



## **Avaliação do efeito inibidor de microrganismos probióticos comercializados em cápsulas manipuladas sobre o crescimento de *Escherichia coli***

Renato da Silva Teixeira<sup>1</sup>; 0000-0002-0962-793X  
Pedro Alonso Ferreira Moutinho<sup>1</sup>; 0000-0002-4390-0290  
Tânia Siqueira Dutra<sup>1</sup>; 0000-0001-6459-9727  
Fábio de Souza Ferreira<sup>1</sup>; 0000-0002-7819-1164  
Isabelle Rodrigues Martini<sup>1</sup>; 0000-0003-1023-9114  
Daniella Vieira da Silva<sup>1</sup>; 0009-0002-4133-371X  
Gabrielle Carvalho Alves<sup>1</sup>; 0009-0003-4300-5020  
Lara Assis Menezes<sup>1</sup>; 0009-0005-5643-7003

1 – UniFOA, Centro Universitário de Volta Redonda, Volta Redonda, RJ.  
[renato.teixeira@foa.org.br](mailto:renato.teixeira@foa.org.br) (contato principal)

**Resumo:** Com o crescente aumento da resistência aos antimicrobianos pelos microrganismos patogênicos, surge uma ameaça crescente à saúde pública mundial, sendo necessárias ações por parte de todos os setores do governo e da sociedade. Neste sentido, estudos sobre microrganismos probióticos podem gerar resultados promissores devido a capacidade destes em produzir substâncias que podem inibir o crescimento de patógenos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo observar capacidade de microrganismos probióticos em gerar um efeito inibidor sobre o crescimento de cepas bacterianas de *Escherichia coli*. Para tanto, 6 espécies de *Lactobacillus* foram cultivadas em ágar MRS, utilizando o método de "spot test", após crescimento as bactérias foram submetidas a vapores de clorofórmio, em seguida, as cepas de *Escherichia coli* foram inoculadas em BHI semi-sólido, sobre os spots com o objetivo de avaliar a formação de halos de inibição. *Lactobacillus acidophilus* e *L. bulgaricus* foram as espécies com maior eficácia, inibindo 78,5% das cepas de *E. coli* testadas, por outro lado, *L. helveticus* e *L. jonsonii* não apresentando bom nível de inibição. Diante dos resultados da pesquisa, conclui-se que uso de probióticos pode ser uma boa alternativa, como um coadjuvante no controle de bactérias que causam danos à saúde humana.

**Palavras-chave:** Probióticos. *Lactobacillus*. *Escherichia coli*. Efeito inibidor. Resistência aos antimicrobianos.

## **INTRODUÇÃO**

As infecções bacterianas, em todo o mundo, são responsáveis pelo uso difundido de medicamentos da categoria antimicrobiana. Dentre as principais bactérias que acometem o ser humano, temos a *Escherichia coli* como uma das espécies de maior destaque. Tais microrganismos estão relacionados aos diversos tipos de infecções existentes e podem apresentar resistência aos antimicrobianos



mais utilizados e, assim, prejudicar na terapêutica deste processo (ABRANTES; NOGUEIRA, 2021).

Com o crescente aumento da resistência aos antimicrobianos pelos micro-organismos patogênicos, surge uma ameaça crescente à saúde pública mundial. Em consequência deste problema, podemos perder a capacidade de tratar doenças infecciosas comuns, o que resulta em doença prolongada, com maior risco de propagação, incapacidade e morte, além disso, aumenta o custo da atenção médica com estadias mais longas e uso cuidados mais intensivos (NEZHAD; BARZEGAR; ESMAEILI, 2020).

Diante deste cenário, é requerido ação de todos os setores do governo e da sociedade, sendo assim, cada vez mais se faz necessário o estudo para novas descobertas de moléculas antimicrobianas ou a utilização de combinações sinérgicas para inibir o crescimento desses microrganismos. Neste sentido, os microrganismos probióticos, que quando ingeridos em doses adequadas e com frequência, trazem diversos efeitos benéficos à saúde do hospedeiro, podem contribuir devido a sua capacidade de produzir substâncias que podem inibir o crescimento de patógenos (KERRY et al., 2018).

Segundo Oelschlaeger (2010) três possíveis mecanismos de atuação são atribuídos aos probióticos, sendo o primeiro deles a supressão do número de células viáveis, através da produção de compostos com atividade antimicrobiana, a competição por nutrientes e a competição por sítios de adesão.

O segundo desses mecanismos é a alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática. O terceiro é o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos. Servin (2004); Lavermicocca et al. (2005); Saad (2006) afirmam que os gêneros de probióticos *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. são capazes de inibir a proliferação de bactérias patogênicas através da produção de ácidos orgânicos, da redução do pH e da produção de outros metabólitos como peróxido de hidrogênio e bacteriocinas.





Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de inibição de espécies de *Lactobacillus*, comercializadas em cápsulas manipuladas, sobre o desenvolvimento de cepas de *Escherichia coli*.

## MÉTODOS

As cápsulas contendo os microrganismos probióticos foram adquiridas em farmácias de manipulação da cidade de Volta Redonda-RJ. No que se refere aos microrganismos patogênicos foram utilizadas as cepas de *Escherichia coli* presentes nas culturas de células do UniFOA.

Para detecção da atividade antimicrobiana de substâncias produzidas pelas cepas de *Lactobacillus* sobre os patógenos, foi empregado o método do ágar “spot test”. Para tanto, as culturas ativas de *Lactobacillus* contendo  $10^5$  UFC/mL, foram inoculadas em “spots” de 5  $\mu$ L, em placa de Petri contendo ágar MRS, adicionado de 2 g/L de bicarbonato de sódio, secas a temperatura ambiente por 30 minutos, e posteriormente incubadas à 37°C por 18 horas. Em seguida, as placas foram deixadas em contato com vapor de clorofórmio, empregando-se algodão embebido com o mesmo por 40 minutos, após o que foram deixadas por mais 40 minutos abertas para liberação dos vapores de clorofórmio. Em seguida foram adicionados às placas, 10 mL de ágar Brain Heart Infuse (BHI) semi-sólido, contendo células dos patógenos numa concentração de aproximadamente  $10^5$  UFC/mL. Posteriormente, as placas foram incubadas por mais 18 horas à 37°C, e observadas as zonas de inibição por meio da formação de halos ao redor das colônias de *Lactobacillus* (DE MARTINIS et al., 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 6 espécies de microrganismos probióticos, rotulados como sendo das espécies *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. rhaminosus*, *L. reuteri* e *L. johnsonii*. As células patogênicas utilizadas foram todas da espécie *Escherichia coli* na concentração de aproximadamente  $10^5$  UFC/mL e utilizando-se diferentes cepas. As zonas de inibição foram determinadas pelo diâmetro da circunferência ao redor das colônias de *Lactobacillus* (Tabela 1).



Tabela 1 - Tamanho médias das zonas de inibição (mm) das diferentes espécies de *Lactobacillus* frente as cepas de *Escherichia coli*

Cepas de <i>E. coli</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>L. rhaminosus</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>L. johnsonii</i>
1	22,5	10	-	-	-	-
2	25	15	20	20	22,5	-
3	13,5	-	-	16	13,5	23
4	36	14	-	-	21,5	7,5
5	27	30,5	-	-	-	-
6	16,5	10	-	26	15	-
7	-	23,5	-	19	-	-
8	-	30	30	19,5	12,5	-
9	20,5	24	-	19	12,5	-
10	-	-	-	-	-	-
11	20	20	-	13	18,5	13,5
12	20	-	15,5	18,5	12,5	-
13	31	29	-	13,5	-	-
14	15,5	20	-	19,5	10	-

Fonte: O autor

*L. acidophilus* e *L. bulgaricus* foram as espécies que tiveram o melhor resultado, visto que cada uma apresentou zonas de inibição frente a 11 das 14 cepas de *E. coli* utilizadas, o que representa um total de 78,57% de eficácia. Além da produção de ácidos orgânicos como o ácido láctico e acético, é provável que as duas espécies também tenham produzido bacteriocinas, uma vez que o uso de bicarbonato no meio serve justamente para neutralizar o efeito da acidez. Bacteriocinas são peptídeos com propriedades bacteriostáticas, uma vez que criam poros na membrana plasmática ou intervêm nas vias enzimáticas de algumas espécies (JUIZ; RIBEIRO; PASSOS; 2017).

Conforme Pereira e Gomez (2007) a atividade antimicrobiana, marcada pela produção de substâncias como as bacteriocinas, podem impedir a colonização do trato digestório por patógenos, evitando o surgimento de processos infecciosos. Além das bacteriocinas, outra substância com efeito inibidor produzida por *Lactobacillus* é o peróxido de hidrogênio, de acordo com Brolazo (2009) os ácidos orgânicos, bacteriocinas e peróxido de hidrogênio atuam em conjunto na inibição de bactérias patogênicas.





Em seguida, *L. rhaminosus*, com 71,42% e *L. reuteri*, com 64,28%, foram as outras espécies com resultados de inibição satisfatório. Por outro lado, *L. helveticus* e *L. johnsonii* com apenas 21,42% de eficácia, foram aquelas que apresentaram os piores resultados, inibindo apenas 3 cepas.

Em relação as cepas de *E. coli*, 2 delas foram inibidas por 5 espécies de *Lactobacillus* diferentes, 7 cepas foram inibidas por 4 probióticos testados, 1 apresentou-se inibida por 3 *Lactobacillus* e 3 se mostraram sensíveis por 2 espécies. Vale destacar que apenas uma cepa do patógeno foi capaz de resistir a todos os probióticos testados. Esses resultados demonstram que a utilização de probióticos em “pool” podem apresentar os melhores objetivos.

Poppi et al. (2015), avaliando o efeito do sobrenadante de isolados de *Lactobacillus* sp. sobre *Escherichia coli* O157:H7, observaram maior atividade inibitória quando utilizaram o “pool” em comparação as culturas individuais. De acordo com os autores, a melhor atividade do “pool” está relacionada com o efeito sinérgico das substâncias produzidas pelos *Lactobacillus*, enfatizando a importância da seleção precisa das cepas para aplicações probióticas.

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos conclui-se que, além dos efeitos já conhecidos, como melhoramento do trânsito e da microbiota intestinal, os microrganismos probióticos possuem grande potencial antimicrobiano. Das 6 espécies de *Lactobacillus* testadas individualmente, apenas 2 não obtiveram resultados de inibição contra cepas de *Escherichia coli*. Sendo assim, é promissor o enfoque em pesquisas voltadas para o uso desses *Lactobacillus* no auxílio ao combate às bactérias que resistem a antibióticos tradicionais, sendo um ponto chave no avanço da microbiologia e biotecnologia nas mais diversas aplicações com relação a saúde.





## AGRADECIMENTOS

À Fundação Oswaldo Aranha (FOA) e ao Centro Universitário de Volta Redonda (UniFOA), pelo apoio financeiro para o desenvolvimento do estudo (91304-PIC/FOA).

## REFERÊNCIAS

ABRANTES, J. A., NOGUEIRA, J. M. R. Resistência bacteriana aos antimicrobianos: uma revisão das principais espécies envolvidas em processos infecciosos. **Rev. Bras. An. Clin.** v. 53, n. 3, p. 219-223, 2021.

BROLAZO, E. M. **Prevalência e caracterização de espécies de lactobacilos vaginais em mulheres saudáveis em idade reprodutiva.** 2009. Tese (Pós-graduação) - Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009

DE MARTINIS, E. C. P., et. al. Bioconservação de Alimentos: Aplicação de bactérias lácticas e suas bacteriocinas para a garantia da segurança microbiológica de alimentos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 29, p. 114-120, 2002.

JUIZ, P. J. L.; RIBEIRO, B. K. A.; PASSOS, R. A. O estado da arte sobre a atividade antimicrobiana e imunomoduladora de probióticos. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 8, n. 3, p.141-155, 2017.

KERRY, R.G. et al. Benefaction of probiotics for human health: A review. **J. Food Drug Anal.** v. 26, p. 927–939, 2018.

LAVERMICOCCA, P. et al. Study of adhesion and survival of lactobacilli and bifidobacteria on table olives with the aim of formulating a new probiotic food. **Appl Environ Microbiol.** v. 71, n. 8, p. 4233-40, 2005.

NEZHAD, H. E.; BARZEGAR, L.; ESMAEILI, D. Antibacterial Effects of Compound Bifilact on *E.coli* and *Campylobacter jejuni*. **Medical Laboratory Journal**, v. 14, n. 1, p.15-19, 2020.

OELSCHLAEGGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions - A review. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, n. 5, 2010.

PEREIRA, V. G.; GÓMEZ, R. J. H. C. Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus acidophilus*, contra microrganismos patogênicos veiculados por alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 229- 240, 2007.



2º Congresso  
**Tudo é  
Ciência:**  
**(Ser) Humano na  
Sociedade 5.0**



ORGANIZADO POR:

**UniFOA**

POPPI, L. B. et al. Effect of *Lactobacillus* sp. isolates supernatant on *Escherichia coli* O157:H7 enhances the role of organic acids production as a factor for pathogen control. **Pesq. Vet. Bras.** v. 35, n. 4, p. 353- 359, 2015.

SAAD, S. M. I. Prebióticos e Probióticos: o estado da arte. **Rev Bras Cienc Farm.**,v. 42, n. 1, 2006.

SERVIN, A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. **FEMS Microbiol Rev.** v. 28, p. 405–440, 2004.



2º Congresso  
**Tudo é  
Ciência:**  
**(Ser) Humano na  
Sociedade 5.0**

2º Congresso Brasileiro de Ciências e Saberes Multidisciplinares  
Volta Redonda - RJ | 26 a 28 de Outubro

ORGANIZAÇÃO

**UniFOA**