

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA GASTROINTESTINAL E SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE UM COMPOSTO COMERCIAL CONTENDO SIMBIÓTICOS: ESTUDO IN VITRO

LAÍS M. ANTUNES², ADRIANA DAUSEN MEYER¹, ANTÔNIO ROBERTO BACILA¹, ANANDA P. FÉLIX², MARIA CAROLINA DE OLIVEIRA RIBEIRO³

¹Organnact, Curitiba, PR, Brasil. ²Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil. ³Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Ponta Grossa
Contato: lais.dma@gmail.com / Apresentador: LAÍS M. ANTUNES

Resumo: O desenvolvimento de produtos com probióticos exige a seleção de microrganismos eficazes, como também a garantia de que eles sejam capazes de sobreviver e se manter viáveis ao longo do trato gastrointestinal (TGI). Além disso, é importante que os probióticos sejam resistentes aos agentes antimicrobianos comumente utilizados no tratamento de infecções em cães. Este estudo avaliou a resistência gastrointestinal de cepas probióticas de um composto comercial, utilizando um modelo *in vitro* e testou sua sensibilidade aos principais antibióticos utilizados na rotina clínica veterinária. Os resultados mostraram que as cepas probióticas são resistentes às condições adversas do TGI, mantendo-se viáveis. Acredita-se que, *in vivo*, a concentração dos probióticos possa ser ainda maior, pois no modelo *in vitro* há ausência do bolo fecal que normalmente atuaria como uma barreira protetora para os microrganismos no TGI. Em relação à sensibilidade aos antimicrobianos, o composto simbiótico demonstrou resistência a Metronidazol, Cefalexina, Azitromicina e Amicacina, mas sensibilidade à Enrofloxacina e Doxiciclina. Esses achados reforçam a importância de avaliar a eficácia dos probióticos, como também sua compatibilidade com tratamentos convencionais, visando garantir o sucesso terapêutico.

PalavrasChaves: resistência a antibióticos; trato gastrointestinal canino; viabilidade probiótica

EVALUATION OF GASTROINTESTINAL RESISTANCE AND ANTIMICROBIAL SENSITIVITY OF A COMMERCIAL PROBIOTIC COMPOUND: IN VITRO STUDY

Abstract: The development of probiotic products requires selecting effective microorganisms and ensuring their survival and viability throughout the gastrointestinal tract (GIT). Additionally, probiotics must be resistant to antimicrobial agents commonly used in canine infection treatments. This study evaluated the gastrointestinal resistance of probiotic strains in a commercial compound using an *in vitro* model and assessed their sensitivity to antibiotics used in veterinary practice. Results showed that the strains resisted adverse GIT conditions, maintaining viability. It is speculated that, *in vivo*, concentrations could be higher, as the absence of a food matrix or fecal matter—normally protective barriers—was not present in the *in vitro* simulation. Regarding antimicrobial sensitivity, the probiotic was resistant to Metronidazole, Cephalexin, Azithromycin, and Amikacin, but sensitive to Enrofloxacin and Doxycycline. These findings highlight the importance of evaluating probiotic efficacy and compatibility with conventional treatments to ensure therapeutic success.

Keywords: antibiotic resistance; canine gastrointestinal tract; probiotic viability

Introdução: A utilização de simbióticos para cães tem ganhado destaque devido ao seu potencial de modulação da microbiota intestinal (Garcia-Mazcorro et al., 2017). No entanto, a eficácia dos microrganismos depende da capacidade de sobrevivência às condições adversas do trato gastrointestinal (TGI), como o pH gástrico e sais biliares, além de manterem-se viáveis até o cólon, local onde vão exercer seus efeitos benéficos (Schrezenmeir & de Vrese, 2001). Além disso, a resistência dos probióticos a antimicrobianos é importante para garantir a viabilidade dos microrganismos durante tratamentos concomitantes, assegurando sua funcionalidade (Costa et al., 2017). Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a resistência gastrointestinal de cepas probióticas presentes em um simbiótico, utilizando um modelo *in vitro*, e testar sua sensibilidade aos principais antibióticos utilizados na rotina clínica veterinária para garantir a eficácia e segurança desses microrganismos em tratamentos combinados.

Material e Métodos: O produto simbiótico, com nível de garantia apresentado na tabela 1, foi analisado em laboratório, utilizando metodologias padronizadas e adaptadas para simulação *in vitro* da passagem do composto pelo TGI de cães, seguindo protocolos de Genehr et al. (2024) e Melo et al. (2021). Os reagentes utilizados na simulação do suco gástrico e o suco entérico estão apresentados na tabela 2. Os sucos foram filtrados em membrana de 0,45 µm e armazenados sob refrigeração. Para reativação, 2 g do produto foram incubados em água peptonada a 37°C (bactérias e levedura) por 30 minutos e homogeneizados em Stomacher por 2 minutos. A simulação do TGI iniciou com a incubação das amostras em suco gástrico a 38°C por 4 horas (120 rpm), seguida de transferência para suco entérico nas mesmas condições. As populações de células viáveis foram quantificadas no início (T0), após suco gástrico (T1) e suco entérico (T2). Para avaliação da sensibilidade a antimicrobianos (Enrofloxacina 5 µg, Metronidazol, Doxiciclina 30 µg, Cefalexina 30 µg, Azitromicina 15 µg e Amicacina 30 µg) o composto foi reativado a 37°C por 24 horas, semeado em ágar Muller Hinton e submetido ao método de disco-difusão (CLSI M2-A8). Os halos de inibição foram medidos após incubação a 37°C por 48 horas em aerobiose e anaerobiose.

Resultado e Discussão: Os resultados deste estudo demonstram que o composto comercial avaliado apresentou viabilidade microbiana durante a simulação do TGI de cães, com um aumento na população de células viáveis no tempo T1 (após suco gástrico), em comparação ao T0 (inicial). Esse aumento pode ser atribuído aos *Bacillus subtilis* (Bs), que passaram da forma esporulada para a forma vegetativa durante a exposição ao suco gástrico. Esse comportamento é consistente com estudos anteriores que destacam a capacidade de sobrevivência do Bs a condições adversas, como o pH estômago, devido à sua

capacidade de esporulação (Cutting, 2011). No entanto, a população de células viáveis no tempo T2 (após suco entérico) foi menor que a população inicial, podendo ser explicado pela ausência de matriz alimentar ou bolo fecal no modelo in vitro, que normalmente atuariam como barreira protetora para os microrganismos no TGI (Melo et al., 2021). Essa redução na viabilidade em condições simuladas reforça a importância das limitações dos modelos in vitro ao extrapolar os resultados para condições in vivo. Sobre a sensibilidade antimicrobiana, o composto mostrou-se sensível apenas à Enrofloxacin (5 µg) e Doxiciclina (30 µg), enquanto resistência aos outros antimicrobianos foi observada, como Metronidazol, Cefalexina, Azitromicina e Amicacina. Essa resistência pode ser vantajosa, pois permite que os probióticos mantenham sua funcionalidade durante tratamentos com esses fármacos, auxiliando na prevenção de disbioses intestinais associadas ao uso de antibióticos (Garcia-Mazcorro et al., 2017).

Tabela 1 - Produto simbiótico comercial

NÍVEL DE GARANTIA	
por dose (2 tabletes)	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (mín.)	1,8 x 10 ⁸ UFC
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (mín.)	6,0 x 10 ⁸ UFC
<i>Enterococcus faecium</i> (mín.)	4,8 x 10 ⁸ UFC
<i>Lactocaseibacillus casei</i> (mín.)	4,8 x 10 ⁸ UFC
<i>Lactobacillus lactis</i> (mín.)	3,6 x 10 ⁸ UFC
<i>Bacillus subtilis</i> (mín.)	2,4 x 10 ⁸ UFC
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (mín.)	2,4 x 10 ⁸ UFC
Glutamina (mín.)	9,8 mg
Mananoligossacarídeos (mín.)	1,7 mg
Inulina (mín.)	0,88 mg
Vitamina B12 (mín.)	0,29 mcg

Tabela 2 - Composição dos sucos gástrico e entérico in vitro

Componentes	Suco Gástrico	Suco entérico
Cloridrato de sódio	125 mM	22mM
Cloridrato de potássio	7,0 mM	3,2mM
Bicarbonato de potássio	45,0 mM	7,6 mM
Pepsina	3,7 g	-
Pancreatina	-	1,0 g/L
Sais biliares	-	1,5 g/L
pH	2,0	6,8

Tabela 3 - Resultados da viabilidade probiótica em simulação do TGI in vitro

Produto Simbiótico	T0 (UFC/g)	T1 (UFC/g)	T2 (UFC/g)
Cepas bacterianas	5,7x10 ⁴	6,3x10 ⁵	6,3x10 ⁶
Levedura	1,2x10 ⁵	2,0x10 ⁴	2,9x10 ⁶

Conclusão: Em conclusão, os resultados indicam que o composto simbiótico é capaz de sobreviver às condições adversas do TGI canino. Além disso, a sensibilidade seletiva a antimicrobianos sugere que o produto pode ser utilizado de forma segura em conjunto com tratamentos específicos, contribuindo para a manutenção da saúde intestinal durante a antibioticoterapia.

Agradecimentos: Agradecemos à Organnact e VB Alimentos pelo apoio ao laboratório.

Referências Bibliográficas: 1.COSTA, M. C. et al. Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. Veterinary Journal, v. 225, p. 1-7, 2017.1.CUTTING, S. M. Bacillus probiotics. Food Microbiology, [S.l.], v. 28, n. 2, p. 214-220, 2011.2.GARCIA-MAZCORRO, J. F. et al. Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs. FEMS Microbiology Ecology, [S.l.], v. 93, n. 5, 2017.3.GENERH, F.C.; et al. Enterococcus faecium M7AN10 probiótico em matriz alimentar para cães. Veterinária e Zootecnia, v. 31, p. 1-16, 2024.4.MELO, C. de C. S. et al. Probiotic potential of Enterococcus hirae in goat milk and its survival in canine gastrointestinal conditions simulated in vitro. Research in Veterinary Science, [S.l.], v. 138, p. 188-195, 2021.5.RIBEIRO, M. C. de O. Caracterização do Pediococcus acidilactici B14 quanto às propriedades probióticas e sua associação com Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 com aplicação em sobremesa com soja aerada potencialmente simbiótica. 2012. Tese (Programa de pós-graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – UFPR, [S.l.], 2012.6.SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 73, n. 2, p. 361s-364s, 2001.7.WEESE, J. S.; ANDERSON, M. E. C. Preliminary evaluation of Lactobacillus rhamnosus strain GG, a potential probiotic in dogs. Canadian Veterinary Journal, [S.l.], v. 43, n. 10, p. 771-774, 2002.