

IDENTIFICAÇÃO DE CEPAS DO GÊNERO *LACTOBACILLUS* COM POTENCIAL PROBIÓTICO ISOLADAS DO TRATO GASTROINTESTINAL DE SUÍNOS

Paola Coutinho da Silva¹

Patrícia Gonçalves de Oliveira²

Marcelo Ribeiro de Almeida Guedes³

Daniel de Castro Trindade⁴

Resumo

A suinocultura ocupa um espaço de destaque no mercado nacional, tanto em relação ao crescimento do consumo quanto em termos de faturamento, porém, o setor enfrenta também problemas que acarretam a diminuição do desempenho zootécnico e comprometem a saúde de leitões em diferentes faixas etárias. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo a identificação de microrganismos do gênero *Lactobacillus* isolados do trato gastrointestinal de suínos em idade de maternidade, possibilitando assim a verificação de suas propriedades probióticas e, se possível, sua posterior utilização como aditivo alimentar. Amostras de fezes foram coletadas de 39 leitões e armazenadas para transporte e processamento imediato. Após a coleta, realizou-se diluições seriadas, plaqueamento “pour-plate”, semeadura por esgotamento e seleção das colônias isoladas. Testes morfotintoriais, fisiológicos e bioquímicos foram feitos para identificação dos isolados, sendo selecionados 13 microrganismos que possuíam características de interesse. A pesquisa demonstrou resultados positivos para o isolamento de microrganismos pertencentes ao gênero *Lactobacillus* e possibilitou uma identificação preliminar para 7 espécies do grupo, das quais *L. plantarum* e *L. rhamnosus* se destacaram por ter uma maior incidência, representando 53% do total de isolados.

Palavras chave: Probióticos. Suinocultura. *Lactobacillus*.

¹ Licenciada em Ciências Biológicas pelo UGB/FERP.

² Licenciada em Ciências Biológicas pelo UGB/FERP.

³ Docente no UGB/FERP. Mestre em Ensino em Ciências da Saúde e do Meio Ambiente pelo UniFOA.

⁴ Médico Veterinário do IFRJ. Doutor em Medicina Veterinária pela UFRRJ.

IDENTIFICATION OF *LACTOBACILLUS* STRAINS WITH PROBIOTIC POTENTIAL ISOLATED FROM THE GASTROINTESTINAL TRACT OF PIGS

Abstract

Pig farming occupies a prominent place in the domestic market, both in terms of growth in consumption and in revenue, however, the sector also faces problems that lead to decreased zootechnical performance and compromise the health of piglets in different age groups. Thus, the present work deals with the identification of microorganisms of the genus *Lactobacillus* isolated from the gastrointestinal tract of swine at maternity age, enabling the verification of their probiotic properties and, if possible, their subsequent use as a food additive. Stool samples were collected from 39 piglets, stored for immediate transport, and processing. After collection, serial dilutions, “pour plate” plating, seeding and selection of isolated colonies were performed. Morphotintorial, physiological and biochemical tests were made to identify the isolates, and 13 microorganisms that had characteristics of interest were selected. The research showed positive results for the isolation of microorganisms belonging to the genus *Lactobacillus* and allowed a preliminary identification for 7 species of the group, of which *L. plantarum* and *L. rhamnosus* stood out for having a higher incidence, representing 53% of the total isolates.

Keywords: Probiotics. Pig farming. *Lactobacillus*.

Introdução

A suinocultura ocupa um espaço de destaque no mercado nacional, tanto em relação ao crescimento do consumo quanto em termos de faturamento, sendo o Brasil ocupante da quarta posição mundial de fornecedores, produzindo em média 3,5 milhões de toneladas de carne suína por ano (ABPA, 2018).

Entretanto, o setor enfrenta também problemas que acarretam a diminuição do desempenho zootécnico e comprometem a saúde de leitões em diferentes faixas etárias, como doenças entéricas e infecções clínicas, aumentando assim o índice de mortalidade e trazendo uma conseqüente perda econômica para os criadores (ALVIM, 2011).

Como uma forma de solucionar tais problemas, durante anos, a maioria dos suinocultores tem feito a utilização de antibióticos na criação dos animais, os quais promovem uma maior taxa de crescimento, melhoria na conversão alimentar e no desempenho zootécnico. Em contrapartida, é conhecido que a curto e longo prazo esses antimicrobianos acarretam também uma série de malefícios para a saúde do animal e da sociedade, sendo o principal deles a super resistência bacteriana (COSTA, TSE e MIYADA, 2007).

Dessa forma, tem-se buscado métodos alternativos à utilização de antibiótico, os quais sejam também eficazes na promoção de crescimento, desempenho zootécnico e desenvolvimento do sistema imune desses animais, sendo uma das principais opções a utilização de probióticos (LODDI et al., 2001).

A busca por novas linhagens de *Lactobacillus* com propriedades probióticas poderá contribuir com a diminuição da utilização de antimicrobianos no setor de suinocultura, tendo em vista que animais submetidos ao uso de probióticos, seja em aditivos alimentares ou administração via oral, tendem a apresentar melhora significativa em suas condições de saúde, deixando-os menos expostos à colonização por agentes patogênicos e melhorando sua qualidade de vida, reduzindo assim os prejuízos financeiros enfrentados pelos criadores.

Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo isolar cepas do gênero *Lactobacillus* do trato gastrointestinal de suínos, durante a fase de maternidade, para serem submetidas a testes de identificação, a qual possibilitará a verificação de suas propriedades probióticas e, se possível, sua posterior utilização como aditivo alimentar, administradas na mesma espécie de animal da qual foram isoladas.

Fundamentação Teórica

Setor de Suinocultura

A suinocultura tem apresentado um crescimento significativo em meio a indústria alimentícia no decorrer da última década, correspondendo atualmente a

40% do consumo total de proteína mundial, sendo o Brasil ocupante da quinta posição nesse ranking (ALVIM, 2011; CARVALHO et al., 2013). De acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Suínos - ABCS (2014) há quatro modelos de produção suína, sendo o primeiro o ciclo completo, em que todas as fases da produção eram englobadas na mesma propriedade. Porém, com as modernizações, outros sistemas foram sendo criados, separando cada vez mais o contato entre os leitões de diferentes idades. O sistema de dois sítios, baseia-se na produção em dois locais independentes, onde há a separação entre reprodução/maternidade/creche e terminação, o qual conta com uma versão atualizada, chamado sistema *wean-to-finish*, que consiste na separação da fase de maternidade, juntando os suínos da creche com os da terminação. Também há o sistema de três sítios, separando a reprodução/maternidade da creche, e a creche da terminação, alojando as fases em três locais independentes. E ainda, o sistema de quatro sítios, em que todas as fases são separadas em locais independentes. Alguns produtores também utilizam da técnica de Desmame Precoce Segregado (DPS), que consiste no desmame dos filhotes com 7 a 16 dias, evitando que os leitões contraíssem alguma doença da mãe. Porém, a utilização dessa técnica requer cuidados e não é recomendada para toda criação (BERTOL, 2000). Como visto, as modernizações que atingiram o setor no decorrer dos anos estão entre os responsáveis por todo o crescimento intensivo econômico e de produtividade demonstrados, porém, também têm uma parcela de responsabilidade pelo comprometimento da saúde dos animais dentro dos criadouros, causados pela maior suscetibilidade à patógenos e diminuição no desempenho zootécnico, diminuindo a produtividade (OLIVA et al., 2014).

Uso de Antimicrobianos na Suinocultura

Uma das consequências do confinamento exigido pela produção pecuária e, principalmente na suinocultura, é o aumento dos problemas sanitários devido ao elevado número de animais nas instalações. Dessa forma, o animal acaba sendo

exposto a uma carga de estresse ainda maior, diminuindo a eficácia de seu sistema imunológico e aumentando o risco de aquisição de doenças, além de tornar o ambiente mais propício para a ocorrência de infecções cruzadas entre os animais (COOPER, 2000).

Com essa situação, houve uma necessidade de intervenção clínica que consistia na adoção do uso de antimicrobianos como forma preventiva ou terapêutica para reduzir infecções na criação ou promover melhores condições para o seu crescimento (BARCELLOS *et al.*, 2009).

Existem quatro formas básicas de aplicação de medicamentos aos animais que geralmente envolvem o uso de antimicrobianos. Aquela que promove o crescimento do rebanho, sendo usadas quantidades baixas de princípios ativos antibacterianos, antibióticos ou não, o que acaba promovendo melhora no ganho de peso e conversão alimentar. A metafílática, que consiste na aplicação da medicação para os animais doentes e em todos os outros que compartilham o mesmo ambiente. A preventiva, determinada pela aplicação da medicação baseando-se no conhecimento prévio da ocorrência de uma doença atribuída a uma determinada faixa etária, assim, o animal é medicado antes mesmo de demonstrar qualquer sintoma clínico da infecção, além da medicação curativa, utilizada para o tratamento do indivíduo doente (BARCELLOS *et al.*, 2009).

Contudo, o uso indiscriminado de drogas antimicrobianas acarreta diversos problemas, que são preocupantes para a sociedade em um aspecto geral. Os principais problemas estão associados com a presença de resíduos das drogas na carne do animal, e na seleção de bactérias resistentes, sendo disseminadas para o meio ambiente, animais e ao próprio homem, causando assim um potencial risco à saúde pública (WHITE *et al.*, 2006).

A resistência adquirida pelas bactérias patogênicas é um problema para a suinocultura, visto que o plasmídeo de resistência a diversos antimicrobianos é transferido a uma população bacteriana pelo uso de qualquer droga, se a mesma for codificada em genes plasmidiais (MATHEW, 2003; BURCH, 2005; VAZ, 2009).

Probióticos

Probióticos são considerados alimentos funcionais, compostos de microrganismos vivos, que quando ingeridos em doses adequadas e com frequência, trazem diversos efeitos benéficos à saúde do hospedeiro, como melhoria do desempenho zootécnico, modulação da microbiota intestinal e aumento da imunidade (GUARNER; SCHAAFSMA, 1998).

Para que uma linhagem de probióticos seja considerada funcional, é necessário que apresente algumas características específicas, tais como ser capaz de resistir às condições adversas do trato gastrointestinal de seu hospedeiro, apresentar habilidades contra patógenos residentes, ser resistentes ao baixo pH e aos sais biliares, aderir ao epitélio evitando a eliminação pelo peristaltismo, resistir a fagos e ao oxigênio, não causar danos ao hospedeiro e não transportar genes transmissores de resistência a antibióticos (TURNER, DRITZ E MINTON, 2001; RUIZ-MOYANO *et al.*, 2008).

Além da forma de nutrição convencional, dados experimentais demonstram a capacidade que os probióticos possuem de também desenvolver benefícios à saúde do hospedeiro através de mecanismos próprios (SAAD, 2006).

Dentre os benefícios conferidos pela ingestão destas culturas de microrganismos, destacam-se a promoção do controle e estabilização da microbiota intestinal; resistência gastrointestinal à colonização por patógenos, devido a produção e liberação de compostos como as bacteriocinas ou substâncias semelhantes, ácidos orgânicos que reduzem o pH e a liberação de peróxido de hidrogênio; diminuição da intolerância à lactose, com a produção da enzima beta galactosidase que facilita a redução dos níveis de lactose no organismo; alívio da constipação; a ativação da imunidade humoral e celular; aumento da absorção de minerais e produção de vitaminas (PETRI, 2000, KAUR *et al.*, 2002; TUOHY *et al.*, 2003; SILVA, TEIXEIRA, 2019).

As bactérias ácido lácticas (BAL) são o grupo de microrganismos mais utilizados como probióticos e compreendem vários gêneros, dos quais os mais comuns são: *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Weissella*, além do gênero

Bifidobacterium, o qual também é muito utilizado como probiótico, porém não pertence ao grupo das BAL (REDDY *et al.*, 2008).

Dentre os microrganismos mais utilizados em preparações probióticas, destaca-se espécies do gênero *Lactobacillus*, classificados taxonomicamente como microrganismos procariotos do filo *Firmicutes*, classe *Bacilli*, ordem *Lactobacillales* e família *Lactobacillaceae*. As bactérias desse gênero são caracterizadas como, Gram positivo, microaerófilas, não formadoras de esporos, com morfologia variável de pequenos bastonetes a cocobacilos, geralmente catalase negativo, não redutoras de nitrato e não produtoras de Indol ou H₂S. (FUGELSANG; EDWARDS, 2007).

Microrganismos do gênero *Lactobacillus* são estritamente fermentativos, com exigências nutricionais complexas (carboidratos, aminoácidos, peptídeos, ésteres de ácidos graxos, sais, derivados de ácidos nucléicos, vitaminas). São aerotolerantes ou anaeróbicos e acidúricos, podendo tolerar ambientes ácidos, além de atingirem todos os critérios necessários para serem considerados probióticos funcionais (HAMMES, VOGEL, 1995).

Além disso, com a glicose como fonte de carbono em condições de anaerobiose, o grupo pode ser classificado como homofermentativo obrigatório, o qual tem como resíduo metabólico, em sua maioria, a produção de ácido láctico, heterofermentativo obrigatório, produzindo além do ácido láctico, o ácido acético e o etanol ou heterofermentativo facultativo, quando há a produção quantidades pequenas, porém ainda significativas de ácido acético e etanol (COSTA *et al.*, 2008).

Atualmente, já existem produtos comerciais contendo probióticos disponíveis para aves, suínos, bovinos, ovinos, equinos, cães, gatos, entre outros. Na criação de suínos, a forma mais tradicional de aplicação dos mesmos é por meio de aditivos alimentares (ALVIM, 2015). Dessa forma, o período ideal para a administração do produto na suinocultura e, possível prevenção à contaminação por patógenos, seria durante a fase de maternidade, logo após o nascimento, tendo em vista que nas primeiras horas de vida o trato gastrointestinal do leitão é estéril, ou seja, um ambiente bem mais favorável à proliferação de bactérias patogênicas, devido à pouca secreção de ácido clorídrico presente no meio (SANTOS *et al.*, 2003; MENIN *et al.*, 2008; VANNUCCI E GUEDES, 2009).

Materiais e Métodos

Coleta e Preparo das Amostras

O presente trabalho foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro – CEUA/IFRJ e aprovado sob o número 01/2019.

Foram coletadas no setor de suinocultura do IFRJ – Campus Pinheiral, amostras de fezes de 39 suínos em fase de maternidade, com 20 a 27 dias de vida, na semana do desmame e já com introdução de ração sólida na alimentação, sendo os animais provenientes de 3 matrizes distintas, da espécie *Sus scrofa domesticus* e linhagem Ultralight.

O procedimento de coleta foi realizado através da técnica de estimulação anal, como demonstrado na figura 1, e o material armazenado em coletores individuais estéreis, visto na figura 2. Após a coleta, as amostras foram mantidas em temperatura baixa para o transporte até o laboratório de Microbiologia do UGB – VR, onde foi realizado seu processamento imediato.

Figura 1. Coleta de fezes



Fonte: Pesquisa dos Autores

Figura 2. Coletores estéreis para armazenagem



Fonte: Pesquisa dos Autores

As amostras foram suspensas e homogeneizadas, em função do peso, numa diluição 10^{-2} em salina tamponada estéril ($121^{\circ}\text{C}/15$ min). Após, foram realizadas diluições decimais seriadas e plaqueamento “Pour-plate” (figura 3) em meio ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e incubadas a 37°C em estufa bacteriológica, no Centro de Diagnósticos, Estudos e Pesquisas em Medicina Veterinária – PETNOSTIC, durante 24 a 48 horas para posterior contagem e isolamento das colônias, com o auxílio de uma alça de platina (TEIXEIRA, 2011).

Figura 3 – Placas após Plaqueamento “Pour-plate” e Incubação



Fonte: Pesquisa dos Autores

Após a contagem, foram selecionadas as colônias isoladas para serem transferidas para tubos contendo caldo MRS estéril e incubados a 37° por 24h para verificação de crescimento através de turvação. Os tubos que apresentaram crescimento foram selecionados para realização de semeadura por esgotamento (figura 4), em placas com meio ágar MRS estéreis e incubadas a 37° por 24h para obtenção de colônias puras.

Figura 4. Semeadura por esgotamento



Fonte: Pesquisa dos Autores

Os isolados passaram pelo teste de coloração de Gram e, através de análise microscópica, foram observadas as características morfotintoriais das cepas, sendo selecionadas as que se apresentaram como Gram positivas e formato bacilar (figura 5). Os microrganismos selecionados foram submetidos também ao teste de catalase em lâmina, sendo favoráveis os que apresentaram catalase negativa (TEIXEIRA, 2017).

Figura 5. Imagem microscópica de bactérias gram-positivas formato bacilar



Fonte: Pesquisa dos Autores

As bactérias que apresentaram características de interesse, sendo elas Gram positivas, formato bacilar e catalase negativa, foram inoculadas em 5mL de caldo MRS, incubadas à 37°C durante 24 a 48 horas, sendo adicionado em seguida uma alíquota de 1mL de glicerol esterilizado (20%) para a manutenção em Freezer a -20°C (PEREIRA, 2007).

Identificação dos isolados através de testes bioquímicos

As colônias selecionadas foram submetidas ao teste de fermentação de diferentes carboidratos em caldo MRS modificado, omitindo o extrato de carne e glicose, e adicionando vermelho de fenol como indicador de pH do meio. Foram utilizados 16 carboidratos, os quais eram: arabinose, esculina, frutose, galactose, glicose, gluconato de sódio, lactose, maltose, manose, melibiose, rafinose, ramnose, salicina, sorbitol, sucrose e trealose. Empregando-se 1% de cada carboidrato distribuídos pelos tubos de ensaio com 2ml de caldo MRS modificado (TEIXEIRA, 2017).

Utilizando uma micropipeta estéril, foi transferido 100 μ L da suspensão bacteriana presente no meio de cultura para ser distribuído e homogeneizado em cada um dos tubos de ensaio contendo diferentes tipos de carboidratos, para o estudo do perfil fermentativo. E para criar o ambiente anaeróbico desejado, todos os tubos receberam óleo mineral estéril, sendo recobertos por uma camada que isola o meio de cultura do ambiente aeróbico (ZANINI et al., 2012).

Assim, os tubos foram incubados a 37°C durante 48 horas. No decorrer da incubação, os microrganismos fermentaram os carboidratos correspondentes com as vias metabólicas que possuem. Essa fermentação se apresentou por uma alteração na cor do tubo (figura 6), devido a produção de ácido resultante em anaerobiose revelada pelo indicador de pH do meio. A partir dos dados referentes à fermentação de cada carboidrato, foi realizada a interpretação e identificação da espécie de cada microrganismo com o auxílio da tabela de identificação API®50 CHL, a qual apresenta os perfis fermentativos de diferentes espécies de *Lactobacillus* para comparação (ZANINI et al., 2012).

Figura 6. Fermentação de diferentes carboidratos



Fonte: Pesquisa dos Autores

Resultados e Discussão

Foram obtidos 68 isolados bacterianos do total de 39 amostras de fezes coletadas, sendo que 37 (54%) deles se apresentaram como bacilos gram-negativos e 18 (26%) como cocos gram-positivos, sendo desta forma descartados por não apresentarem as características fenotípicas de bactérias ácido lácticas (BAL) do gênero *Lactobacillus*, restando 13 (19%) isolados, dos quais 4 apresentaram-se como bacilos gram-positivos e 9 como cocobacilos gram-positivos, todos catalase negativos, sendo assim selecionados.

Testes bioquímicos para identificação de espécies de bactérias ácido lácticas são eficazes para uma primeira atribuição, porém para uma identificação mais precisa é necessário a realização de testes moleculares (De MARTINIS, 2002). Dessa forma, os resultados descritos neste trabalho são apenas sugestivos para as determinadas espécies, tendo a necessidade de posteriores testes com maior precisão para confirmação dos mesmos.

Sendo assim, os 13 microrganismos selecionados, ao serem submetidos ao teste de identificação bioquímica de fermentação de diferentes carboidratos, e após interpretação dos resultados com base no perfil fermentativo de cada isolado, como mostra a tabela 1, encontraram-se sugestivos para 7 espécies de *Lactobacillus*, dentre elas: *L. plantarum* (28,57%), *L. rhamnosus* (21,42%), *L. delbrueckii spp bulgaricus* (14,28%), *L. brevis* (7,14%), *L. fermentum* (7,14%), *L. helveticus* (7,14%) e *L. salivarius* (7,14%), demonstrado na tabela 2, com destaque para a espécie *L. plantarum*, a qual foi sugestiva para 4 amostras.

Tabela 1. Perfil fermentativo dos isolados

Nº dos isolados	ARA	ESC	FRU	GAL	GLI	GLU	LAC	MAL	MAN	MEL	RAF	RAM	SAL	SOR	SUC	TRE
P1-5	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
P1-6	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
P3-6	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+
P8-6	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
P10-5	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
P19-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P21-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P22-4	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
P24-5	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
P32-4	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P32-5	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P32-6	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+
P34-5	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P39-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fonte: Pesquisa dos Autores

Tabela 2. Espécies de *Lactobacillus* sugestivas para os isolados encontrados

Espécies	Nº de isolados (%)
<i>L. plantarum</i>	28,57
<i>L. rhamnosus</i>	21,42
<i>L. delbrueckii spp bulgaricus</i>	14,28
<i>L. brevis</i>	7,14
<i>L. fermentum</i>	7,14
<i>L. helveticus</i>	7,14
<i>L. salivarius</i>	7,14

Fonte: Pesquisa dos Autores

Segundo pesquisa realizada por Alvim (2011) com a utilização de suínos também em período de maternidade e dieta exclusiva de leite materno, foram coletadas amostras do trato gastrointestinal, nasal e oral para isolamento de bactérias ácido lácticas. Obteve-se 56 isolados, sendo que 16 não atendiam aos critérios para bactérias ácido lácticas, sendo selecionados apenas os 40 restantes para identificação. Após terem sido submetidos a testes moleculares, identificou-se dentre os isolados 6 espécies do gênero *Lactobacillus*, sendo elas: *L. acidophilus*, *L.*

Rev. Episteme Transversalis, Volta Redonda-RJ, v.11, n.1, p.223-241, 2020.

brevis, *L. murinus*, *L. plantarum*, *L. paraplantarum/pentosus/plantarum* e *L. reuteri* B, sendo que as espécies isoladas do trato gastrointestinal foram *L. murinus* e *L. reuteri* B. Suárez et. al. (2017A) realizaram uma pesquisa para isolamento e identificação de bactérias ácido lácticas do trato digestivo de leitões em bom estado de saúde e sem tratamento com antibióticos. Foram isoladas 19 cepas, das quais 4 atendiam as características necessárias para serem selecionadas para identificação, a qual foi realizada através de testes moleculares.

Após testes, foram identificados 4 gêneros de BAL, entre eles *Lactobacillus* pertencentes às espécies *L. brevis* e *L. johnsonii*. Em um outro trabalho, Suárez et al. (2017B), isolaram microrganismos da mucosa intestinal de leitões pós desmame para a identificação de bactérias nativas. Foram isoladas 9 cepas, as quais pertencem a ordem Lactobacillaceae e se apresentam como microrganismos com potencial probiótico, sendo 4 delas identificadas através de técnicas moleculares como a espécie *Lactobacillus saerimneri*. Vega, et al. (2017) coletaram amostras de swabs retais de leitões saudáveis pós desmame e sem administração de antibióticos, para isolamento de microrganismos do gênero *Lactobacillus*. Obteve-se 4 isolados, os quais foram submetidos a testes moleculares de identificação, sendo que 1 apresentou-se como pertencente a espécie *Lactobacillus plantarum*.

Considerações Finais

O presente trabalho demonstrou resultados positivos para o isolamento de microrganismos pertencentes ao gênero *Lactobacillus* presentes no trato gastrointestinal de suínos em fase de maternidade e possibilitou uma identificação preliminar para 7 espécies do gênero, das quais *L. plantarum* e *L. rhamnosus* tiveram maior incidência, representando 53% do total de isolados. Dessa forma, sugere-se a posterior realização de testes de precisão molecular para identificação e testes de caracterização das cepas, para análise de seus perfis de resistência e verificação de seus potenciais probióticos, e se possível, a utilização das mesmas como aditivos alimentares.

Referências

ABCS- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS. **Coordenação Técnica da Integral Soluções em Produção Animal**. Brasília, DF, 2014.

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2018**. São Paulo/SP.

ALVIM, L. B. **Identificação molecular e seleção de bactérias lácticas com potencial probiótico isoladas de diferentes mucosas de suínos**. Belo Horizonte/MG - 2011.

ALVIM, L. B. **Segurança e Efeito Probiótico de Weissella paramesenteroides WpK4 Isolada de Suíno na Infecção Experimental com Salmonella Typhimurium em camundongos**. Belo Horizonte/MG – 2015

BARCELLOS, D. E. S. N.; MARQUES, B. M. F. P. P.; MORES, T. J.; COELHO, C. F.; BOROWSKI, S. M. **Aspectos práticos sobre o uso de antimicrobianos em suinocultura**. *Acta Scien. Vet.* 37 (1), 151-155. 2009.

BERTOL, T. M. **Nutrição e alimentação dos leitões desmamados em programas convencionais e no desmame precoce**. Embrapa Suínos e Aves-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2000.

BURCH, D. **Problems of antibiotics resistance in pig in the UK**. In Practice. 27: 37-43. 2005.

CARVALHO, C. C.; ANTUNES, R. C.; CARVALHO, A. P.; CAIRES, R. M. Bem-estar na suinocultura. **Revista Eletronica Nutritime**. v. 11. n. 2. p. 2272-2286. 2013.

COOPER, V.L. **Diagnosis of neonatal pig diarrhea**. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice, v.16, n.1, p.117-133, 2000.

COSTA, L. B.; TSE, M. L. P.; MIYADA, V. S. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 589 - 595, 2007.

COSTA, V. M., BASSO, T. O., ANGELONI, L. H. P., OETTERER, M., BASSO, L. C. **Production of acetic acid, ethanol and optical isomers of lactic acid by *Lactobacillus* strains isolated from industrial ethanol fermentations**. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(2), 503-509. 2008.

De MARTINIS, E. C. P. **Identification of meat isolated bacteriocin- producing lactic acid bacteria using biotyping and ribotyping**. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, p.659-661, 2002.

FUGELSANG, K. C.; EDWARDS, C. G. Lactic acid bacteria. **Win. Microb. Pract. Applic. Proced.**, v. 20, p. 2-44, 2007.

GUARNER F, SCHAAFSMA GJ (1998): **Probiotics**. Int J Food Microbiol, 39: 237-238.

HAMMES, W.P., VOGEL, R.F. **The genus *Lactobacillus***. In: Wood B.J.B., Holzapel W.H. (eds) The Genera of Lactic Acid Bacteria. The Lactic Acid Bacteria, vol 2. Springer, Boston, MA. 1995.

KAUR, I. P.; CHOPRA, K.; SAINI, A. Probiotics: potential pharmaceutical applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, p. 1 - 9, 2002.

LODDI, M.M. Probióticos e prebióticos na nutrição de aves. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, n. 23, p. 1 - 8, 2001.

MATHEW, A.G. **Management of antibiotic resistance in swine production**. In: Proceedings of 34th American Association of Swine Veterinarians (Orlando, USA). pp.419-425. 2003.

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. **Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.** Ciência Rural, v. 38, p. 1687-1693, 2008.

OLIVA, Aline et al. Aspectos de bem-estar relacionados a matrizes suínas alojadas em celas individuais.: Relato de Caso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 8, n. 3, p. 89-104, 2014.

PEREIRA, C. A. S. **Avaliação do efeito de microrganismos probióticos sobre *Eimeria* spp. em *Rattus norvegicus***. 2007. 75 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, SP, 2007.

PETRI, R., **Uso de exclusão competitiva na avicultura no Brasil**. II Simpósio de Sanidade Avícola, Anais. Setembro de 2000. Santa Maria-RS, 2000.

REDDY, Gopal et al. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. **Biotechnology advances**, v. 26, n. 1, p. 22-34, 2008.

RUIZ-MOYANO, S.; MARTÍN, A.; BENITO, M. J.; NEVADO, F. P.; CÓRDOBA, M. G. **Screening of lactic acid bacteria and bifidobacteria for potential probiotic use in Iberian dry fermented sausages**. Meat Science, v. 80, p. 715-721, 2008.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-16, 2006.

Rev. Episteme Transversalis, Volta Redonda-RJ, v.11, n.1, p.223-241, 2020.

SANTOS, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; GOMES, P. C.; SANTOS, J. L.; POZZA, P. C.; TESHIMA, E. **Influência do fornecimento de probiótico à base de *Lactobacillus* sp. sobre a microbiota intestinal de leitões.** Ciência e Agrotecnologia, v. 27, p. 1395-1400, 2003.

SILVA, A. C. F.; TEIXEIRA, L. L. **Uso de probióticos no tratamento da intolerância à lactose.** Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos-UNI/FIO/FEMM. XVIII Congresso de Iniciação Científica. 2019.

SUARÉZ, H. S., DOMÍNGUEZ, F. F., MOGOLLÓN, G. O, AGUILERA, R. A. Isolation of lactic acid bacteria from the digestive tract of the piglet. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVEP)**, 28(3), 730-736. 2017A.

SUARÉZ, H. S., MOGOLLÓN, G. O, M., MOGOLLÓN, C. R., ORTIZ, T. P., ZAPATA, A. O. Isolation of bacterial inhibitory peptides from lactic acid bacteria of the piglet digestive tract and identification by proteomic test. **Scientia Agropecuaria**, 8(4), 437-447. 2017B

TEIXEIRA, R. S. **Avaliação do efeito de micro-organismos probióticos sobre *Haemonchus contortus* em ovinos.** 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Biotecnologia. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, SP, 2011.

TEIXEIRA, R. S. **Identificação de microrganismos com potencial probiótico isolados de diferentes mucosas de cães.** Projeto de Iniciação Científica (PIC), Centro Universitário Geraldo Di Biase, Volta Redonda, RJ, 2017.

TUOHY, K, M.; PROBERT, H. M.; SMEJKAL, C. W.; GIBSON, G. R **Using probiotics and prebiotics to improve gut health.** Drug Discovery Today, Londres, v. 8, p. 692-700, 2003.

TURNER, J. L.; DRITZ, P. S. S.; MINTON, J. E. **Review: Alternatives to conventional antimicrobials in swine Diets.** The Professional Animal Scientist, v. 17, p. 21 -226, 2001.

VANNUCCI, F. A.; GUEDES, M. R. C. **Fisiopatologia das diarreias em suínos.** Ciência Rural, v. 39, p.2233-2242, 2009.

VAZ, E.K. **Resistência antimicrobiana: como surge e o que representa para a suinocultura.** Acta Scientiae Veterinariae. 37 (Supl 1): s147-s150. 2009.

VEGA, M. F., DIEGUEZ, S. N., RICCIO, B., ARANGUREN, S., GIORDANO, A., DENZOIN, L., ... & GONZÁLEZ, S. N. (2017). Zearalenone adsorption capacity of lactic acid bacteria isolated from pigs. **Brazilian journal of microbiology**, 48(4), 715-723.

WHITE, D.G.; FEDORKA-CRAY, P.; CHILLER, T.C. **The National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS)**. NMC Annual Meeting Proceedings, 2006. p.56-60.

ZANINI, S. F. et al. **Identificação bioquímica e molecular de *Lactobacillus* spp. isolados do íleo de frangos de corte tratados ou não com antimicrobianos**. Ciência Rural, v. 42, n. 9, p. 1648-1654, 2012.