



ATIVIDADE ANTIMICROBIANA: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE PROBIÓTICOS NA PRESENÇA DA BACTÉRIA

Escherichia coli

Cristiano Ferreira dos Santos¹
Dantiele de Andrade Marques¹
Fabio João Benitez²
Isabel Fernandes Souza³
Sheila Caroline Vendrame Maikot⁴

INTRODUÇÃO

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando ingeridos na quantidade adequada, trazem inúmeros benefícios à saúde e ao equilíbrio da flora intestinal (BOLOCAN; POPESCU; BICĂ, 2013). São responsáveis por diversas funções no organismo, como a produção e a excreção de vitaminas, o controle do crescimento exacerbado de bactérias patogênicas, a estimulação do desenvolvimento de anticorpos naturais, a destruição de bactérias patogênicas e a produção de substâncias como os peróxidos e as bacteriocinas. Atuam principalmente nos processos metabólicos contra os agentes patogênicos (CAMPOS, 2014).

A microbiota intestinal humana é composta por bactérias aeróbias e anaeróbias, como *Lactobacillus* spp., *Faecalibacterium* spp., *Bifidobacterium* spp. e *Bacteroides* spp. que estão em equilíbrio. Quando a homeostase intestinal é modificada, a microbiota se torna mais suscetível ao crescimento de estirpes patogênicas resistentes a antimicrobianos, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus* spp. (OLIVA et al., 2020).

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 metabólitos capazes de neutralizar toxinas bacterianas. Outra

¹ Acadêmicos de Graduação do Curso de Farmácia do Instituto de Ensino Superior de Foz do Iguaçu (IESFI), Foz do Iguaçu - PR, cristianofdosantos@gmail.com;

² Biomédico. Mestrando em Saúde Pública em Região de Fronteira e Docente do Curso de Farmácia do Instituto de Ensino Superior de Foz do Iguaçu (IESFI), Foz do Iguaçu – PR, fabiojbenitz@gamil.com;

³ Doutora em Ciências e Docente do Curso de Farmácia do Instituto de Ensino Superior de Foz do Iguaçu (IESFI), Foz do Iguaçu – PR, ifsouza.proexis@gmail.com;

⁴ Professora orientadora, Mestre em Ciências Farmacêuticas e Docente do Curso de Farmácia do Instituto de Ensino Superior de Foz do Iguaçu (IESFI), Foz do Iguaçu – PR, sheilavendrame@hotmail.com.



função desse microorganismos está no controle de doenças autoimunes, doenças alérgicas e processos inflamatórios intestinais (BOLOCAN; POPESCU; BICĂ, 2013).

Com o crescente aumento de microrganismos resistentes aos antibióticos, cada vez mais se faz necessário o estudo para novas descobertas de agentes antimicrobianos ou a utilização de combinações sinérgicas para erradicar possíveis microrganismos resistentes às múltiplas drogas tradicionalmente administradas. A utilização frequente de antibióticos e o tempo prolongado de uso podem trazer riscos à saúde, pois altera a microbiota intestinal. Essa alteração consequentemente se torna mais vulnerável ao crescimento de bactérias patogênicas oportunistas (NEZHAD; BARZEGAR; ESMAEILI, 2020).

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria gram-negativa com capacidade de fermentar a glicose com produção de ácido e gás. Também é capaz de fermentar a lactose. Pertence à família *Enterobacteriaceae* e está presente na microbiota do trato intestinal de humanos e em uma variedade de animais (KASNOWSKI, 2004).

Algumas cepas de *E. coli* podem ser patogênicas e causar quadros de diarreia. As cepas patogênicas são classificadas de acordo com seu potencial de virulência em: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), e *E. coli* enterotoxigênica (ETEC). Essa última produtora de toxina shiga. E, por último, uma sexta categoria, *E. coli* difusamente aderente (DAEC), (IJIMA et al., 2017). Os patótipos de *E. coli* mais envolvidos em casos de diarreia no mundo são *E. coli* enterotoxigênica e *E. coli* enteroagregativa (PEDROSO, 2011).

Quase todas as bactérias da microbiota produzem algum tipo de substância in vitro que podem ser inibidoras da própria cultura ou de outros gêneros de bactérias. Substâncias estas que podem ser enzimas, toxinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio (PEREIRA; GÓMEZ, 2007). Os probióticos liberam substâncias químicas que tem efeito bactericida ou bacteriostático sobre bactérias patogênicas. Assim, tem papel fundamental para manter o controle da proliferação de microrganismos oportunistas, criando uma barreira protetora (MURALINATH; PARASA, 2015). Com isso, torna-se de interesse o estudo sobre probióticos, sua ação sobre microrganismos patogênicos e a avaliação de seu potencial antimicrobiano.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos probióticos *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. na presença da bactéria *E. coli* ATCC 25922 pelo método de disco difusão.



METODOLOGIA

A ação antimicrobiana dos probióticos sobre a bactéria *E. coli* ATCC 25922 foi avaliada através do método de disco difusão em ágar Mueller Hinton. Para tal, foram utilizados os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Dentro do gênero *Lactobacillus* foi utilizada uma suspensão contendo *Lactobacillus casei* 10⁹, *Lactobacillus rhamnosus* 10⁹, *Lactobacillus acidophilus* 10⁹ e *Lactobacillus bulgaricus* 10⁹.

Para o gênero *Bifidobacterium* foi utilizada uma suspensão contendo *Bifidobacterium breve* 10⁹ e *Bifidobacterium longum* 10⁹.

As suspensões de *Lactobacillus* spp. e de *Bifidobacterium* spp. foram ajustadas para a concentração 1,5x10⁸ UFC/ml, equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland.

Para verificar a atividade antimicrobiana dos probióticos foram utilizados 3 discos de papel estéreis de 6 mm, em que 1 disco foi saturado com 30 µl da suspensão de *Lactobacillus* spp., 1 disco foi saturado com 30 µl da suspensão de *Bifidobacterium* spp. e 1 disco foi saturado com 15 µl da suspensão de *Lactobacillus* spp. + 15 µl da suspensão de *Bifidobacterium* spp.

Como controle utilizou-se uma placa com disco de antimicrobiano de Gentamicina para avaliar a ação antimicrobiana desta sobre a *E. coli*.

O teste foi realizado em triplicata e as placas foram incubadas na estufa em jarra de anaerobiose por 24 horas a 37°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o tempo de incubação as placas foram analisadas. Observou-se que não houve halo de inibição de crescimento em nenhuma das triplicatas. Na placa utilizada como controle, com o antimicrobiano Gentamicina, observou-se halo de inibição de crescimento. Com o resultado negativo da ação dos probióticos frente à bactéria *E. Coli*. Repetiu-se o teste com o dobro da concentração de probióticos na suspensão. Após 24 horas de incubação também não houve formação de halo de inibição de crescimento. Diante do exposto, verificou-se que a bactéria *E. coli* ATCC 25922 não mostrou sensibilidade aos probióticos utilizados.



Santos (2018) testou, também pelo método de disco difusão, a atividade antimicrobiana dos probióticos *S. cerevisiae*, *S. sabouardii*, *B. cereus*, *B. clausii* e *Lactobacillus* spp., na presença das enterobactérias *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., e *Citrobacter freundii* em meio sólido e meio líquido. Como resultado, os probióticos não apresentaram atividade antimicrobiana em nenhum dos meios utilizados.

No estudo conduzido por Sé e Paulo (2016), para avaliar a atividade antagonista de 3 diferentes culturas de *Lactobacillus* spp. frente sorotipos de *E. coli* isoladas de efluentes residenciais. Foram utilizados os métodos de disco difusão e da cultura mista. Em uma amostra com disco contendo *Lactobacillus plantarum* foi detectado um discreto halo de inibição de 2mm que, quando comparado com o antibiótico controle, não se mostra efetivo. No mesmo teste, uma amostra de *E. coli* mostrou sensibilidade à cultura mista de *Lactobacillus* spp. Isso que indica diferentes virulências na cepas de *E. coli* encontradas nas amostras.

Em contrapartida, Nezhad, Barzega e Esmaili (2020) verificaram em sua pesquisa, pelo método de disco difusão, que, *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. combinados tiveram um efeito sinérgico considerável sobre *Escherichia coli* e *Campilobacter jejuni*.

Muitos probióticos são comercializados como forma de alimentos e suplementos, Isso mostra que há caminho para novas pesquisas com foco no desenvolvimento de fármacos para o controle de doenças que possuem, como princípio ativo, os probióticos. Estudos apontam a melhora de pacientes com doenças cuja base eram a diarreia infecciosa, as doenças por inflamações no intestino, as enterocolite necrosante, o câncer e as terapias contra câncer, as alergias e as doenças infecciosas comuns (BOLOCAN; POPESCU; BICA, 2013).

Os probióticos vem se apresentando como alternativa de tratamento, sendo o maior desafio mostrar a maneira como devem ser conduzidas as pesquisas afim de mostrar os benefícios e formas de tratamento (SANDERS et al., 2013).

A não ocorrência de atividade antimicrobiana por parte dos probióticos sugere que a bactéria *Escherichia coli* ATCC 25922 seja uma cepa resistente aos probióticos utilizados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da resistência bacteriana a antimicrobianos vem se tornando um dos mais graves problemas de saúde pública, estando associada ao uso irracional de antimicrobianos e o frequente aparecimento de microrganismos resistentes ao medicamento.



A busca por novos fármacos antimicrobianos se faz necessária, uma vez que a existência de bactérias multirresistentes é uma realidade em diversos países. Nesse contexto, os próbióticos podem ser uma solução ou alternativa. Sendo assim, este estudo contribuiu para reafirmar a necessidade de novas descobertas e investigação de possíveis agentes antimicrobianos, incluindo os probióticos. E assim, nesse caso, compreender os mecanismos de ação frente às bactérias, sendo uma possibilidade quando a administração se dá de forma associada com agentes antimicrobianos existentes, a exemplo dos antibióticos.

Palavras-chave: Probióticos, Atividade antimicrobiana, *Escherichia coli*.

REFERÊNCIAS

BOLOCAN, L. V.; POPESCU, F.; BICA, C. **Probiotics and their immunomodulatory potential**. 2013. Disponível em: <https://www.chsjournal.org/CHSJ/papers/CHSJ.39.04.02.pdf>.

CAMPOS, M. J. G. **Benefício da utilização de probióticos, prebióticos e simbióticos na erradicação da *Helicobacter pylori***. 2014. Disponível em: https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/4893/1/3278_6649.pdf. Acesso em: 09 jun. 2020.

IJIMA, Y. et al. **High prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* among children with diarrhea in Kenya**. 2017. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/yoken/advpub/0/advpub_JJID.2016.064/article/-char/ja/.

KASNOWSKI, M. C. ***Listeria spp., Escherichia coli*: Isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída**. 2004. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-6409>. Acesso em: 08 jun. 2020.

MURALINATH, E.; PARASA, L. S. **In vitro investigation on antibacterial activity of selected probiotics against superbug of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from hospital populations**. 2015. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/IN-VITRO-INVESTIGATION-ON-ANTIBACTERIAL-ACTIVITY-OF-Muralinath-Parasa/b86720bd38d880fcb599354f611bf2c4ee7a602d>.

NEZHAD, H. E.; BARZEGA, L.; ESMAEILI, D. **Antibacterial effects of compound bifilacton *E. coli* and *Campylobacter jejuni***. 2019. Disponível em: http://www.mlj.goums.ac.ir/browse.php?a_id=1206&sid=1&slc_lang=fa.

OLIVA, A. et al. **Antibacterial effectiveness of fecal water and in vitro activity of a multi strain probiotic formulation against multi drug resistant microorganisms**. 2020. Disponível em: <https://scihub.tw/10.3390/microorganisms8030332>

PEDROSO, S. H. S. P. **Ação probiótica da levedura *Saccharomyces boulardii*: ação probiótica da levedura *saccharomycesboulardii***. 2011. 102 f. Monografia (Especialização) - Curso de



Microbiologia, Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011. Cap. 102. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-99VFQB/1/monografia_silvia.pdf.

PEREIRA, V. G.; GÓMEZ, R. J. H. C. Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus acidophilus*, contra microrganismos patogênicos veiculados por alimentos. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 229-239, 01 maio 2007. Mensal. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744084009.pdf>.

SANDERS, M. E. et al. **An update on the use and investigation of probiotics in health and disease**. 2013. Disponível em: <https://gut.bmj.com/content/62/5/787>.

SANTOS, L. C. **Atividade antimicrobiana de probióticos comerciais frente à enterobactérias**. 2018. Disponível em: <https://repository.ufrpe.br/handle/123456789/1248>.

SÉ, G. A. A. da; PAULO, E. M. **Determinação da atividade antagônica de bactérias lácticas frente às linhagens de *Escherichia coli* isoladas de dejetos residenciais**. 2016. Disponível em: <http://periodicos.uefs.br/index.php/semic/article/view/3056/2448>.