

GÊNERO	Putrefação no intestino	Aerogênese	Toxinogênese	Patogenicidade
<i>Bacteroidaceae</i>	+			
<i>Peptostreptococcus</i>		+		
<i>Eubacterium</i>		+		
<i>Lactobacillus</i>		+		
<i>Escherichia coli</i>	+	+		+
<i>Streptococcus</i>				+
<i>Clostridium</i>	+	+	+	
<i>Staphylococcus</i>	+		+	+
<i>Pseudomonas</i>	+		+	+
<i>E. coli</i> (patogênica)	+		+	+
<i>Proteus</i>	+			+
<i>Bacteroidaceae</i> (patogênica)		+	+	+

Fonte kozasa (1989)

Os probióticos são mais comum e eficientemente utilizados em ocasiões estressantes como desmama, mudança de alimentação, falha na ingestão de colostro, transporte dos animais para um novo local, alta concentração de animais, doenças concorrentes e após tratamento com antibióticos (Montes & Pugh, 1993).

8. POSSÍVEL COMPOSIÇÃO DE PROBIÓTICOS PARA CANINOS

Os probióticos disponíveis no mercado atual são constituídos em sua maioria por cepas de *Lactobacillus* e ou *Streptococcus*, poucos contém *Bifidobacteria* (Fuller, 1989). No mercado brasileiro, foram encontrados apenas dois produtos probióticos comerciais para cães (Tab. 04).

A maior concentração de bactérias do TGI normal está no intestino grosso, e especialmente na espécie canina as bactérias mais comuns nesta parte do intestino são os *Bacteroides* e *Bifidobacterium* (Richter, 1992).

Kosaza (1989), divide os organismos usados como probióticos em quatro grupos: aeróbios, anaeróbios, bactérias produtoras de ácido láctico e leveduras. Os aeróbios compreendem bactérias formadoras de esporo tal como o gênero *Bacillus*; os anaeróbios são bactérias formadoras de esporo como os *Clostridium*; as produtoras de ácido láctico são as *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* e *Enterococcus* não formadoras de esporo.

O mesmo autor ainda relata que em casos de diarreia aguda de cães, caracterizada pelo decréscimo da contagem fecal de *bifidobacteria* e aumento de

E. coli hemolítica e *Clostridium perfringes*, o tratamento com *Bifidobacterium pseudolongum* foi efetivo (Fig. 02).

O gênero *Bifidobacterium* trabalha sinergicamente com o *Lactobacillus acidophilus* e ambos são necessários para manter a saúde do trato gastro intestinal (<http://www.bgarc.com/probiot.html>).

O *Lactobacillus acidophilus* tem sido descrito como possuindo atividade antimicrobiana foi constatado o efeito inibitório de 12 espécies de *L. acidophilus* contra 9 tipos diferentes de microorganismos testados, incluindo *E. coli* e *Staphilococcus aureus* (Shahani et al., 1976),

Tabela 04: Alguns produtos probióticos para cães existentes no mercado nacional e internacional

Produto e Distribuidor	Microorganismos	Apresentação comercial
Biocanis (Bioteclnal - Brasil)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Sterptococcus Faecium</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pasta
Must (Soccil - Brasil)	Paciflor*	Adicionado à ração
Fastrack (Conklin)	<i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Enterococcus faecius</i> , leveduras e vitaminas A e E.	Gel
Korolac B & D (Nisshin F.M. - Japão)	<i>Bifidobacterium thermophilum</i> , <i>Bifid. pseudolongum</i>	Adicionado à ração e como produtos veterinários

* Paciflor = *Bacillus cereus*

9. COMO DEVE SER UM BOM PROBIÓTICO

Vários pontos devem ser considerados na seleção dos microorganismos a serem usados como probióticos (Simon & Gorbach, 1987 apud Strombeck &

Guilford, 1991; Fuller, 1989; Vanbelle, 1990; Sissons, 1990; Montes & Pugh, 1993):

- Primeiramente, os microorganismos escolhidos como constituintes dos probióticos devem ser habitantes normais do TGI de animais saudáveis, e devem ser espécie-específicos. As cepas isoladas e adequadas para suínos, por exemplo, podem não ter a mesma atividade em outras espécies animais (Fuller, 1989);

- Os microorganismos devem ser capazes de produzir culturas viáveis em concentrações efetivas. Embora estas medidas de concentrações não sejam conhecidas estima-se que devam ser superiores a 10^8 a 10^{11} UFC (Unidades Formadoras de Colônia)/por grama. Eles devem ser cultivados em um ambiente muito semelhante ao que vão ser introduzidos, do contrário seu tempo de crescimento vai ser prolongado e eles não conseguirão se multiplicar e colonizar o intestino

- Os probióticos devem possuir bactérias capazes de serem ativadas e multiplicadas rapidamente, após a ingestão do produto, com o intuito de inibir patógenos e propiciar às condições de resistência ao peristaltismo;

- Os microorganismos devem ser tolerantes às enzimas salivares, ácidos estomacais, sais biliares no intestino delgado e ácidos orgânicos voláteis no intestino grosso;

- Eles devem ser capazes de aderir às células epiteliais do intestino;

- O microrganismo que irá compor um probiótico jamais pode ser patogênico e capaz de produzir efeitos adversos para o hospedeiro.
- O probiótico deve ser estável e precisa manter sua viabilidade por longos períodos quando estocados.
- O microrganismo deve resistir a antibióticos e a altas temperaturas de processamento.
- A cepa microbiana utilizada na formulação de um probiótico deve ser de eficiência comprovada no organismo animal (Fernandes, 1995).

10. PROCEDIMENTOS RECOMENDADOS PARA A INTRODUÇÃO DE UM BOM PROBIÓTICO

Para introduzir no mercado produtos probióticos de boa qualidade e eficácia é necessário que mais alguns pontos sejam observados:

- Devem ser realizados testes *in vitro* e *in vivo*, usando-se metodologias corretas de modo a selecionar as cepas e espécies microbianas mais adequadas aos animais em questão.
- Realizar estudos de viabilidade econômica na elaboração do produto comercial.
- O produto deve ser capaz de ter um prazo de validade (“vida de prateleira”) duradoura e manter-se estável durante este período. Deverá, preferencialmente, poder ser armazenado sem a necessidade de refrigeração.

Ao introduzir probióticos desenvolvidos em outros países, considerar que o Brasil é um país tropical que possui variadas alterações climáticas ao longo do ano, o que pode comprometer o período de validade do produto;

- O rótulo deve apresentar especificações e descrições do produto tais como: não se trata de um produto nutricional completo; se o produto pode ser administrado junto com outros tipos de alimentos; os propósitos do produto; a espécie ou categoria animal a que se destina; a quantidade a ser oferecida ao animal diariamente; as espécies bacterianas utilizadas na sua formulação e recomendar condições de armazenamento do produto e sua validade;

- Prestar esclarecimentos ao consumidor de quando fazer uso dos probióticos;

- Treinamento do corpo técnico da empresa, por ser tratar de uma “novidade” para a maioria dos consumidores;

- Somente comercializar um produto que tenha sua ação comprovada cientificamente e com respaldo de instituições de pesquisas de credibilidade, de preferência realizar testes com pesquisadores autônomos e independentes.

Todas estas medidas vão garantir a credibilidade do produto por parte dos clientes e profissionais da área, proporcionando também a tranquilidade de ter sido introduzido no mercado um produto de qualidade comprovada.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mercado para o uso de probióticos nas diferentes espécies animais vem crescendo, e só no Japão este mercado movimentou 500 milhões de Yens por ano (Kozasa, 1989). Por ser um mercado atrativo algumas empresas têm lançado produtos que não são comprovadamente capazes de atender as determinações de um bom probiótico, isto é ruim pois pode criar na mente do consumidor a imagem que o uso do probiótico é ineficaz.

É imperativo que sejam feitas mais pesquisas com critérios definidos para determinar quais seriam as melhores espécies probióticas para cães e em que situações poderiam realmente ser utilizadas. Como exemplo, pode-se questionar se determinado probiótico possui comprovadamente efeitos contra diarreias bacterianas ou se tem alguma atuação sobre as diarreias viróticas causadas por parvovírus e/ou coronavírus, que são as causas mais comuns de diarreia e que levam ao óbito um grande número de cães jovens. Seria também interessante a realização de verificações relacionadas ao incremento na resposta imunológica de cães jovens, sobretudo no período em que anticorpos maternos ainda interferem na resposta à vacinação, bem como a busca a prevenção de diarreias em filhotes alimentados com substitutos do leite.

As pesquisas relativas aos probióticos estão ainda em uma fase inicial em todo o mundo e as possibilidades de uso ainda não foram totalmente dimensionadas. Este trabalho teve o intuito de colaborar para um maior esclarecimento dos profissionais ligados à clínica de caninos no Brasil.

12. BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, N.V. **Veterinary gastroenterology**, 1980.
- ATHERTON, D., ROBBINS S. Probiotics - a european perspective. In: LYONS,T.P. (ed), **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1987, p.166-176.
- BROIDO, P.W., GORBACH, S.L., CONDON, R.E. et al., Upper intestinal microflora control. **Arch. Surg.** N.106, v.90-93, 1973.
- CLANCY, R., BIENENSTOCK, J., Secretary immunoglobulins. **Clin. Gastroenterology**, v.5, p.229-249, 1976
- EWING, W.N., COLE, D.J.A., **An introduction to micro-organisms in nutrition**, 1994, 220p.
- FERNANDES, P.C.C. Lactobacillus sp na alimentação de bezerros pré-ruminantes. **Seminário de Zootecnia da EV-UFMG**, 1995. 5p.
- FLOCH, M.H., BINDER, H.J., FILBURN, B., et al., The effect of bile acids on intestinal microflora, **Amer. J. Clin. Nutr.**, v.25, p. 1418-1426, 1972
- FOX, S.M. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. **Vet. Med.** v.83, n.8, p.806-830, 1988.
- FULLER, R. Probiotic in man and animals - a review. **J. Appl. Bact.** v.66, p.365-378, 1989.
- GUILLOT, J.F., LAFONT, J.P. Antibiotics and the intestinal microflora, **Rev.Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v.8, n.2, p.453-464, 1989
- HIGGINBOTHAM, G.E., BATH, D.L. Evaluation of Lactobacillus fermentation cultures in calf feeding systems. **J. Dairy Sci.** v.76, n.2, p. 615-620, 1993.
- KLAENHAMMER, T.R. Microbiological considerations in selection and preparation of Lactobacillus strains for use as dietary adjuncts. **J. Dairy Sci.** v.65, n.7, p.1339-1349, 1982.
- KOZASA, M. Probiotics for animal use in Japan. **Rev. Sci. Tech. Int. Epiz.** v. 8, n.2, p. 517-531, 1989.
- LILLY, D.M, STILLWEL, R.H. Probiotics grow promoting factors produced by micro organisms. **Science**, v.147, p.747-748, 1965.
- MOLITOR D., In vitro and in vivo effects of a probiotic (Enterococcus faecium) as feed additive in dogs. **Tierärztliche Hochschule Hannover** 1996 (resumo).
- MIDTVET, T. Microbial bile acid transformation. **Amer. J. Clin. Nutr.**, n.27, p.1341-1347, 1974

- MONTES, A.J., PUGH, D.G. The use of probiotics in food-animal practice. **Vet. Med.** v.88, n.3, p.282-288, 1993.
- PARKER R.B. probiotics, the other half of the antibiotic story. **Anim. Nutrition Health.** V.29, p.4-8, 1974
- PARKER, D.S. Manipulation of the functional activity of the gut by dietary and other means (antibiotics/probiotics) in ruminants. **J. Nutr.** v.120, n.6, p.639-648, 1990.
- PORUBCAN, R.S. Probiotics in the 1990s. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v.12, n.9, p.1353-1359, 1990.
- RICHTER, K.P. Moléstias do intestino grosso. In: ETTINGER, S.J. (ed), **Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e gato.** p.1462-1486, 1992.
- ROWLEY, D., Specific immune antibacterial mechanism in the intestine of mice. **Amer. J. Clin. Nutr.** v.27, p.1417-1423, 1974
- SHAHANI, K.M., VAKIL, J.R., KILARA, A. Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. **Cult. Dairy Prod. J.**, v. 11, p. 14-17, 1976.
- SHARPE, M.E. The genus *Lactobacillus*. In: STARR, M.P., SOLP, H., TRUPER, H.G. et al. (ed). **A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria.** New York: Springer-verlag, v.2, 1981, p.1653-1679.
- SIMON, G.L., GORBBACH, S.L. Intestinal flora in health and disease. **Gastroenterology**, n.86, p.174-193, 1984.
- SISSONS, J.W. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals - a review. **J. Sci. Food Agric.**, v.49, n.1, p.1-13, 1989.
- SMITH, W.H., CRABB, W.E., The faecal bacterial flora of animals and man, its development in the young. **J. Path Bact.**, n.82, p.53-66, 1961.
- SMITH, H. W. Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. **J. Path. Bact.** v.89, p.95-122, 1965.
- STEWART, C.S., CHESSON, A. Making sense of probiotics. **Pig Vet. J.**, v.31, p.11-33, 1993
- STROMBECK, D.R., GUILFORD, W.G. **Small Animal Gastroenterology**, 2^oed, 1991, 774p.
- SUMNERS, R.W., KENT, T.H. Effect of altered propulsion on rat small intestinal flora, **Gastroenterology**, v.59, p.740-744, 1970.

- TORNUT, J. Les probiotiques en élevage: applications. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v.8, n.2, p.533-549, 1989.
- VANBELLE, M. The european perspective on the use of animal feed additives: a world without antibiotics, anabolic agents or growth hormones? In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY. ANNUAL SYMPOSIUM, 5, Nicholasville, 1989. **Proceedings**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1989, p.191-208.
- VANBELLE, M., TELLER,E., FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review. **Arch. Anim. Nutr.**, Berlim, v.40, n.7, p. 543-567, 1990.
- WU, J.F., The microbiologist's function in developing action-specific microorganisms. In: LYONS L.P. (ed). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1987, p.181-199.
- ZINN, R.A., SHEN Y. Probiotics in diets for feedlot cattle. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL E SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 1994, Campinas. **Anais**: Campinas: CBNA, p.185-196.