

## POTENCIAL PROBIÓTICO DE *LACTOBACILLUS* spp. E *ENTEROCOCCUS* spp. ISOLADOS DO COLOSTRO BOVINO

ELISA ROCHA DA SILVA<sup>1</sup>; PEDRO RASSIER DOS SANTOS<sup>2</sup>; ROSANA BASSO KRAUS<sup>2</sup>; ISABEL DE ALMEIDA MANCINI<sup>2</sup>; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [elisasilva.vet@gmail.com](mailto:elisasilva.vet@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rassier1907@gmail.com](mailto:rassier1907@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rosana\\_basso\\_kraus@hotmail.com](mailto:rosana_basso_kraus@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [isabelmancini@outlook.com](mailto:isabelmancini@outlook.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [pattsn@gmail.com](mailto:pattsn@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O colostrum bovino, primeira secreção das glândulas mamárias nas primeiras 72 horas pós-parto, é reconhecido por seu alto valor nutricional e funcional (POONIA & SHIVA, 2022). Além de fornecer nutrientes e compostos bioativos essenciais ao desenvolvimento e proteção dos neonatos (LOPEZ & HEINRICH, 2022), é fonte natural de fatores de crescimento, imunoglobulinas e bactérias ácido-láticas (BAL), que contribuem para a saúde gastrointestinal e imunológica (PLAYFORD & WEISER, 2021).

Probióticos, definidos como microrganismos vivos que, em quantidades adequadas, beneficiam a saúde do hospedeiro, têm sido amplamente estudados por sua capacidade de modular a microbiota intestinal, inibir patógenos e estimular a resposta imune (FUSCO et al., 2023). Entre eles, destacam-se espécies dos gêneros *Lactobacillus* spp. e *Enterococcus* spp.. *Lactobacillus* spp. é conhecido pela produção de ácido lático e bacteriocinas, enquanto *Enterococcus* spp., embora requeira avaliação de segurança, apresenta linhagens com potencial probiótico relevante (AYYASH et al., 2021; LOPEZ-ESCALERA et al., 2023).

O consumo crescente de alimentos fermentados por BAL decorre da ação metabólica desses microrganismos e dos compostos bioativos que produzem, capazes de melhorar características funcionais e nutricionais dos alimentos (JITPAKDEE et al., 2022; CARBONI et al., 2023; YANG et al., 2024; MARCO et al., 2017). Apesar da disponibilidade comercial de diversas cepas, fontes pouco exploradas, como o colostrum bovino, podem fornecer microrganismos com propriedades funcionais únicas (AYYASH et al., 2021).

Assim, este trabalho tem como objetivo identificar bactérias ácido-láticas isoladas do colostrum bovino e avaliar seu potencial probiótico, com ênfase em espécies dos gêneros *Lactobacillus* spp. e *Enterococcus* spp., visando contribuir para o desenvolvimento de alternativas seguras e eficazes na promoção da saúde gastrointestinal.

### 2. METODOLOGIA

Quatro amostras de colostrum bovino, previamente armazenadas no Laboratório de Microbiologia e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, foram semeadas em ágar MRS (de Man, Rogosa & Sharpe) e incubadas em jarras de anaerobiose a 35,5 °C por até 72 horas. As colônias obtidas foram repicadas por esgotamento, incubadas por mais 48 horas e submetidas à coloração de Gram e teste de catalase, selecionando-se as Gram-positivas e catalase-negativas.

A identificação taxonômica de linhagens não redundantes foi realizada por ionização por dessorção a laser assistida por matriz com tempo de voo (MALDI-TOF), segundo NACEF et al. (2017). Os perfis proteicos, obtidos em triplicata, foram extraídos com etanol/ácido fórmico, ácido fórmico a 70% e acetonitrila pura. Os espectros foram adquiridos em espectrômetro Autoflex III SmartBeam, calibrado com Bacterial Test Standard, sendo considerados de alta confiança os escores entre 3,0 e 2,0. Uma cepa padrão de *Escherichia coli* foi utilizada como controle positivo.

A susceptibilidade a antimicrobianos foi avaliada por difusão em disco, utilizando inóculos ajustados para  $\sim 1,5 \times 10^8$  UFC/mL semeados em ágar Müller Hinton (Acumedia®) e expostos a ciprofloxacina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina, penicilina G, tetraciclina, vancomicina e ampicilina. Após incubação a 36 °C por 24 h, os halos de inibição foram medidos e classificados como resistentes ( $\leq 15$  mm), intermediários (16–20 mm) ou sensíveis ( $\geq 21$  mm), conforme VLKOVÁ et al. (2006).

A atividade antagonista foi determinada contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Os patógenos foram ativados em caldo BHI (Acumedia®), padronizados na escala 0,5 de McFarland, diluídos a  $10^5$  UFC/mL e semeados em ágar Müller Hinton. Sobre as placas, aplicaram-se 10 µL das culturas testadas, previamente ativadas, e incubou-se a 36 °C por 24 h. A presença de halos transparentes foi classificada como baixa (< 2 mm), média (2–5 mm) ou alta (> 5 mm), conforme PURUTOĞLU et al. (2020).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seleção dos antimicrobianos testados foi fundamentada no aumento da resistência microbiana na cadeia alimentar e em estudos prévios semelhantes (FALFÁN-CORTÉS et al., 2022; SARAIVA et al., 2022; SAGAR et al., 2023; WU-WU et al., 2023). Os isolados apresentaram sensibilidade à ciprofloxacina, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina, vancomicina e ampicilina, enquanto resultados intermediários foram observados para gentamicina (25%) e penicilina (50%). Em contraste com estudos como o de Rokon-Uz-Zaman et al. (2023), que identificaram elevadas taxas de resistência a diversos antimicrobianos em *Lactobacillus* spp., incluindo 11,4% à vancomicina, neste trabalho nenhum dos isolados apresentou resistência a esse fármaco, resultado inesperado considerando a resistência intrínseca relatada para o gênero (DUCHE et al., 2023). Esses achados indicam a necessidade de análises adicionais para melhor compreensão do perfil de resistência observado.

Com relação à atividade antagonista, os isolados apresentaram maior efeito frente a *Staphylococcus aureus*, com halos variando entre  $3,1 \pm 1$  mm e  $13,6 \pm 0,3$  mm, todos classificados como de alta atividade. Para *Salmonella typhimurium*, entretanto, não foi observada inibição na maioria dos casos (66,7%). O isolado 2 destacou-se por apresentar atividade contra todos os microrganismos patogênicos testados, ainda que com intensidade baixa frente a *Escherichia coli* e *S. typhimurium*. Esses resultados sugerem que a ação antagonista pode estar relacionada à produção de bacteriocinas e à acidificação do meio promovida pela proliferação dos isolados (THOMPSON et al., 2022).

### 4. CONCLUSÕES

Os estudos de segurança e eficácia dos isolados de bactérias ácido-láticas do colostrum bovino mostraram resultados promissores. A avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos revelou que a maioria dos isolados apresentou sensibilidade frente aos antibióticos testados, com destaque para a ausência de resistência à vancomicina, diferindo de relatos prévios que sugerem resistência intrínseca a esse antimicrobiano. Além disso, os isolados demonstraram atividade antagonista significativa contra microrganismos patogênicos, principalmente *Staphylococcus aureus*, evidenciando seu potencial probiótico. Esses resultados reforçam a importância do colostrum bovino como fonte de bactérias ácido-láticas e indicam perspectivas positivas para seu uso na promoção da saúde humana e veterinária, bem como para futuras aplicações em produtos finais.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYYASH, Mutamed M. et al. Invited review: Characterization of new probiotics from dairy and nondairy products—Insights into acid tolerance, bile metabolism and tolerance, and adhesion capability. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 8, p. 8363-8379, 2021.

CARBONI, Angela D. et al. Bactérias ácido lácticas na produção de alimentos e bebidas fermentadas tradicionais da América Latina. **Fermentação**, v. 9, n. 4, pág. 315, 2023.

DUCHE, Rachael T. et al. Antibiotic resistance in potential probiotic lactic acid bacteria of fermented foods and human origin from Nigeria. **BMC microbiology**, v. 23, n. 1, p. 142, 2023.

FALFÁN-CORTÉS, Reyna N. et al. Characterization and evaluation of the probiotic potential in vitro and in situ of *Lacticaseibacillus paracasei* isolated from tenate cheese. **Journal of Food Protection**, v. 85, n. 1, p. 112-121, 2022.

FUSCO, Alessandra et al. In vitro evaluation of the most active probiotic strains able to improve the intestinal barrier functions and to prevent inflammatory diseases of the gastrointestinal system. **Biomedicines**, v. 11, n. 3, p. 865, 2023.

JITPAKDEE, Jirayu et al. Potencial das bactérias lácticas para produzir bebidas de soro de leite fermentadas funcionais com supostos atributos de promoção da saúde. **LWT**, v. 113269, 2022.

LOPEZ, A. J.; HEINRICHS, A. J. Invited review: The importance of colostrum in the newborn dairy calf. **Journal Of Dairy Science**, v. 105, n. 4, p. 2733-2749, 2022.

LOPEZ-ESCALERA, Silvia et al. In vitro screening for probiotic properties of *lactobacillus* and *bifidobacterium* strains in assays relevant for non-alcoholic fatty liver disease prevention. **Nutrients**, v. 15, n. 10, p. 2361, 2023.

MARCO, Maria L. et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. **Current Opinion In Biotechnology**, v. 44, p. 94-102, 2017.

NACEF, Menouar et al. MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of lactic acid bacteria isolated from a French cheese: The Maroilles. **International Journal Of Food Microbiology**, v. 247, p. 2-8, 2017.

PLAYFORD, Raymond John; WEISER, Michael James. Bovine colostrum: Its constituents and uses. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 265, 2021

POONIA, Amrita; SHIVA. Bioactive compounds, nutritional profile and health benefits of colostrum: a review. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 26, 2022.

PURUTOĞLU, Kübra et al. Diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional kefir grains. **International Journal of Dairy Technology**, v. 73, n. 1, p. 57-66, 2020.

ROKON-UZ-ZAMAN, Md et al. Detection of antimicrobial resistance genes in Lactobacillus spp. from poultry probiotic products and their horizontal transfer among Escherichia coli. **Veterinary and Animal Science**, v. 20, p. 100292, 2023.

SAGAR, Prarthi et al. The role of food chain in antimicrobial resistance spread and One Health approach to reduce risks. **International Journal of Food Microbiology**, v. 391, p. 110148, 2023.

SARAIVA et al. Antimicrobial resistance in the globalized food chain: A One Health perspective applied to the poultry industry. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1-22, 2022.

THOMPSON, John et al. Antagonistic activity of lactic acid bacteria against pathogenic vibrios and their potential use as probiotics in shrimp (*Penaeus vannamei*) culture. **Frontiers in Marine Science**, v. 9, p. 807989, 2022.

VLKOVÁ, E. et al. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria isolated from gastrointestinal tract of calves. **Livestock Science**, v. 105, n. 1-3, p. 253-259, 2006.

WU-WU, Jannette Wen Fang et al. Antibiotic resistance and food safety: perspectives on new technologies and molecules for microbial control in the food industry. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 550, 2023.

YANG, Xiaohua et al. Effect of Lactic Acid Bacteria Fermentation on Plant-Based Products. **Fermentation**, v. 10, n. 1, p. 48, 2024.