



Prebióticos

Estratégia dietética para manutenção da microbiota colônica desejável

As diarreias nosocomiais têm aumentado nas últimas décadas e têm sido alvo de grande preocupação devido ao seu impacto econômico e social. A grande causa do aumento desse tipo de diarreia tem sido, sem dúvida, o emprego cada vez maior de antibióticos de última geração, de amplo espectro de atuação. Esses antibióticos, além de eliminarem o agente etiológico para o qual a droga é direcionada, eliminam também microrganismos benéficos, causando desbalanceamento da microbiota intestinal do hospedeiro.

Como resultado, microrganismos que geralmente estão ali presentes em pequena quantidade, como *Clostridium difficile*, por serem resistentes à maioria dos antibióticos, aumentam em número, e suas toxinas respondem pela maioria das diarreias denominadas nosocomiais.

Clostridium difficile toxigênico é a causa mais importante de diarreia associada a antibiótico e colite pseudomembranosa. Este tipo de diarreia é difícil de ser debelado por sua característica de recorrência (12-40% dos pacientes). *Enterococcus* e *Escherichia coli* são outros grupos microbianos que causam problemas em pacientes hospitalizados, devido à resistência

adquirida. Como discutido na primeira conferência internacional de resistência a antibióticos, ocorrida em Englewood, no Colorado-USA

(1994), os enterococos, de modo geral, não são organismos virulentos, mas possuem uma série de mecanismos capazes de transferir resistência para outras bactérias gram positivas e gram negativas e estão matando pacientes devido à inexistência de substâncias antimicrobianas capazes de tratar as estirpes resistentes constituindo a se-

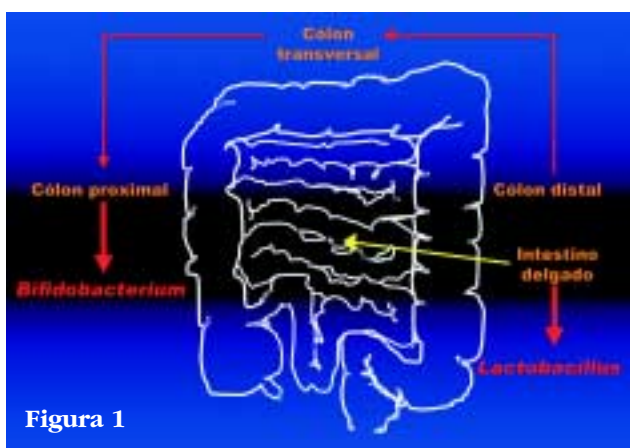


Figura 1

Célia L. L. F. Ferreira
Prof. Titular do Departamento de
Tecnologia de Alimentos, Pbd
Universidade Federal de Viçosa - MG
clferrei@mail.ufv.br

Elisa Teshima
Engenheira de Alimentos,
Doutoranda em Ciência e Tecnologia
de Alimentos
Departamento de Tecnologia de
Alimentos - UFV
ete@alunos.ufv.br



Figura 2

Estrutura química de Frutooigossacarídeos (FOS)

gunda causa de infecções nosocomiais. Embora a Aliança para o Uso Prudente de Antibióticos (APUA), única organização internacional dedicada exclusivamente à preservação e proteção dos antibióticos, tenha se dedicado à tarefa de informar e dar subsídios para uso adequado dos antibióticos, é importante que outras alternativas sejam do mesmo modo disseminadas, de tal modo que esses quimioterápicos tenham seu uso disciplinado na área médica e na agricultura.

Atualmente, com o acúmulo de informações sobre a ecologia da microbiota gastrointestinal, sabe-se que, cerca de 100 trilhões de bactérias pertencentes a mais de 400 espécies diferentes, de natureza saprofítica e patogênica, vivem harmoniosamente num delicado balanço, até que este seja desequilibrado pela dieta, consumo de drogas, situações de estresse, tratamentos quimioterápicos, e outras situações, provocando diferentes tipos de problemas gastrointestinais. Sabe-se também que, em diferentes regiões do trato intestinal, estão presentes grupos específicos de microrganismos, como bactérias lácticas e bifidas, que modulam a microbiota nestes espaços principalmente devido aos seus produtos de metabolismo. Essa microbiota desejável protege o hospedeiro antagonizando o crescimento de microrganismos patogênicos, além de manter a sua saudabilidade, impedindo a reabsorção de compostos aminados indesejáveis, desconjugando ácidos biliares, biodisponibilizando minerais como cálcio e ferro, e, por meio de suas enzimas, favorecendo o metabolismo de algumas substâncias como a lactose, em indivíduos lactase não persistentes.

Bactérias do gênero *Lactobacillus* atuam no intestino delgado, ao passo que o grupo bifidogênico atua no intestino grosso, notadamente na região colônica (Figura 1). A reintrodução

destes grupos microbianos no hospedeiro é feita por meio de administração de espécies selecionadas, que deverão estar em números elevados e viáveis no momento do consumo. Os produtos que contêm estas bactérias são os conhecidos probióticos, e muita pesquisa tem sido dedicada ao conceito de probiose, no intuito de determinar o mecanismo de ação dos benefícios inferidos por essas bactérias.

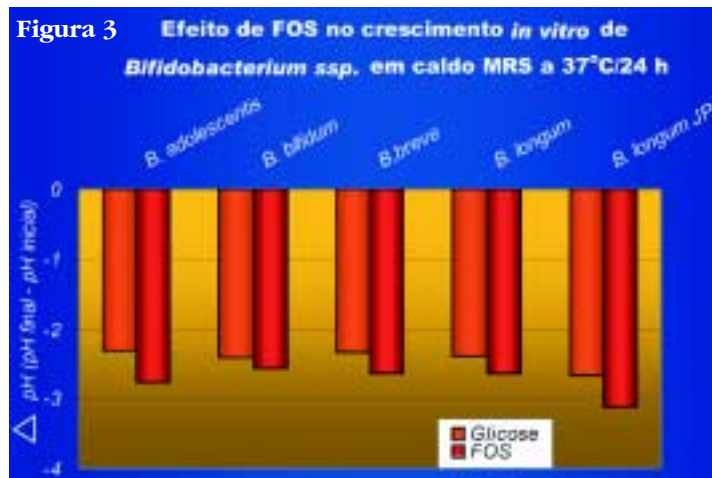
Na área veterinária/zootécnica, estes estudos estão mais avançados e, praticamente no mundo todo, os produtos denominados DFM (Direct Fed Microorganisms) têm sido empregados na prevenção, terapia e manejo de animais, com a finalidade

por vários países, do emprego de doses subclínicas de antibióticos com o fim de melhorar conversão alimentar e o ganho de peso. Verificou-se que estas doses subclínicas têm contribuído para o aumento de resistência bacteriana aos diversos tipos de antibióticos, de emprego veterinário e humano. Além disso, devido às características de “carry over”, produtos de origem animal, desde ovos, carnes de aves, suínos, bovinos, etc., resultam em vários problemas para o consumidor, como as alergias. Na comunidade europeia, várias restrições têm sido feitas à importação de produtos de origem animal, exigindo-se que estes sejam livres de antibiótico. Esta atitude tem

crescido também em relação a outros países da união europeia. As principais espécies que têm sido empregadas para fins probióticos são bactérias do gênero *Lactobacillus* como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*. Espécies de *Enterococcus* spp. e *Bacillus* spp. têm também sido utilizadas na composição de alguns probióticos, além

de *Bifidobacterium*.

Um dos principais usos de probióticos pela espécie humana tem sido também como adjunto dietético, para repor e/ou prevenir o desbalanceamento da microbiota intestinal, e têm sido considerados para uso como adjunto dietético importantes na modulação de diarreias nosocomiais. Para ser efetivos, os microrganismos probióticos devem ser rigorosamente selecionados. Um probiótico de amplo espectro deve conter microrganismos que irão atuar em toda a extensão do trato gastrointestinal (GI). O rigor na seleção de bactérias probióticas é essencial, pois várias serão as barreiras que deverão transpor até o local em que deverão atuar. Alguns critérios podem ser listados para seleção desses microrganismos candidatos ao uso de pro-



de repor a microbiota desejável, balanceando-a, impedindo a instalação da diarreia pós desmame nas crias (cujo estresse provoca mudança no pH que passa a favorecer, por exemplo, o crescimento de bactérias do grupo coliforme) e favorecendo a conversão alimentar, como uma alternativa no emprego de doses subclínicas de antibióticos. O termo DFM é utilizado para se referir a produtos probióticos destinados ao consumo animal, ao passo que, para o consumo humano, o termo empregado é probiótico. Probióticos são microrganismos vivos, que têm a finalidade principal de repor o equilíbrio da microbiota normal do hospedeiro. Existe ainda uma situação que tem favorecido o desenvolvimento e a pesquisa de probióticos para uso animal que é a proibição,

bióticos para a espécie humana, sendo os principais: I) origem humana, II) resistência ao suco gástrico, III) resistência à bile; IV) resistência à lisozima. O produto, no momento de consumo, deverá conter números elevados do microrganismo probiótico e, para isto, este deverá resistir às condições de processamento (desidratação, congelamento, liofilização). Bactérias bifidas constituem um problema em probióticos, pois são difíceis de serem isoladas e manipuladas por serem anaeróbias. Quando isoladas, não toleram bem ambiente ácido, sendo, portanto, difíceis de serem carregadas em produtos lácteos fermentados, considerados os carreadores universais de bactérias lácticas. Uma alternativa para o aumento de bactérias bifidas no trato GI é o emprego de prebióticos definidos como substâncias não metabolizáveis no intestino delgado, e que, chegando ao intestino grosso, servem de fonte de carbono para as bactérias bifidas ali presentes. Para um ingrediente alimentar ser considerado prebiótico, não deve ser hidrolisado nem absorvido na parte superior do trato gastrointestinal; deve promover seletivamente o crescimento e/ou estimular a atividade metabólica de bactérias promotoras de saúde e não o de outras bactérias, alterando a microbiota colônica em favor de uma composição mais saudável. O principal alvo de prebióticos, atualmente, é o gênero *Bifidobacterium*.

Os ingredientes alimentares que atendem a esses requerimentos, até o presente momento, são os oligossacarídeos, tais como frutooligossacarídeo (FOS) e inulina. O FOS consiste de moléculas de sacarose, na qual uma, duas ou três unidades adicionais de frutose são adicionadas por ligações glicosídicas β -D-(2-1) à molécula de frutose da sacarose (Figura 2). O grau de poli-

merização varia de 2 a 10 unidades, abreviados como GF₂ (1-kestose), GF₃ (nistose) e GF₄ (1^F- β -frutofuranosilnistose). Esses oligossacarídeos derivados da sacarose são encontrados naturalmente em vegetais e plantas como alcachofra, raiz da chicória, dália, dente de leão, cebola, alho e banana. No entanto, as concentrações presentes são baixas, exigindo consumo extremamente elevado para obtenção dos efeitos fisiológicos desejados.

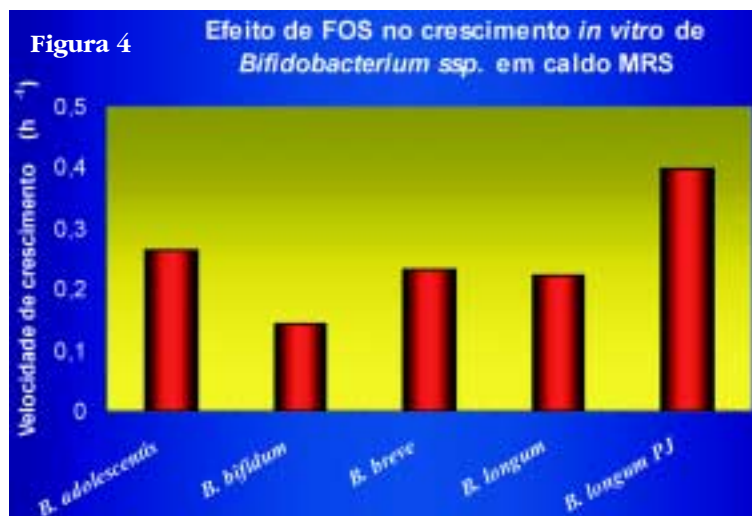
Os FOS podem ser sintetizados enzimaticamente a partir de sacarose ou podem ser extraídos destes alimentos e posteriormente concentrados. A inulina disponível comercialmente no mercado europeu é principalmente extraída da raiz de chicória e o grau de polimerização desses produtos varia de 11 a 60 unidades monoméricas. Sua hidrólise enzimática com a inulase resulta em FOS. Frutooligossacarídeo pode ser também obtido enzimaticamente a partir de sacarose, por ação de β -frutofuranosidase fúngica e esta é a forma mais comum encontrada no mercado japonês. Prebióticos já são amplamente comercializados no Japão e na Europa como adoçantes

maltooligossacarídeo, xilooligossacarídeo, glicooligossacarídeo e oligossacarídeos de soja também possuem efeito prebiótico, com resultados demonstrados *in vitro* e *in vivo* (GIBSON e FULLER, 2000).

A estratégia dietética, portanto, de consumir prebióticos, torna possível o aumento de bactérias desejáveis e, mais especificamente, de bactérias bifidas, no cólon. O conceito de prebióticos foi primeiramente introduzido por GIBSON & ROBERFROID (1995), mas o produto, como fator bifidogênico (termo anteriormente empregado) já se fazia presente no Japão que, ainda hoje, representa o país onde se encontra comercialmente o maior número de produtos prebióticos disponíveis para a população. No Brasil, o conceito é relativamente novo e o produto comercialmente inexistente.

Nossa pesquisa tem-se centrado no isolamento de bactérias bifidas, de lactentes, que, posteriormente, serão empregadas na produção de produtos simbióticos (contêm microrganismos probióticos e prebióticos) e que poderão ser empregados como adjuvante dietético primeiramente em instituições hospitalares, para compor a dieta de convalescentes, com a finalidade de recompor sua microbiota intestinal e de protegê-la do efeito deletério inevitável do consumo de antibióticos, prevenindo o estabelecimento de diarreias. As bactérias bifidas diferem de acordo com a espécie, nas suas características de crescimento e resposta ao fructooligossacarídeo Meioligoõ, como pode ser observa-

do na Figura 3, que corresponde a bactérias bifidas isoladas de um produto comercial (*B. longum* JP) e adquiridas na ATCC- American Type Culture Collection, Rockville, USA (*B. adolescentis*; *B. bifidum*; *B. breve* e *B. longum*), crescendo em caldo



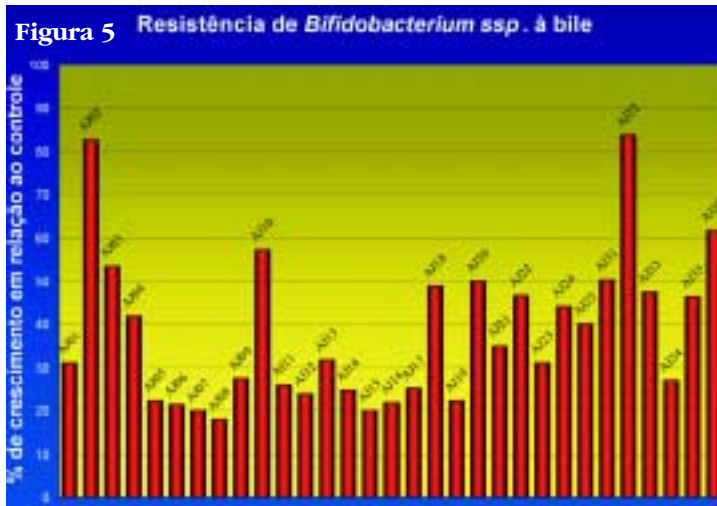
funcionais, e são utilizados como ingredientes na produção de bebidas lácteas, balas, doces, chocolate, biscoitos, geléias, pudins e goma de mascar.

Além de FOS e inulina, transgalactooligossacarídeo, lactulose, iso-

MRS (De Man, Rogosa e Sharpe, 1960) com 2% glucose (controle) e 2% do FOS (Meioliqoō, Japão). A estirpe comercial apresenta também maior taxa de crescimento avaliada em relação à capacidade de diminuição de pH do meio (Figura 4).

As 31 estirpes recém isoladas de bactérias bífidas em nosso laboratório mostram diferentes capacidades de crescimento em relação à presença de bile (Figura 5). Estão sendo selecionadas quanto à capacidade de crescimento em presença do FOS, resistência ao suco gástrico, lisozima, ao processo de congelamento e liofilização. Posteriormente comporão um “pool” de bactérias num alimento simbiótico (probiótico + prebiótico). Nesse produto simbiótico, além da presença do “pool” de bactérias rigorosamente selecionadas está presente também o combustível (FOS) que garantirá o crescimento das bactérias bífidas já existentes no hospedeiro e das novas bactérias, recém introduzidas com o alimento. O simbiótico em desenvolvimento tem ainda, na sua composição, representantes do gênero *Lactobacillus* também isolados da espécie humana, capacitando-o a agir em todo o trato GI do hospedeiro.

Probióticos e Simbióticos fazem parte da recém criada categoria de alimentos funcionais que, além da função básica de “nutrir”, assumem uma outra função específica. Produtos simbióticos deverão fazer parte da dieta oferecida nas creches, hospitais, postos de saúde, escolas, com a proposta de manter a microbiota desejável e manter a criança saudável, bem como o convalescente, o idoso e o consumidor em geral. Além disso, a disponibilidade dessas bactérias rigorosamente selecionadas e a intermediação da indústria de alimentos constituirão um passo importante para que a estratégia da manutenção de uma microbiota desejável do trato GI fique mais próxi-



ma do consumidor, que terá à sua disposição uma variedade de produtos desta natureza, como já vem sendo feito em alguns mercados de países do primeiro mundo.

COMENTÁRIOS FINAIS:

Atualmente existem duas estratégias dietéticas para aumentar os microrganismos benéficos da microbiota intestinal. A primeira é pelo consumo de probiótico, definido como suplemento alimentar, contendo bactérias viáveis que afetam benéficamente o hospedeiro pela melhoria do balanço da microbiota intestinal (FULLER, 1989). Geralmente são produtos lácteos fermentados ou não, contendo microrganismos probióticos viáveis.

A segunda é aumentando o número de microrganismos já residentes no trato intestinal por meio do uso de prebiótico, definido como ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pela estimulação seletiva do crescimento ou da atividade de um ou um número limitado de espécies bacterianas. Os prebióticos vão estimular bactérias endógenas específicas do hospedeiro, no seu sítio de colonização. Os frutooligosacarídeo (FOS) correspondem ao grupo mais promissor de probióticos. Produtos contendo uma bactéria probiótica (*Lactobacilo* e/ou *Bactéria bífida*) e um prebiótico são chamados simbióticos. No desenvolvimento de simbióticos é neces-

sário a seleção de estirpes com melhor capacidade de utilização de um determinado prebiótico, para que se obtenha um efeito sinérgico na implantação e proliferação das bactérias desejáveis. Essa nova categoria de produtos funcionais, probióticos, prebióticos e simbióticos constitui um potente recurso na prevenção de problemas do trato GI advindos de desbalançamento da microbiota normal do hospedeiro.

LITERATURA CONSULTADA

DE MAN, J.C.; ROGOSA, M. e SHARPE, M.E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Appl. Bacteriol.*, 23:130-135.

FERREIRA, C. L. L. L. 1998. Produtos lácteos probióticos: uma realidade. *Leite e Derivados*(42):66-70.

FULLER, R. 1989. A review - probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66:365-378.

GIBSON, G.R. & FULLER, R. 2000. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *J. Nutrition* 130:391S-395S.

GIBSON, G.R. & ROBERFROID, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 125:1401-1412.

SHAW, J.K. & HARE, R.S. 1994. First international conference on antibiotic resistance: Impact on discovery. *SIM News*, vol. 45(1):24-27.

TVEDE, M. & RASK-MADSEN, J. 1989. Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhoea in six patients. *Lancet*,1:1156-1160.