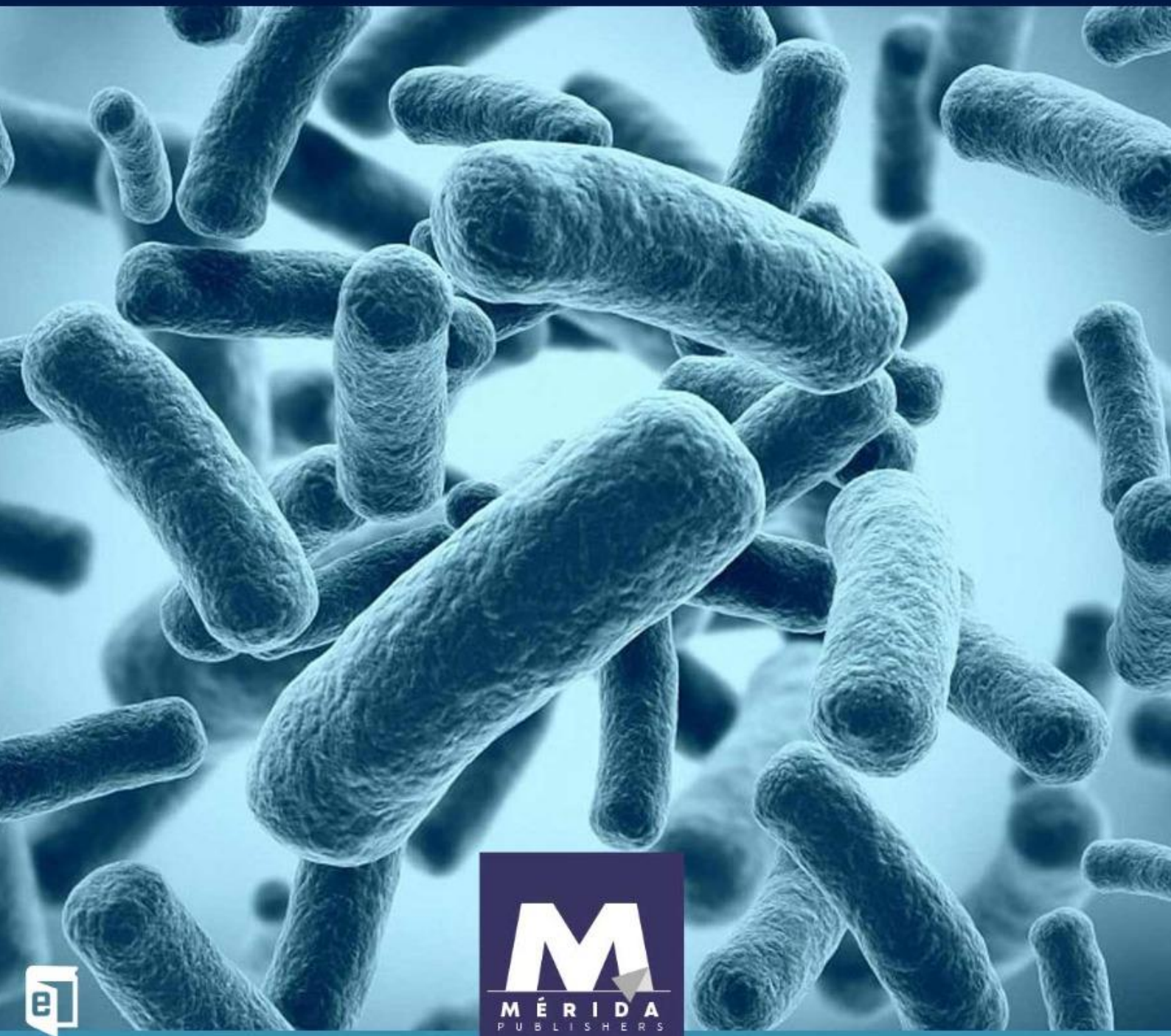
ORGANIZADORAS:

Thaiane Marques Da Silva
Cassandra De Deus

# Probióticos: viabilidade e saúde



MÉRIDA PUBLISHERS

**ORGANIZADORAS:**

Thaiane Marques Da Silva
Cassandra De Deus

# *Probióticos:*
## viabilidade e saúde

Canoas
**2022**

MÉRIDA
PUBLISHERS

**Probióticos: viabilidade e saúde**
© 2022 Mérida Publishers
https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1

**Organizadoras**
Thaiane Marques da Silva
Cassandra de Deus

**Adaptação da capa e desenho gráfico**
Luis Miguel Guzmán

**Foto da capa e contracapa**
Thinkstock

Canoas - RS - Brasil
**contact@meridapublishers.com**
**www.meridapublishers.com**

Todos os direitos autorais pertencem a Mérida Publishers. A reprodução total ou parcial dos trabalhos publicados, é permitida desde que sejam atribuídos créditos aos autores.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**
**(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

P962 Probióticos [livro eletrônico] : viabilidade e saúde / Organizadoras Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus. – Canoas, RS: Mérida Publishers, 2022.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-84548-09-1

1. Alimentos funcionais. 2. Probióticos. I. Silva, Thaiane Marques da. II. Deus, Cassandra de.

CDD 615.329

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

## CORPO EDITORIAL

**Dra. Thaiane Marques da Silva**

Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pelo PPGCTA/UFSM (2020)

**Cassandra de Deus**

Mestra em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela UFSM (2021)

## Prefácio

Os probióticos são definidos internacionalmente como microrganismos vivos administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Esses efeitos podem ser a redução do colesterol, o alívio dos sintomas da intolerância à lactose, o fortalecimento do sistema imune, além de auxílio no tratamento e prevenção da diarreia aguda ou associada a antibióticos, redução de efeitos colaterais do tratamento para *H. pylori*, na terapia de colite ulcerativa, no tratamento da doença de Crohn e da síndrome do intestino irritável, entre outros.

Entre os probióticos mais comumente conhecidos e utilizados, encontram-se cepas de bactérias e leveduras, como *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Saccharomyces*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* e *Enterococcus*. Segundo a legislação, os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, participantes da microbiota intestinal humana, são detentores das principais espécies probióticas.

Na área de alimentos, os probióticos geralmente estão associados a suplementos e derivados lácteos, nesse sentido, há alguns pontos importantes para serem levados em consideração. Os probióticos devem permanecer vivos durante a fabricação dos alimentos e na produção em grande escala, necessitam também manter a viabilidade durante o armazenamento e no momento do consumo, além de sobreviver durante a passagem pelo trato gastrointestinal, o que dificulta a aplicação dos mesmos na grande maioria dos alimentos.

Diante do exposto, é de extrema importância o estudo aprofundado dos probióticos, bem como encontrar formas de protegê-los para aplicação em diferentes produtos e ampliação da oferta dos mesmos à população, auxiliando na preservação e promoção da saúde. Além disso, tem se observado o aumento de consumo dos probióticos, o que também é apontado como forte tendência para as próximas décadas, devido à crescente conscientização por parte dos consumidores sobre a importância da microbiota intestinal para a saúde.

Portanto, o presente e-book pretende apresentar avanços em estudos relacionados ao tema probióticos, envolvendo revisões bibliográficas e pesquisas científicas que relatam o potencial probiótico de diferentes microrganismos, intervenções terapêuticas com probióticos, formulações e inovações na área de alimentos, entre outros.

# Índice

**CAPÍTULO 1 ..... 8**

**Estudo da composição nutricional e viabilidade de *Lactobacillus helveticus* em queijo frescal probiótico**

Bárbara Raquel dos Santos Cruz, Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Lailson Oliveira de Sousa, Alice Victoria Silva Cardoso, Ralane Gomes da Silva, Stherfany Mac Donald da Silva

**CAPÍTULO 2 ..... 23**

**Potencial probiótico de leites fermentados adicionados de camu-camu**

Antonia Raniely Vieira da Silva, Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Lailson Oliveira de Sousa

**CAPÍTULO 3 ..... 35**

**Contagem de microrganismos probióticos em leites fermentados adicionados de açaí e camu-camu**

Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Leandro Timoni Buchdid Camargo Neves, Adriana Flach, Jéssica Kellen Souza Mendes, Beatriz Oliveira de Souza, Anderson do Nascimento Silva

**CAPÍTULO 4 ..... 48**

**Probióticos: inovações no desenvolvimento de formulações de alimentos funcionais não convencionais**

Fernanda Weber Bordini, Júlia Cristina Fernandes, Viviane Lívia Carvalho Souza, Elaine Cristina Galhardo, Moysés Estevão de Souza Freitas Pehrson, Ismael Maciel de Mancilha

**CAPÍTULO 5 ..... 84**

**Avaliação do potencial probiótico de leveduras do gênero *saccharomyces* e não-*saccharomyces***

Thaís Costa Santos, João Guilherme Da Silva Araújo, Eskálath Morganna Silva Ferreira, Juliana Fonseca Moreira da Silva

**CAPÍTULO 6 ..... 98**

**Efeitos da suplementação de probióticos em portadores de diabetes**

Sueli Essado Pereira, Bruna Marques Cintra

**CAPÍTULO 7 ..... 120**

**Doença celíaca: uma revisão sistemática sobre os efeitos da intervenção terapêutica com probióticos**

Sueli Essado Pereira, Michelle Metsavaht Salomão

**CAPÍTULO 8 ..... 144**

**Probióticos na terapia da candidíase vulvovaginal recorrente**

Sueli Essado Pereira, Heloisa Vieira Portilho Garcia

# CAPÍTULO 1

## Estudo da composição nutricional e viabilidade de *Lactobacillus helveticus* em queijo frescal probiótico

Bárbara Raquel dos Santos Cruz, Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Lailson Oliveira de Sousa, Alice Victoria Silva Cardoso, Ralane Gomes da Silva, Stherfany Mac Donald da Silva.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c1

**Resumo**

Alimentos probióticos fazem parte do grupo dos alimentos funcionais, a exemplo dos vários tipos de queijo que apresentam potencial frente a outros produtos probióticos. O objetivo deste trabalho foi estabelecer a composição nutricional e o estudo de pós acidificação de queijos probióticos. Para obtenção dos queijos, foi adicionado ao leite pasteurizado, 40 mL 100 $L^{-1}$ de $CaCl_2$ a 50%, 30 mL 100 $L^{-1}$ de coagulante e *Lactobacillus helveticus*. Após coagulação, fez-se corte da massa, mexedura, dessoragem, adição ou não de sal, embalagem e refrigeração a 4 ºC. As análises pós-acidificação, pH e acidez titulável (AT), as contagens dos *L. helveticus* foram realizadas nos dias 1, 6, 12, 18, 24 e 30 de armazenamento. As análises de composição nutricional envolveram, umidade, proteínas, lipídios, cinzas, carboidratos totais, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD) e valor calórico total. A análise de pós-acidificação mostrou redução significativa nos valores de pH e aumento na AT até o dia 12 de armazenamento. As contagens de microrganismos probióticos atenderam a legislação e aumentaram até o dia 12 de avaliação, concordando com os dados de acidificação pode-se afirmar que os 12 primeiros dias apresentam período ótimo de desenvolvimento dos *L. helveticus*. Os queijos foram classificados como de média umidade e magros de acordo com a legislação vigente. Não foi possível atender ao tempo de prateleira de 30 dias proposto, devido à contaminação dos queijos por microrganismos deterioradores. Pode-se concluir que o uso de microrganismos probióticos em queijos frescais é viável, porém com prazo de validade curto.

**Palavras-chave**: Alimentos funcionais, produtos lácteos, vida de prateleira.



**Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0**

## 1. Introdução

No setor lácteo, os alimentos funcionais já são uma realidade, e muitas empresas alimentícias desenvolvem suas linhas de produtos tendo a promoção da saúde como principal objetivo. Isso se deve ao fato de que os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde, e porque os alimentos funcionais constituem-se hoje, como prioridade de pesquisa em todo o mundo, com a finalidade de elucidar as propriedades e os efeitos benéficos que estes produtos podem proporcionar à saúde e ao bem-estar (BELCHIOR, 2004).

Os microrganismos utilizados como probióticos são, predominantemente, de diferentes espécies e linhagens dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. A principal razão para esta escolha é o fato destes dois gêneros serem habitantes predominantes do intestino humano, sendo os *Lactobacillus* do intestino delgado e os *Bifidobacterium* do intestino grosso. (O'SULLIVAN, 2006).

Os probióticos utilizados em alimentos devem se multiplicar e sobreviver aos processos de elaboração, maturação e estocagem do produto, bem como não afetar negativamente sua qualidade e ser seguro à saúde do consumidor (ISOLAURI et al., 2001; STANTON et al., 2001; ZALAZAR et al., 2004).

*Lactobacillus helveticus* é uma bactéria homofermentativa de ácido lático termofílica amplamente utilizada na fabricação de queijos do tipo suíço e italianos envelhecidos e bebidas lácteas fermentadas (GATTI et al., 2004; VINDEROLA et al., 2007). Os *L. helveticus* tem a capacidade de reduzir o amargor e dar sabor característico ao queijo, o que torna esta bactéria um importante componente de culturas starter para a indústria de laticínios. O interesse do consumidor por alimentos funcionais motivou os pesquisadores a se concentrarem nos compostos bioativos formados durante a fermentação de produtos lácteos por bactérias de ácido láctico (BAL), como *L. helveticus* (MATAR et al., 2003; VINDEROLA et al., 2007; RATTANACHAIKUNSOPON e PHUMKHACHORN, 2010; WAKAI e YAMAMOTO, 2012).

As proteínas do leite são consideradas fonte mais importante de peptídeos bioativos que podem ser liberados através da hidrólise por microrganismos proteolíticos, como *L. helvetius* (MEISEL e BOCKELMANN, 1999; MATAR et al., 2001; LEBLANC et al., 2002; FITZGERALD e MEISEL, 2003; KENNY et al., 2003; DE LEBLANC et al., 2008). Além disso, os microrganismos probióticos devem apresentar células viáveis em quantidades

adequadas no alimento durante toda a estocagem do produto, sendo a dose diária de consumo recomendada de $10^8$ - $10^9$ unidades formadoras de colônia (UFC) (BRASIL, 2007).

Em relação a sobrevivência das bactérias probióticas no produto queijo, estudos mostraram maior prevalência destas bactérias em queijos frescos do que em queijos maturados. Essa maior viabilidade estaria relacionada ao menor tempo de armazenamento dos queijos frescos, ao menor teor de sal, ao maior teor de umidade e à atividade de água, que não limitaram a multiplicação do probiótico (BURITI, 2005).

Dentre os benefícios à saúde produzidos por bactérias probióticas, podem-se citar: redução da intolerância à lactose; inibição de microrganismos patogênicos; prevenção de diarreia; redução dos níveis de colesterol; aumento da resposta imunológica; e prevenção de câncer de cólon (SAARELA et al., 2002; SANDERS, 2003; SCHMID et al., 2006).

Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi estabelecer a composição nutricional, o comportamento de pós-acidificação do queijo frescal adicionado de *Lactobacillus helveticus* e a contagem desses microrganismos probióticos, durante 30 dias de estocagem.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Fabricação dos queijos

O leite reconstituído foi submetido à pasteurização lenta a 65 ºC por 30 minutos. Após o tratamento térmico, procedeu-se o resfriamento a 39 ºC, temperatura em que foram adicionados (40 mL 100 $L^{-1}$) da solução aquosa de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) a 50%, (30 mL 100 $L^{-1}$) de agente coagulante (coágulo líquido) da marca HÁ-LÁ (Chr. Hansen Indústria, São Paulo,SP, Brasil) e a cultura probiótica com um envelope com a dosagem de 5 U contendo *Lactobacillus helveticus* da marca Docina (Docina.,Brasil) , que passou por processo de ativação em (500 mL) de leite a 42º C por 8 horas em demanda biológica de oxigênio (B.O.D) até pH 5,0. Após 40 a 60 minutos, foi feito o corte da massa em cubos de 1,5 a 2 cm, intercalando a mexedura e o repouso para promover a dessoragem da massa. Após essa etapa, foi feita a drenagem de cerca de 80% soro para então ser realizada a salga da massa (700 g 100 $L^{-1}$ de sal branco refinado) nos tratamentos com sal e para as amostras sem sal,

passou-se para a etapa de dessoragem. Os queijos com e sem adição de sal, foram dispostos em dessoradores plásticos com capacidade de (250 g), por 1 hora com tempo de viragem de 30 minutos, para então, serem embalados em sacos plásticos de polietileno, conservados a 4 ºC em B.O.D e armazenados durante o período de análise de estudo da viabilidade da cultura probiótica.

### 2.2. Análise de pós acidificação dos queijos frescais probióticos

Foram realizadas em triplicata nos queijos frescais, nos dias 1, 6, 12, 18 e 24 de armazenamento refrigerado as seguintes análises: pH, acidez titulável (AT), (IAL, 2008) e atividade de água (Aw) por leitura direta em analisador de atividade de água (LABSWIFT, Novasina).

### 2.3. Contagem dos microrganismos probióticos

Para contagem dos *L. helveticus* foram retirados (25 g) do queijo, tanto da superfície quanto da parte interna da massa. As amostras foram adicionadas de (225 mL) de água peptonada estéril a 0,1%, homogeneizadas e diluídas sequencialmente até $10^{-7}$. A proposta inicial era que as contagens fossem realizadas até dia 30 dia de armazenamento refrigerado, porém as amostras apresentaram contaminações fúngicas a partir do dia 24 de armazenamento, sendo, portanto, consideradas as contagens até o dia 18 de armazenamento. Foi utilizado como meio de cultura o ágar MRS (Man, and Sharpe – Maltose) (ACUMEDIA - Brasil), sendo o plaqueamento realizado em profundidade (*pour plate*) e a incubação em jarra de anaerobiose a 37ºC por 72 horas em B.O.D. Os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama (log UFC $g^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999). A contagem dos *Lactobacillus helveticus* foram realizadas em duplicata nos queijos frescais, nos dias 1, 6, 12, 18 e 24 de armazenamento refrigerado, para verificar a viabilidade das culturas no produto ao longo do período de avaliação e estocagem.

### 2.4. Análises de composição nutricional

As análises de composição nutricional foram realizadas em triplicata e no dia 0, estão descritas a seguir: Umidade - determinada pelo método de secagem em estufa com circulação de ar a 105 ºC (AOAC, 2012); Proteínas determinadas pelo método Kjeldahl (AOAC, 2012). O fator geral de conversão de 6,38 foi

aplicado para calcular as proteínas nos produtos derivados de leite; Lipídios totais - determinados pelo método de Bligh; Dyer (BLIGH, E. G.; DYER, 1959); Cinzas - determinadas por incineração em mufla a 550°C (AOAC, 2012); Carboidratos- calculado pela diferença: 100 menos todos os constituintes; Extrato seco total - determinado pelo método de secagem em estufa à 105ºC (AOAC, 2012); Cálculo de valor calórico (Kcal): foi obtido aplicando-se os fatores de Atwater 4 - 9 – 4 kcal/g para os valores de proteínas, lipídios e carboidratos totais, respectivamente, segundo ANDERSON et al. (1988) e a Brasil (2003).

## 2.5. Análise estatística

Os dados de composição nutricional foram submetidos à análise de variância, sendo as médias avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para análise da pós acidificação e contagem de *Lactobacillus helveticus* dos queijos foi estabelecido delineamento inteiramente casualizado em fatorial duplo 2 x 5 (presença e ausência de sal x 5 períodos de avaliação). Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias avaliadas por regressão a 5%. Todos os dados foram avaliados utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 3. Resultados e Discussão

De acordo com a análise de variância (Tabela 1) verificou-se diferença significativa de 5% de probabilidade para as variáveis analisadas considerando as fontes de variação (FV): ausência e presença de sal (tratamento), dias de armazenamento refrigerado e interação tratamento x dias.

**Tabela 1**. Resumo da análise de variância das características físico-químicas, pH, acidez titulável (AT), atividade de água (Aw), e das contagens de *L. helveticus* em queijo frescal probióticos (Log UFC $g^{-1}$).

| | | Quadrados médios | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **FV** | **GL** | **pH** | **AT** | **Aw** | **Log UFC $g^{-1}$** |
| Ausência e Presença de Sal | 1 | $0,06^{ns}$ | $0,0002^{ns}$ | $0,0005^{ns}$ | $0,071^{*}$ |
| Dias | 4 | $0,12^{ns}$ | $0,001^{*}$ | $0,0005^{ns}$ | $0,142^{*}$ |
| Tratamento x Dias | 4 | $0,05^{*}$ | $0,0007^{ns}$ | $0,00006^{ns}$ | $0,0007^{ns}$ |
| Resíduo | 20 | 0,01 | 0,0003 | 0,0002 | 0,001 |
| CV (%) | - | 2,05 | 22,02 | 2,09 | 0,40 |

**Efeito significativo a 5% de probabilidade (p≤0,05).* $^{ns}$ *- não significativo.*

Considerando o fator isolado períodos de avaliação, observou-se redução significativa nos valores de pH até o dia 12 de avaliação (Figura 1), concordando com os trabalhos de Buriti et al. (2005) e Ribeiro et al. (2009), que também observaram redução significativa no pH dos queijos produzidos com *L. acidophilus*. Este comportamento revela que as bactérias promoveram acidificação mais evidentes nos primeiros 12 dias de armazenamento reduzindo os valores de 5,77 no dia 1 para 5,43 no dia 12 de armazenamento. Tal fato se explica devido a maior produção de ácido lático, que é o principal produto do metabolismo das bactérias láticas, sendo cerca de 70% a 90% dos compostos gerados e é sintetizado durante todo o processo e maturação dos queijos a partir da fermentação da lactose (SALMINEN; VON WRIGHT, (1993).

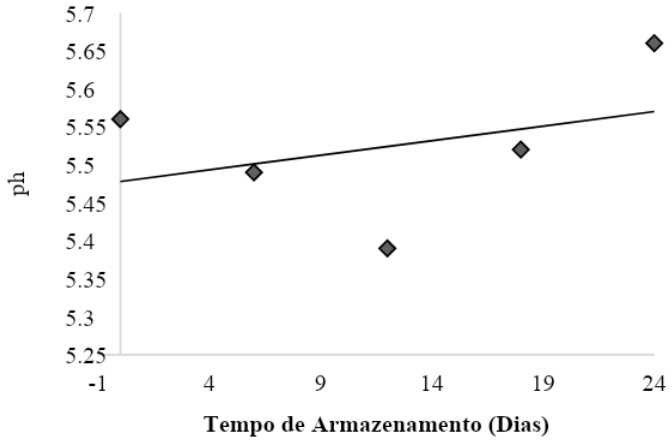



**Figura 1**. Valores de pH de queijo frescal probiótico em 24 dias de armazenamento.

Considerando a acidez titulável entre os dias de avaliação, os resultados não apresentaram diferença estatística para queijos com sal, entretanto para os queijos sem sal observou-se aumento significativo até o dia 12 de avaliação, concordando com resultados obtidos por Alves et al. (2011) que observaram acréscimos de acidez até o dia 12 de prateleira em queijos probióticos com *L. acidophilus*. Os valores obtidos neste experimento não se ajustaram em nenhum dos modelos de regressão propostos então desta maneira estão sendo apresentados na tabela a seguir (Tabela 2).

**Tabela 2**. Análise de acidez titulável do queijo frescal probiótico.

| Dias de Avaliação | Acidez titulável g de ácido lático 100g$^{-1}$ | |
|---|---|---|
| | Com Sal | Sem Sal |
| 1 | 0,09aA | 0,05bC |
| 6 | 0,06aA | 0,06aBC |
| 12 | 0,09aA | 0,11aA |
| 18 | 0,08aA | 0,08aABC |
| 24 | 0,09aA | 0,10aAB |

*Letras minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa a 5%.*
*Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5%.*

Souza (2006) estudando a acidez desenvolvida em queijos frescais observaram aumento nos valores de acidez de 0,17% a 0,80% em queijos com *L. acidophilus* e 0,19% e 0,38% em queijos com associação de *L. acidophilus* e *S. Thermophilus*, nos dias 1 e 21 de armazenamento, diferindo dos valores observados neste trabalho, mostrando que os *L. helveticus* promoveram acidificação mais discretas que os *L. acidophilus* e os *L. acidophilus* com *S. thermophilus* em associação.

Os resultados para atividade de água (Aw) não foram significativos para os fatores isolados ausência e presença de sal e períodos de avaliação e nem para a interação dos fatores (Tabela 3). Os dados encontrados neste trabalho (Aw 0,790) foram inferiores aos de Souza (2017) que avaliou a qualidade microbiológica de queijo Minas frescal, tendo como média de Aw, 0,963. Segundo Taveira (2013) a atividade de água é influenciada pelo teor de sal dos queijos e pela capacidade dos solutos em interagir com as moléculas de água presentes nos queijos (McSWEENEY, 2007).

Nesse sentido, como o teor de sal adicionado nos queijos foi igual ou não houve adição de sal, não se observou variação nos valores. Além disso, a não variação dos valores de atividade de água durante os dias mostraram estabilidade referente a dessoragem dos queijos durante o período avaliado.

A Aw é um fator intrínseco fundamental para os microrganismos, logo, eles dependem da água livre presente nos alimentos para se desenvolverem, desta forma existindo uma atividade de água elevada as chances de contaminações desse alimento também serão. A faixa de atividade de água (0,7) encontrada neste experimento o classifica como um queijo de umidade média.

Na faixa de atividade 0,7 o crescimento de microrganismos patogênicos e inibido aumentando a estabilidade deste alimento por um período mais prologando. Mesmo assim, alguns microrganismos como *Coliformes*, *Estafilococos*, *Salmonela sp* e *Listeria monocytogenes* podem crescer lentamente (MAPA, 1996).

**Tabela 3**. Atividade de água em queijo frescal probiótico com e sem adição de sal.

| **Dias de Avaliação** | **Aw** | |
|---|---|---|
| | Com Sal | Sem Sal |
| 1 | 0,787 | 0,795 |
| 6 | 0,793 | 0,797 |
| 12 | 0,796 | 0,798 |
| 18 | 0,792 | 0,800 |
| 24 | 0,765 | 0,784 |

Em relação às contagens de *L. helveticus*, os fatores isolados períodos de avaliação e presença e ausência de sal foram significativos a 5% de significância. Considerando o fator isolado períodos de avaliação, verificou-se aumento nas contagens de microrganismos probióticos nos queijos frescais até o dia 12 de avaliação, concordando com os resultados de pós-acidificação obtidos a partir da análise do pH e da AT (Figura 2).

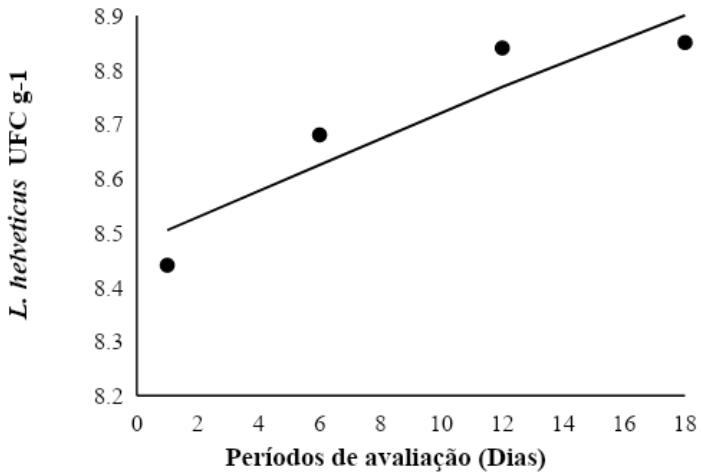



**Figura 2**. Contagem de *Lactobacillus helveticus* em queijos probióticos em 18 dias de avaliação.

Mesmo com acidificação discretas, os *L. helveticus* aumentaram o número de colônias de 8,44 UFC $g^{-1}$ no dia 1, para 8,85 UFC $g^{-1}$ no dia 18 de prateleira, revelando boa adaptação desses microrganismos aos queijos frescais durante o período de estudo. Alves et al. (2011), estudando as contagens de *L. acidophilus* em queijo de minas frescal por 21 dias, não observaram aumento e nem redução significativa no número de colônias destes microrganismos, mostrando que os *L. helveticus* são capazes de se multiplicar e se manter em contagem viável entre $10^8$ e $10^9$ UFC por porção diária do produto (BRASIL, 2008).

Em relação ao fator isolado presença ou ausência de sal, observou-se que os queijos adicionados de sal tiveram número de colônias superior aos dos queijos sem adição de sal (Tabela 4).

**Tabela 4**. Contagens de *Lactobacillus helveticus* em queijos frescais na presença e ausência de sal em 18 dias de avaliação.

| Tratamentos | Log UFC $g^{-1}$ |
|---|---|
| Queijos probióticos sem sal | 8,64B |
| Queijos probióticos com sal | 8,77ª |

** Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5%.*

Na Tabela 5, estão apresentados os resultados obtidos para composição nutricional para umidade, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), cinzas, lipídeos, proteínas, carboidratos totais e valor calórico.

Analisando os resultados para umidade (44,26%), EST (55,74%), de acordo com a Portaria do MAPA nº 146/1996, o queijo frescal probiótico elaborado no trabalho classifica-se como queijo de média umidade e magro quanto ao teor de matéria gorda.

Os valores de proteínas, gordura e cinzas, determinados nesse estudo foram superiores aos encontrados por Ribeiro et al. (2009), (proteínas entre 13,47% e 13,91%, cinzas 2,3% e 2,5% e gordura de 13,0% a 13,5%), que elaboraram queijo Minas Frescal adicionado de *Lactobacillus acidophillus* a partir de retentados de ultrafiltração. Verificou-se que o queijo Minas frescal analisado, poderia ser considerado como uma fonte de proteínas. Uma porção de 50 gramas (3 fatias) do queijo Minas frescal, por exemplo, proporciona a ingestão

de, aproximadamente, 11% do consumo proteico diário recomendado pela ANVISA (75g de proteína/dia) (SILVA; FERREIRA, 2010).

**Tabela 5**. Composição físico-química do queijo frescal probiótico com sal**.**

| Variáveis | Valor | PORTARIA Nº 146, DE 7 DE MARÇO DE 1996 |
|---|---|---|
| Umidade (%) | 44,26 | Queijos de média umidade 36,0% e 45,9%. |
| EST (%) | 55,74 | - |
| ESD (%) | 43,34 | - |
| Cinzas (%) | 4,52 | - |
| Lipídeos (%) | 12,40 | Magros 10,0 e 24,9%. |
| Proteínas (%) | 26,85 | - |
| Carboidratos (%) | 11,98 | - |
| Valor Calórico (Kcal) | 343,10 | - |

De acordo com a Tabela 5, os teores de carboidratos nas amostras de queijos Minas frescal (11,98%), foram inferiores aos teores encontrados na TACO (2011), é superior aos valores encontrados por SILVA (2010). Este resultado pode ser indicativo de adulteração ou do tipo de matéria prima empregada na fabricação deste produto.

## 4. Conclusão

A pós acidificação e as contagens de *L. helveticus* mostraram crescimento exponencial das colônias até o dia 12 de avaliação, sendo este, o melhor período de consumo dos queijos frescais probióticos.

Os queijos frescais obtidos mantiveram-se probióticos, ou seja, com contagem entre $10^8$ a $10^9$ UFC $g^{-1}$, durante 18 dias de refrigeração.

Em relação às características nutricionais, os queijos classificaram-se como de média umidade e magro em relação à matéria gorda, podendo ser considerado um alimento com uma boa fonte proteica.

Os *L. helveticus* tem excelente potencial de inclusão em queijos frescais,

podendo ser aplicado a fim de restabelecer transtornos gastrointestinais como diarreia, responsáveis pela má absorção de nutrientes, estresse, obesidade, fadiga, constipação e síndrome do intestino irritável, diabetes mellitus e intolerância à lactose. Outro benefício que os probióticos também podem proporcionar é a inibição da proliferação excessiva de bactérias intestinais patogênicas.

Deste modo podemos afirmar que queijos suplementados com bactérias probióticas podem ser uma alternativa adequada para indústrias de laticínios visando diversificar seus produtos em um mercado consumidor cada vez mais competitivo.

## 5. Referências

ALVES, C. C. C.; GEMAL, N.D.H.; CORTEZ, M. A. S.; FRANCO, R. M.; MANO, S.B. Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo de minas frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 1559-1566, 2011. https://doi.org/10.1590/S0102-09352011000600038

ANDERSON, L., DIBBLE, M.V., TURKKI, P.R., MITCHELL, H.S., RYNBERGEN, H.J. **Nutrição**. 17.ed. Tradução por Nadia Maria Frizzo Trugo. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 737p. Tradução de: Nutrition in Health and Disease. https://doi.org/10.1590/S1415-52732000000300003

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Method 972.32 (16.5.11). In: Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC International**.19 ed. Maryland: AOAC, 2012. Rev. 2013. Cap. 16. p. 23. https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/3727

BELCHIOR, F. **O ingrediente do lácteo saudável**. Leite e Derivados, São Paulo, v. 13, n. 76, p. 54-64, 2004. https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100030

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959. doi: 10.1139/o59-099. https://doi.org/10.11402/cookeryscience.46.372

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 360 de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 dez. 2003. Seção 1, p. 33-34. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200049

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com

Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2007. https://doi.org/10.1590/0102-469834023

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em Julho de 2008. (Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas). 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm >.

BURITI, F. C. A. Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Área de Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo (USP). 86 p. São Paulo, 2005.https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100030

BURITI, F.C.A.; ROCHA, J.S.; SAAD, S.M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **Int. Dairy J.**, v. 15, p.1279-1288, 2005. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.12.011.

DE LEBLANC, A, CHAVES, S, CARMUEGA, E, WEILL, R, ANTOINE, J.; PERDIGON, G Effect of long-term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages. **Imunobiologia** v. 213, p. 97 –108, 2008. DOI: 10.1016/j.imbio.2007.07.002.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039- 1042, 2011. https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001

FITZGERALD, R.J., and MEISEL, H. Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. **Advanced Dairy Chemistry**, vol.1, p. 675–698, 2003. DOI: 10.1007/978-1-4419-8602-3_20. DOI: 10.1007/978-1-4419-8602-3_20

GATTI, M., TRIVISANO, C., FABRIZI, E., NEVIANI, E., AND GARDINI, F. Biodiversity among *Lactobacillus helveticus* strains isolated from diferente natural whey starter cultures as revealed by classification trees. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 70, p. 182–190, 2004. Doi: 10.1128/AEM.70.1.182-190.2004.

Instituto Adolfo Lutz (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020

ISOLAURI, E., SUTAS, Y., KANKAANPÄÄ, P., ARVILOMMI, H., SALMINEN, S.; Probiotics: effects on immunity**. The American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, USA, v. 73, n. 3, p. 444-450, 2001. DOI: 10.1093/ajcn/73.2.444s.

KENNY, O., FITZGERALD, R. J., O'CUINN, G., BERESFORD, T., and JORDAN,

K. Growth phase and growth médium effects onthe peptidase activities of *Lactobacillus helveticus.* **Int. Dairy J**. 13, p. 509–516, 2003. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00073-6

LEBLANC, J. G., MATAR, C., VALDEZ, J. C., LEBLANC, J., and PERDIGON, G. **Immunomodulating effects of peptidic fractions issued from milk fermented with *Lactobacillus helveticus***. **J. DairySci**. v.85, p. 2733–2742, 2002. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74360-9

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria n° 146 de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]. Brasília, DF, em 07 mar. 1996. https://doi.org/10.18241/0073-98552014731592

MATAR, C., LEBLANC, JG, MARTIN, L., E PERDIGON, G. "Peptídeos biologicamente ativos liberados do leite fermentado: papel e funções", no Handbook of Fermented Functional Foods. 1ª Edn., ed ER Farnworth (Boca Raton, FL: CRC Press), p. 177–201, 2003. http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2651

MATAR, C., VALDEZ, J. C., MEDINAS, M., RACHID, M., and PERDIGON, G. **Immunomodulating effects of milks fermented by *Lactobacillus helveticus* and itsnon-proteolytic variant**. **J. DairyRes.** v. 68, p. 601–609, 2001. DOI: https://doi.org/10.1017/S0022029901005143

McSWEENEY, P. L. H. **Cheese problems solved**. Woodhead Publishing Limited, England, 425p., 2007.

MEISEL, H., and BOCKELMANN, W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho- functional properties. *Antoine Van Leeuwenhoek,* v. 76, p. 207–215, 1999. DOI: 10.1023/A:1002063805780.

O'SULLIVAN, D. J. Primary Sources of Probiotic Cultures. In: **Probiotics in food safety and human health**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

RATTANACHAIKUNSOPON, P., PHUMKHACHORN, P. (2010). Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Ann. Biol. Res.* 1, 218–228. DOI: 10.1007/978-1-4615-3522-5_9

RIBEIRO, E.P.; SIMÕES, L.G.; JURKIEWICKZ, C.H. Desenvolvimento de queijo minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 29, n. 1, p. 19-23, 2009. https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000100004

SAARELA, M. LÄHTEENMÄKI,R., CRITTENDEN,S., SALMINEN,T. and MATTILA-SANDHOLM. Gut bacteria and health foods – the European perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78, n. 1-2, p. 99-117, 2002. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00235-0

SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A., eds. Lactic acid bacteria New York: Marcel Dekker, 1993. 442p. https://doi.org/10.1007/s002530051365

SANDERS, M. E. Probiotics: Considerations for Human Health. **Nutrition Reviews**, v. 61, n. 3, p. 91-99, 2003. https://doi.org/10.1301/nr.2003.marr.91-99

SCHMID, K. SCHLOTHAUER, R. C., FRIEDRICH, U., STAUDT, C., APAJALAHTI, J and HANSEN, E.; Development of probiotic food ingredients. In: **Probiotics in food safety and human health**. Boca Raton: Taylor &Francis, 2006.

SILVA, L. F. M.; FERREIRA, K. S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo minas frescal, queijo minas frescal "light" e ricota. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 437-442, 2010. http://serv-bib.fcfar.unesp.br/.../1372.

SOUZA, C. H. B. **Influência de uma cultura starter termofílica sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e as características de queijo minas frescal probiótico**. 2006. 111f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. Área de Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. DOI: 10.11606/D.9.2006.tde-07122006-153517

SOUZA, I. A; G, A. C.; S, LG; G, S.O; M, M.L; R, AL. Qualidade Microbiológica de queijo minas frescal comercializado na zona da mata mineira, **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n.3, 2017. https://doi.org/10.14295/2238-6416.v72i3.598

STANTON, C., GARDINER, G., MEEHAN, H., COLLINS, K., FITZGERALD, G., LYNCH, P., ROSS, R.; Market potential for probiotics. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 3, p. 476-483, 2001. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70019-3

TAVEIRA, L. B. **Aspectos físico-químicos e sensoriais do queijo reino maturado sob diferentes condições, visando à exportação**. 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.01.008

VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.A. Culture media for the enumeration of Bifidobacterium bifidum and Lactobacillus acidophilus in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 497-505, 1999. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00120-X

VINDEROLA, G., MATAR, C., E PERDIGON, G. (2007a). Leite fermentado por *Lactobacillus helveticus* R389 e sua fração não bacteriana conferem maior proteção contra infecção por *Salmonella enteritidis* sorovar *Typhimurium* em camundongos. **Imunobiologia.** v. 212, p. 107-118. http://hdl.handle.net/1843/BUOS-8MRJ2E.

VINDEROLA, G., MATAR, C., PALACIOS, J., AND PERDIGON, G. (2007b). Mucosal Immuno modulation by thenon- bacterial fraction of milk fermented by *L. helveticus* R389**. Int. J. Food Microbiol.** v. 115, p. 180–186. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.020

WAKAI, T., and YAMAMOTO, N. (2012). “Antihypertensive peptides specific to *Lactobacillus helveticus* fermented milk,”in *Biotechnology – Molecular Studies and Novel Aplicativos for Improved Quality of Human Life, Biochemistry, Genetics and Molecular Biology,* ed R. H. Sammour (InTech), ISBN 978-953-51-0151-2. https://books.google.com.br/books?id=LeKdDwAAQBAJ&lpg=PA159&ots=Puf3FOLxLx&lr&hl=pt-BR&pg=PA159#v=onepage&q&f=false

ZALAZAR, C. A., BERGAMINI,E.R., HYNES,A., QUIBERONI,V.B., and SUÁREZ. Probiotic bactéria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**. v. 38, n. 8, p. 597-604, 2004. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.

## Autores

Bárbara Raquel dos Santos Cruz[1], Daniela Cavalcante dos Santos Campos[1,*], Lailson Oliveira de Sousa[1], Alice Victoria Silva Cardoso[1], Ralane Gomes da Silva[1], Stherfany Mac Donald da Silva[2]

1. Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima. Endereço: BR 174, km 37, CEP: 69300-000, Boa Vista-RR, Brasil.
2. Universidade Federal de Roraima. Avenida Ene Garcês, 2413, CEP: 69310-000, Boa Vista-RR, Brasil.

* Autor para correspondência: daniela.campos@ufrr.br

# CAPÍTULO 2

## Potencial probiótico de leites fermentados adicionados de camu-camu

Antonia Raniely Vieira da Silva, Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Lailson Oliveira de Sousa.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c2

**Resumo**

Os produtos lácteos fermentados estão entre os principais produtos alvo de estudos que buscam elaborar alimentos probióticos que agreguem benefícios para saúde. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi elaborar leites fermentados com camu-camu e suplementados com *Bifidobacterium* (BB-12) e *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) e avaliar a viabilidade destes microrganismos durante 28 dias de armazenamento refrigerado. Os frutos de camu-camu foram coletados em plantas localizadas no Rio Urubu, Bonfim-RR. Os frutos foram encaminhados ao LTPA/EAGRO, sendo adicionado100 mL de água mineral e triturados em liquidificador para obtenção da polpa, que em seguida foi armazenada em embalagens plásticas com capacidade de 100 mL e congelada em freezer a -18 ºC. Para obtenção dos leites fermentados com camu-camu utilizou-se duas formulações: Leite fermentado Reduzido em Calorias (LFRC) e Leite Fermentado Integral (LFI), sendo elaborados com leite UHT desnatado e integral respectivamente, 10% de açúcar, 0,3% de sorbato de potássio e 0,08% de culturas probióticas presentes no fermento Bio Rich® da empresa Chr Hansen. Em seguida, foi adicionada polpa de camu-camu nas concentrações de 5%, 10%, 15% (p/p) sendo reservada amostra sem adição de polpa para constituir o tratamento controle. As duas formulações propostas LFRC e LFI atenderam a legislação quanto às contagens de bactérias probióticas LA-5, sendo classificados como produtos probióticos, apresentando contagem acima de 6 Log UFC $g^{-1}$, durante 14 dias de avaliação. O leite UHT desnatado, mostrou maior potencial probiótico, concluindo que houve influência positiva da redução no percentual de gordura do leite para o crescimento dos *Lactobacillus acidophilus*.

**Palavras-chave**: Alimentos funcionais, (*Myrciaria dúbia* (Kunth) McVaugh), produtos lácteos fermentados.



Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0

## 1. Introdução

O consumo de alimentos funcionais tem crescido e entre os mais consumidos estão os alimentos fermentados, que são definidos como alimentos ou bebidas produzidas através de crescimento controlado de microrganismos e conversão enzimática de determinados componentes (MARCO et al., 2017). Os produtos lácteos apresentam uma diversidade de possibilidades de consumo e uma variedade de formulações, com propriedades nutricionais e funcionais aprimoradas com o intuito de proporcionar benefícios à saúde (CAMPOS, 2017; CAVALLINI et al., 2018).

As bebidas lácteas, estão entre os principais selecionados para a produção de alimentos probióticos e estes têm sido inseridos na alimentação como um importante integrante da dieta funcional, (CAPITANI et al., 2014; SANTOS; CANÇADO, 2009). Novas formulações de leite fermentado saborizado com frutas têm sido desenvolvidas com agregação de probióticos, a fim de aumentar a sua aceitação e agregar valor nutricional ao produto (CAMPOS, 2017; TORREZAN, et al., 2021).

Os probióticos são suplementos alimentares de bactérias, que desempenham efeitos benéficos na microbiota intestinal, e são definidos como microrganismos vivos, adicionados a produtos alimentares, cuja ingestão afeta de forma positiva o organismo do consumidor (PINTO et al., 2015; SANTOS; CANÇADO, 2009).

A Amazônia apresenta uma diversidade de frutas nativas e exóticas, com potencial valor econômico, tecnológico e nutricional como açaí, murici, buriti e camu-camu, tendo em vista o conhecimento científico de suas propriedades nutricionais. No entanto, poucos trabalhos foram realizados visando elaborar leite fermentado probiótico adicionados destes frutos, principalmente com adição de camu-camu (CAMPOS, 2017).

O camu-camu está presente nas florestas amazônicas brasileiras, peruanas, colombianas e venezuelanas, ocorrendo naturalmente em áreas alagadas nas margens de rios e lagos (GRIGIO, 2017). Apresenta em sua composição, alto teor de vitamina C, diversos compostos fenólicos e antioxidantes como antocianinas e carotenoides (AZEVÊDO et al., 2014; FUJITA, 2015). Entretanto, apresenta rápida perda de qualidade pós-colheita, inviabilizando a disponibilidade do fruto *in natura* no mercado (GRIGIO, 2017).

Nesse sentido, o estudo do potencial probiótico de leites fermentados adicionados de camu-camu é um passo importante para agregar valor a esse fruto nativo da Amazônia, que é rico em vitamina C, e colocar à disposição do mercado alimentício um probiótico de qualidade.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Obtenção dos frutos e da polpa de camu-camu

Os frutos de camu-camu foram coletados em plantas localizadas no Rio Urubu, situado na região da Serra da Lua, Bonfim-RR, parte leste do estado de Roraima. As plantas de camu-camu se encontravam próximas à ponte que corta o rio na Rodovia RR-207, distribuídas nas margens direita e esquerda, bem como em ilhas formadas pela deposição de sedimentos e afloramentos rochosos que são mais visíveis durante a seca do rio (CARVALHO, 2012). A temperatura média da região é de 27,5ºC sendo o clima considerado tropical quente e semiúmido, com chuvas de abril a setembro.

Os frutos foram coletados em fevereiro de 2022, durante a safra da cultura. Após a colheita, os frutos foram acondicionados em sacos plásticos de 2kg e armazenados em isopor com gelo em escama, para serem transportados até o Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima (LTPA/EAgro-UFRR).

Para o despolpamento, os frutos íntegros e com mais de 85% da casca vermelha foram selecionados, lavados em água corrente para retirada de sujidades e higienizados em água clorada a 200 partes por milhão (ppm) durante 15 minutos. Em seguida foram submetidos à trituração em liquidificador, adicionado de 100 mL de água mineral para obtenção da polpa. A polpa foi armazenada em embalagens plásticas com capacidade de 100 mL e congelada em freezer a -18 ºC até o momento da saborização dos leites fermentados.

### 2.2. Preparo dos Leites Fermentados com camu-camu

Os leites fermentados foram elaborados com leite UHT (Ultra-high Temperature) desnatado e integral, padronizados de acordo com as formulações a seguir: **Formulação 1 - Leite Fermentado Reduzido em Calorias (LFRC)**: leite UHT desnatado + 10% de açúcar + 0,3% de sorbato de potássio e culturas bacterianas probióticas; **Formulação 2 - Leite Fermentado Integral (LFI):** leite

UHT integral +10% de açúcar + 0,3% de sorbato de potássio e culturas bacterianas probióticas.

O preparo do leite fermentado (LF) envolveu as seguintes etapas: tratamento térmico do leite adicionado de açúcar a 72 ºC por 15 minutos, seguido do resfriamento a 43±2 ºC para a incubação de 0,08% de cultura probiótica contendo *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium* (BB-12) e *Streptococcus thermophillus* presentes no fermento Bio Rich® da empresa Chr Hansen para fermentação em B.O.D. por 4 horas ou até pH 5,0. Em seguida o LF foi resfriado e mantido a 12±2 ºC por 6 horas em B.O.D e após este período a temperatura foi ajustada para 4±2 ºC, onde permaneceram até completar 24 horas, tempo suficiente para desenvolvimento dos sabores e aromas resultantes do metabolismo dos microrganismos láticos. Posteriormente foram acrescentadas polpas de camu-camu nas concentrações de 5%, 10% e 15% (p/p) e separadas amostras controle, sem adição de polpa de camu-camu, expostas às mesmas condições experimentais para a avaliação dos produtos.

## 2.3. Contagem de microrganismos probióticos

As contagens das culturas probióticas foram realizadas em duplicata nas duas formulações de leites fermentados nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de estocagem, para verificar a viabilidade das culturas no produto ao longo do período de avaliação.

Para contagem das colônias de *Bifidobacterium* (BB-12), o ágar MRS (Man Rogosa Sharpe) foi modificado para ágar MRS-LP, contendo 0,2% de cloreto de lítio, 0,3% de propionato de sódio. As placas foram incubadas utilizando jarras de anaerobiose pelo método da combustão com auxílio de uma vela, sendo a jarra hermeticamente fechada e mantida a 37 ± 1 ºC por 72 horas (Figura 1). Os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama (log UFC $g^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999; VINDEROLA et al., 2000).

Para contagem dos *L. acidophilus* foi utilizado o ágar MRS-M (Man, Rogosa, Sharpe) esterilizado (autoclave a 121 °C durante 15 minutos). Após a inoculação das bactérias, as placas foram dispostas em aerobiose a 37 ± 1 ºC por 72 horas (Figura 1) e os resultados foram expressos em log unidade

formadora de colônia por grama (log UFC $g^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999).

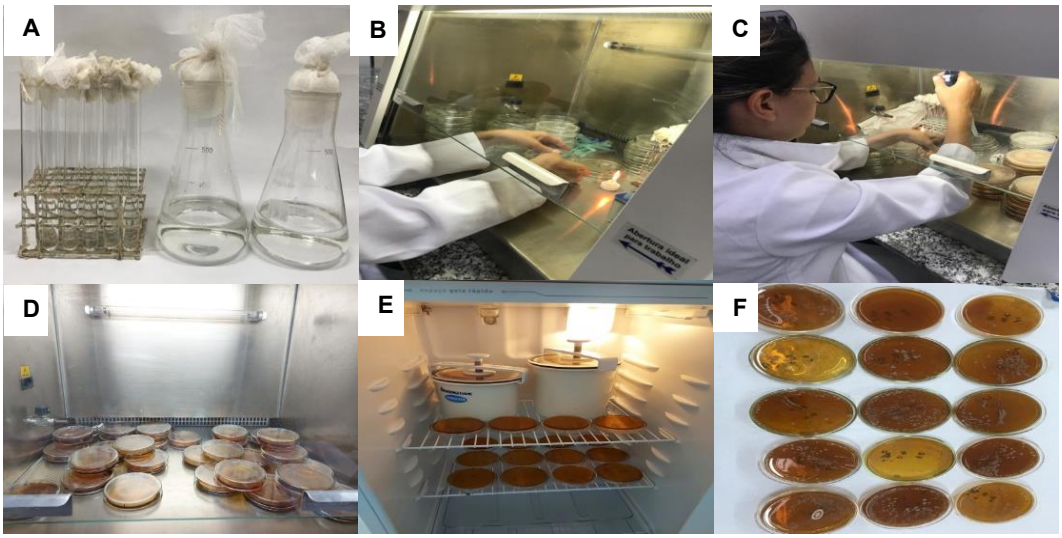



**Figura 1**. Etapas de incubação de bactérias probióticas. (A) Peptona para as diluições, (B; C) Placas sendo inoculadas, (D) Placas inoculadas e adicionadas de meio MRS-LP e MRS-M, (E) Placas de BB-12 em jarras de anaerobiose e placas de LA-5 em aerobiose na B.O.D.
Fonte: Autores (2022).

Para os dados das contagens de *Bifidobacterium* BB-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 foram estabelecidos delineamentos inteiramente casualizados (DIC) em fatorial triplo 2 x 4 x 5 (2 tipos de leite x 4 teores de polpa x 5 períodos de avaliação) e 2 x 4 x 3 (2 tipos de microrganismos x 4 teores de polpa x 3 períodos de avaliação). Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias avaliadas por Teste Tukey e regressão a 5%. Todos os dados foram avaliados utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 3. Resultados e Discussão

Os fatores isolados tipo de leite, teor de polpa e períodos de avaliação, assim como as interações entre os fatores foram todos significativos a 5% de confiança, quando se considerou a contagem de LA-5 nos LFRC e LFI.

A contagem de BB-12, assim como sua observação junto aos LA-5, ficou restrita ao LFI uma vez que este microrganismo não cresceu nas condições

estabelecidas no LFRC. Os fatores isolados tipo de microrganismo, teor de polpa e períodos de avaliação, assim como as interações duplas entre os fatores, foram significativos a 5%.

Observando o comportamento dos LA-5 nos leites fermentados reduzido em gordura e integral (Tabela 1), verificou-se redução significativa nas contagens em ambas as formulações no dia 7 de avaliação, confirmando a fase de adaptação dos LA-5 entre os dias 1 e 7. Além disso, quando se avaliou a influência do tipo de leite no crescimento desses microrganismos, observou-se maior contagem no leite fermentado integral, mostrando efeito negativo da redução no percentual de gordura do leite no crescimento deste microrganismo.

**Tabela 1**. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) considerando a interação "tipo de leite x período de avaliação".

| Períodos de avaliação (Dias) | LFRC | LFI |
|---|---|---|
| 0 | 7,66Ab | 8,44Aa |
| 7 | 6,18Bb | 7,56Ca |
| 14 | 7,59Ab | 8,13Ba |

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*
*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*

Verificou-se redução significativa nas contagens de LA-5 nos LFRC com camu-camu, conforme o teor de polpa foi aumentado (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.). Comportamento semelhante foi observado por Campos (2017), que ao estudar o crescimento de LA-5 em leites fermentados com camu-camu e açaí, constatou decréscimo nas contagens de LA-5 associados ao aumento nos percentuais de polpa, nos dias 7 e 14 de avaliação. De acordo com Thamer; Pena (2006), o efeito deletério da polpa de camu-camu está relacionada à sensibilidade dos microrganismos probióticos ao abaixamento do valor de pH, sendo, portanto, menos viáveis em produtos acidificados abaixo de pH 5,0. Apesar de não estarem previstos neste trabalho, os valores de pH dos LF obtidos

neste estudo variaram de 4,5 – LFRC com 5% de polpa a 3,8 – LFRC com 15% de polpa, justificando o comportamento deste produto.

**Tabela 2**. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, segundo teor de polpa (%) e o tipo de leite fermentado avaliado.

| Teor de polpa (%) | LFRC | LFI |
|---|---|---|
| 0 | 7,72Ab | 8,21Aa |
| 5 | 7,08Bb | 7,61Ca |
| 10 | 6,85BCb | 8,23Aa |
| 15 | 6,76Cb | 8,13Ba |

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*
*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*

Ao contrário do que se analisou para os LF reduzidos em gorduras, os LF integrais não obtiveram reduções em suas contagens nos maiores percentuais de polpa (10% e 15%) e mantiveram valores de Log UFG $g^{-1}$ próximos aos observados para os LF sem adição de polpa. A redução mais significativa foi observada no LF com 5% de polpa de camu-camu. Esse comportamento pode estar relacionado ao percentual de extrato seco total (EST) dos produtos estudados, já que o leite integral utilizado na formulação apresenta mais sólidos quando comprado com o leite desnatado utilizados nos LFRC. Segundo ÖZER (2010), o EST contribui para as propriedades físicas do produto como: consistência do iogurte firme, viscosidade do iogurte batido e atributos sensoriais de sabor e aroma.

De acordo com a Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 do MAPA, as contagens de bactérias láticas totais devem ser de no mínimo de 6,0 Log UFC $g^{-1}$ de leite fermentado. Nesse sentido, considerando os limites previstos na legislação, verificou-se no dia 7 de avaliação que LFRC com 10% e 15% de polpa de camu-camu apresentaram contagens de LA-5 inferiores ao estabelecido para contagens de bactérias láticas totais em leite fermentado (mínimo 6,0 Log UFC $g^{-1}$), mostrando o efeito negativo da polpa de camu-camu,

provavelmente relacionado ao elevado teor de ácido ascórbico presente naturalmente neste fruto (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

**Tabela 3**. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 nas diferentes formulações propostas, considerando a interação "tipo de leite x teor de polpa x períodos de avaliação".

| Teor de polpa (%) | LFRC | | | LFI | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dias de avaliação | | | Dias de avaliação | | |
| | 0 | 7 | 14 | 0 | 7 | 14 |
| 0 | 7,81abA | 7,46bA | 7,88aA | 8,25abA | 8,00bA | 8,38aA |
| 5 | 7,69aA | 6,15bB | 7,39aB | 8,4aA | 6,15bB | 8,30aA |
| 10 | 7,51aA | 5,81bB | 7,25aB | 8,57aA | 8,00bA | 8,12bAB |
| 15 | 7,64aA | 5,30bC | 7,33aB | 8,54aA | 8,14bB | 7,71cB |

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*
*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*

A respeito das colônias de *Bifidobacterium* (BB-12), a adição de polpa reduziu significativamente suas contagens nos percentuais propostos neste estudo (Tabela 4), evidenciando que a polpa de camu-camu afeta negativamente o crescimento desses microrganismos, conforme já relatado nas contagens de LA-5 nos LFRC.

**Tabela 4**. Contagem de *Bifidobacterium* considerando fator isolado "teor de polpa".

| Teor de polpa (%) | BB-12 | LA-5 |
|---|---|---|
| 0 | 6,77Ab | 8,21Aa |
| 5 | 6,42Bb | 7,61Ca |
| 10 | 6,30Bb | 8,23Aa |
| 15 | 6,20Bb | 8,13Ba |

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*
*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa (p ≤ 5) a 5% de probabilidade.*

Observando as contagens de ambos os microrganismos se verificou maior sensibilidade do BB-12 ao efeito do ácido conferido pela polpa de camu-camu. De acordo com SHAH (2007) o pH ótimo para a multiplicação das bifidobactérias está entre 6 e 7, com praticamente nenhuma multiplicação em pH < 5,1 ou pH > 8, enquanto para os *Lactobacillus* o pH ótimo está entre 5,5 - 6,0 e a sua multiplicação é reduzida em pH abaixo de 4,0 (SHAH et al., 1995; FERNÁNDEZ-GARCÍA et al., 1998; SHAH, 2007), justificando a menor contagem da BB-12 em relação a LA-5.

Assim como os LA-5, as contagens dos BB-12 reduziram no dia 07 com posterior aumento do dia 14 (fase de adaptação). A partir do dia 21 de avaliação as BB-12 entraram em fase de declínio mostrando contagens 4,81 Log UFC $g^{-1}$, valores abaixo do previsto na legislação brasileira para um produto ser considerado probiótico (Figura 2). Entretanto, os LA-5 mantiveram-se viáveis com contagens acima de 7,0 Log UFR $g^{-1}$, mantendo os LFI probióticos até os 21 dias de avaliação.

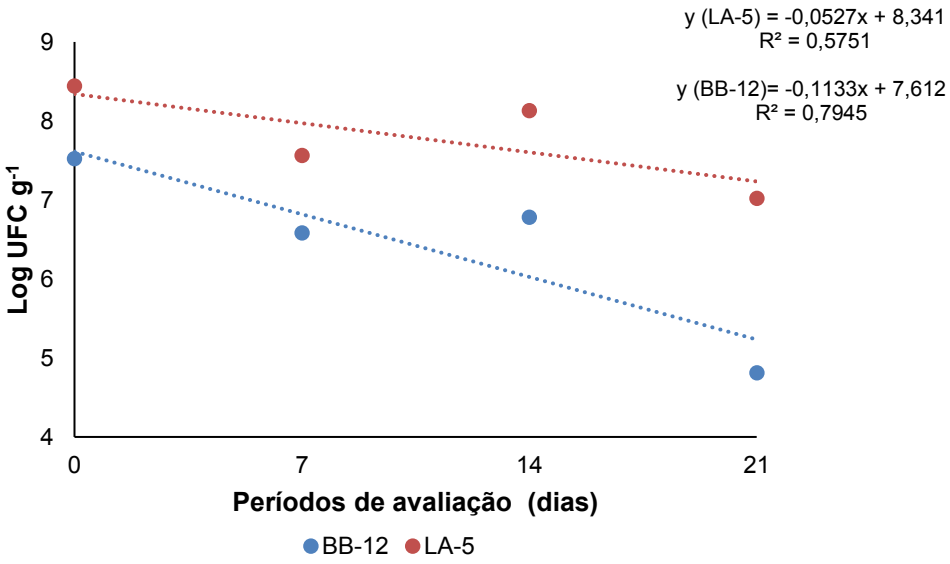



**Figura 2**. Contagem de BB-12 e LA-5 durante 21dias de avaliação.

## 4. Conclusão

A partir das análises das contagens das BB-12 e dos LA-5 em leites fermentados reduzidos em gorduras e integrais adicionados de camu-camu pode-se concluir que o aumento na concentração de polpa afetou negativamente o desenvolvimento dos microrganismos.

Não houve crescimento de BB-12 no LFRC, assim como as contagens dos LA-5 foram menores que as observadas no LFI, indicando que a redução no EST (leite desnatado) tornou o meio menos viável ao crescimento destes microrganismos.

As contagens de LA-5 nos LFRC e LFI atenderam a legislação, sendo classificados como produtos probióticos durante os 21 dias de avaliação.

A análise dos tipos de leite, mostrou um maior potencial probiótico no LFI, mostrando influência negativa da redução no percentual de gordura do leite, no crescimento dos BB-12 e LA-5.

## 5. Referências

AZEVÊDO, J. C. S. et al. Dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional atributes. **Food Research International,** [S.l.], v. 62, n. 1, p. 934-940, maio. 2014.

CAMPOS, D. C. S. **Compostos bioativos em produtos lácteos adicionados de polpa de açaí e camu-camu suplementados com bactérias probióticas.** 2017. 117 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR, 2017.

CAPITANI, C. et al. Caracterização de iogurtes elaborados com probióticos e fibra solúvel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial,** Curitiba, v. 8, n. 2, p. 1285-1300, 2014.

CARVALHO, A. dos S. **Ocorrência, distribuição geográfica e estudo fenológico de Camu-Camuzeiro (M*yrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh no Estado de Roraima.** 2012. 79 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2012.

CAVALLINI, D. C. U. et al. A soy-based probiotic drink modulates the microbiota and reduces body weight gain in diet-induced obese mice. **Journal of Dairy Science,** v.18, p. 302-313, set. 2018.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; MCGREGOR, J.U.; TRAYLOR, S. The addition of oat fiber and natural alternative sweeteners in the manufacture of plain yogurt. Journal of Dairy Science. v. 81, p. 655-663. 1998.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia,** Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FUJITA, A. **Produtos derivados de camu-camu:** efeito da secagem sobre elagitaninos e flavonoides atividades antioxidants e antimicrobiana. 2015. 147 f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

GRIGIO, M. L. **Atributos qualitativos e funcionais do camu-camu e elaboração de produtos com potencial funcional.** 2017. 112 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR, 2017.

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

PINTO, L. P. S. et al. O uso de probióticos para o tratamento do quadro de intolerância à lactose. **Revista Ciência e Inovação,** [S.l.], v. 2, n. 1, p. 56-65, dez. 2015.

SANTOS, L. C. dos.; CANÇADO, I. A. C. Probióticos e prebióticos: vale a pena incluí-los em nossa alimentação. **Revista Digital FAPAM,** Pará de Minas, v.1, n.1, p. 308-317, out. 2009.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits.International Dairy Journal. v.17, p.1262–1277, 2007.

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W.E.V.; BRITZ M. L.; KYLE W.S.A.; Survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum commercial Yoghurt During Refrigerated Storage. International Dairy Journal. v. 5, p.515-521,1995.

TORREZAN, R. et al. **Processamento de Leite Fermentado Probiótico com um Preparado de Albúmen Sólido de Coco Verde.** Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2021. 8 p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Comunicado Técnico, 246).

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal,** [S.l], v. 9, n. 8, p. 497-505, ago. 1999.

VINDEROLA, C. G. et al. Characteristics of carbonataed fermented milk and survival of probiotic bacteria. **International Dairy Journal,** [S.l], v. 10, n. 3, p. 213-220, mar. 2000.

## 6. Agradecimentos

A Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima, a minha orientadora Dra. Daniela Campos responsável técnica pelo Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da EAgro/UFRR e aos meus parceiros de Laboratório pelo apoio na execução da pesquisa.

## Autores

Antonia Raniely Vieira da Silva[1], Daniela Cavalcante dos Santos Campos[2,*], Lailson Oliveira de Sousa[2]

1. Universidade Federal de Roraima, Rua Rio Tocantins, n.189, Jardim Bela Vista, Boa Vista, Brasil.
2. Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima, BR 174, Km 37, 69310-000, Boa Vista, Brasil.

* Autor para correspondência: daniela.campos@ufrr.br

# CAPÍTULO 3

## Contagem de microrganismos probióticos em leites fermentados adicionados de açaí e camu-camu

Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Leandro Timoni Buchdid Camargo Neves, Adriana Flach, Jéssica Kellen Souza Mendes, Beatriz Oliveira de Souza, Anderson do Nascimento Silva.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c3

**Resumo**
O açaí e o camu-camu são frutos nativos da Amazônia ricos em compostos fenólicos, antocianinas e vitamina C. Os produtos lácteos fermentados são alimentos que podem ser suplementados com frutas, fibras e microrganismos probióticos. O objetivo deste trabalho foi elaborar leites fermentados (LF) com açaí e camu-camu e bactérias probióticas *Bifidobacterium* (BB-12) e *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), e estabelecer suas contagens durante 28 dias de armazenamento. Os frutos de açaí foram obtidos em pomar particular e os de camu-camu, as margens do Rio Urubu (Boa Vista-RR). Para a elaboração dos LF foram adicionados ao leite UHT, 8% de açúcar, 4% de leite em pó desnatado e cultura probiótica, sendo submetidos à coagulação até pH 4,8. As contagens de microrganismos probióticos foram realizadas no dia 0 e a cada 7 dias durante o período de 28 dias utilizando os meios MRS-LP e MRS-M para BB-12 e LA-5 respectivamente. Os LF classificaram-se como probióticos conforme a legislação, apresentando contagem de LA-5 acima de 6 Log UFC $g^{-1}$, exceto o LFC com 20% de polpa. As *Bifidobacterium* não cresceram no meio MRS-LP nas condições experimentais propostas. A partir da contagem dos LA-5, verificou-se que, a adição das polpas favoreceu seu crescimento nos leites fermentados.

**Palavras-chave**: Produtos lácteos, probióticos, vida de prateleira.

### 1. Introdução

Alguns estudos sugerem que frutos e vegetais comumente consumidos em todo o mundo representam excelentes fontes de compostos bioativos e seu consumo tem sido associado com risco reduzido de desenvolver algumas doenças metabólicas (Pinto *et al*., 2008). Os frutos nativos brasileiros, particularmente, mostraram alta capacidade antioxidante *in vitro* e quantidades expressivas de flavonoides e vitamina C, substâncias com potencial benefício para saúde (GENOVESE *et al*., 2008).



Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0

O camu-camu (*Myrciaria dúbia* (Kunth) McVaugh) é um fruto que ocorre nas margens de rios e lagos em toda a bacia Amazônica (ZANATTA; MERCADANTE, 2007), sendo sua polpa usada para sucos, geleias e produtos fermentados (AKTER *et al*., 2011 e Chagas *et al*., 2012). Em alguns países, o camu-camu tem despertado grande interesse devido seu alto teor de ácido ascórbico (YUYAMA, 2002), entretanto, por este motivo, seus frutos raramente são consumidos frescos (RIBEIRO *et al*., 2010).

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) recebeu especial atenção devido à sua alta atividade antioxidante e potencial como alimento funcional ou ingrediente alimentar funcional. Estudos apontam que sua polpa tem maior absorção de radicais de oxigênio do que qualquer fruta que tenha sido analisada pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, sendo esta atividade vinculada a sua composição de flavonoides (KANG *et al*., 2010).

Atualmente, a preocupação com a saúde e o bem-estar vem aumentando, uma vez que o estilo de vida atribulado tem influenciado negativamente o estado nutricional das populações. Assim, cresce a demanda por produtos que ofereçam benefícios nutricionais e que possuam funções biológicas positivas (ESPÍNDULA; CARDOSO, 2010).

Apesar de o consumo de leites fermentados estar baseado por muito tempo no iogurte tradicionalmente produzido com fermentos compostos de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus e Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, atualmente a tendência dos alimentos funcionais aponta para o uso de probióticos, que atuam como agentes “biotecnológicos” e “terapêuticos”, melhorando as características do produto e promovendo efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (ANTUNES, 2001).

Os probióticos são definidos como "microrganismos vivos”, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde. Vários critérios de seleção são aplicados na triagem de novas estirpes de probióticos que podem ser categorizados em três grupos: seguros, funcionais e com aspectos tecnológicos (PIMENTEL; MÄTTÖ, 2012).

Estes microrganismos pertencem ao grupo das bactérias ácido-láticas e de acordo com a resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002, os probióticos são classificados em *Lactobacillus, Bifidobacterium* e *Streptococcus salivares*, sendo os dois primeiros mais empregados em produtos alimentícios e são

capazes de transformar quimicamente os alimentos, facilitando a digestibilidade (Rocha, 2011). Os *Lactobacillus* e as *Bifidobacterium* têm sido isolados de todas as porções do trato gastrointestinal de humanos saudáveis, sendo que o local de preferência para a colonização intestinal são, respectivamente, o íleo terminal e o cólon (BIELECKA *et al*., 2002).

Os probióticos devem apresentar células viáveis em quantidades adequadas no alimento durante toda a estocagem do produto, sendo a dose diária de consumo recomendada, de $10^8$-$10^9$ Unidades Formadoras de Colônia (UFC), realizada através da ingestão de 100 g de produto contendo $10^6$ – $10^7$ UFC/g ou mL (BRASIL, 2007).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi estabelecer a contagem de *Bifidobacterium* (BB-12) e *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) em leites fermentados com açaí e camu-camu e verificar a influência da adição dessas frutas no crescimento destes microrganismos durante 28 dias de armazenamento refrigerado.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Obtenção das polpas de fruta

A polpa de camu-camu foi obtida a partir de nove quilos de frutos provenientes plantas localizadas nas proximidades do Rio Urubu, situado na região da Serra da Lua, município de Boa Vista - RR no mês de maio de 2014, próximo ao término da safra da cultura. Os frutos, íntegros e sem injúrias foram transportados ao local de despolpagem onde foram selecionados, lavados em água corrente para retirada de sujidades e higienizados em água clorada a 200 partes por milhão (ppm) durante 10 minutos. Em seguida foram despolpados sem adição de água e o produto obtido foi acondicionado em sacos plásticos com capacidade de 1 litro. A polpa de açaí foi adquirida em pomar particular situado no município de Boa Vista - RR entre os meses de fevereiro e março de 2014, totalizando cinco quilos referentes aos frutos presentes em três cachos. Os frutos foram selecionados considerando-se critérios de qualidade relacionados à coloração da casca (roxa) e ausência de danos e podridões visuais. Em seguida os frutos foram colocados de molho em água à temperatura de 50°C durante 45 minutos para posterior despolpagem e acondicionamento em sacos plásticos com capacidade de 1 litro. Após a despolpagem, as polpas

de camu-camu e açaí foram transportadas para o Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima (LTPA/EAgro), onde foram fracionadas em embalagens de 200 mL, submetidas a pasteurização a 95 °C durante 5 minutos e resfriadas até alcançar temperatura de 19-22 °C para então serem congeladas a -18 °C.

## 2.2. Processamento dos Leites Fermentados

Os leites fermentados (LF) foram elaborados no LTPA/EAgro utilizando leite UHT (Ultra High Temperature) padronizado em 3,0% de gordura, adicionado de 8% de açúcar, 4% de leite em pó desnatado e culturas bacterianas probióticas contendo *Streptococcus termophillus*, *Bifidobacterium* BB-12 (BB-12) e *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) (Bio Rich® Chr Hansen), sendo incubados em estufa com circulação de ar a temperatura de 41 ± 3 ºC durante 4 horas. Em seguida, os leites fermentados foram resfriados e mantidos a 12 ± 2 °C durante 24 horas para então serem acrescentadas polpas de açaí e camu-camu nas concentrações de 5%, 10%, 15% e 20%, atendendo aos limites estabelecidos pela legislação brasileira, sendo denominados LFA (leites fermentados com açaí) e LFC (Leites fermentados com camu-camu). Em seguida, cerca de 50 ± 2 g dos produtos foram acondicionados em embalagens de polietileno tereftalato (PET) e mantidos sob refrigeração em temperatura de 4 ± 2 °C durante 28 dias. Além dos produtos fermentados adicionados de polpa de fruta, foram separados e acondicionados leites fermentados naturais (LFNat), ou seja, sem adição de polpa e nas mesmas condições experimentais, para constituição do tratamento controle.

## 2.3. Determinação do pH

Foram realizados nos leites fermentados em todas as concentrações de polpa, e nos respectivos tratamentos controles (LFA Nat e LFC Nat), determinações de pH. Os produtos fermentados foram avaliados em triplicata no dia 0 e a cada 7 dias durante um período de 28 dias seguindo recomendações de IAL (2008).

## 2.4. Contagem de Bactérias Probióticas

As contagens das culturas probióticas foram realizadas em duplicata nos leites fermentados nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de estocagem, para verificar a viabilidade das culturas no produto ao longo do período de avaliação.

Para a contagem das colônias de *Bifidobacterium* (BB-12), o ágar MRS (Man,Rogosa and Sharpe) (ACUMEDIA) foi modificado para ágar MRS-LP, contendo 0,2% de cloreto de lítio 0,3% de propionato de sódio. As placas com meio foram incubadas utilizando jarras de anaerobiose e mantidas a 37 ± 1ºC por 72 horas. Os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama (log UFC $g^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999).

Para contagem dos *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) foi utilizado o ágar MRS-M (Man, Rogosa and Sharpe – Maltose) (ACUMEDIA), uma vez que a solução de maltose (NEON) adicionada ao meio permitiu apenas o crescimento desse microrganismo. Após a inoculação das bactérias, as placas foram dispostas em aerobiose a 37ºC por 72 horas e os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama (log UFC $g^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999).

Para os dados de pH e acidez titulável foi estabelecido delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial duplo 5 x 5 (5 teores de polpa x 5 períodos de avaliação), sendo submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido de análise de regressão a 5% de significância. Para as contagens de microrganismos probióticos, foi estabelecido delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial duplo 5 x 3 (5 teores de polpa x 3 períodos de avaliação), sendo os dados submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do Teste de Tukey a 5% de significância utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 3. Resultados e Discussão

Tanto para o pH quanto para acidez titulável (AT) verificou-se que a interação teor de polpa x dias de armazenamento foi significativa a 5% de probabilidade, assim como os efeitos simples dados pelo teor de polpa e dias de armazenamento.

Observando as médias de pH dentro dos teores de polpa, verificou-se que os resultados obtidos nos LFA e LFC reduziram significativamente ($p \leq 0,05$) de

forma linear, conforme os teores de polpa foram aumentados, mostrando influência das polpas nesta variável. Considerando a influência da polpa de fruta nos leites fermentados, observou-se menores valores de pH nos LFC em todos os teores de polpa aplicados, quando comparados com os LFA. Estes resultados se justificam devido à elevada acidez da polpa de camu-camu (Figura 1).

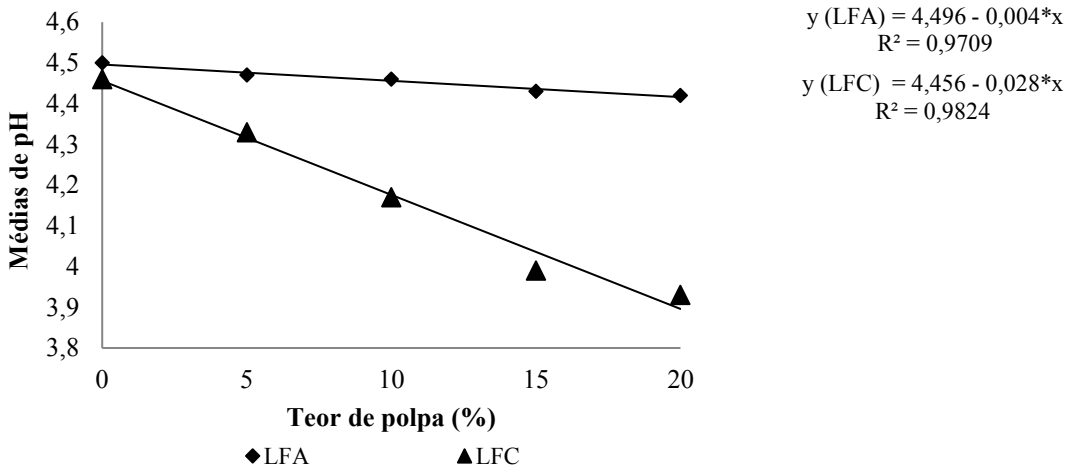



**Figura 1**. Médias dos valores de pH em função dos teores de polpa de açaí e camu-camu em leites fermentados.

Em relação a redução do pH no fim do período de estocagem de 28 dias, verificou-se que os LFA apresentaram redução de (10,8%), enquanto nos LFC, foram verificadas reduções apenas nos LFC Nat e no LFC 5%, sendo observado, em ambos os produtos, que as maiores reduções se concentraram entre os dias 0 e 7 de avaliação. OLIVEIRA; DAMIN (2003), estudando diferentes teores de sólidos e sacarose em leites fermentados, também verificaram maiores efeitos de acidificação entre os dias 0 e 7 de avaliação, concordando com os resultados apresentados neste trabalho.

Relacionando a acidificação dos leites fermentados de açaí com a contagem de *Lactobacillus acidophillus* (LA-5), pôde-se observar que o incremento no teor de polpa, favoreceu a redução dos valores de pH, nos LFA 15% e LFA 20%, onde as reduções nas unidades formadoras de colônias (UFC $g^{-1}$) de LA-5 foram menores que nos LFA 5% e LFA 10%, apontando influência positiva do açaí desenvolvimento de bactérias probióticas. Para os LFC 10%, LFC 15% e LFC 20% houve incremento significativo nos valores de pH,

provavelmente relacionado decréscimo no número de unidades formadoras de colônia (UFC $g^{-1}$) de LA-5 na ordem de 5,4%, 2,27% e 1,92%, respectivamente, promovendo redução na acidificação (Figura 2).

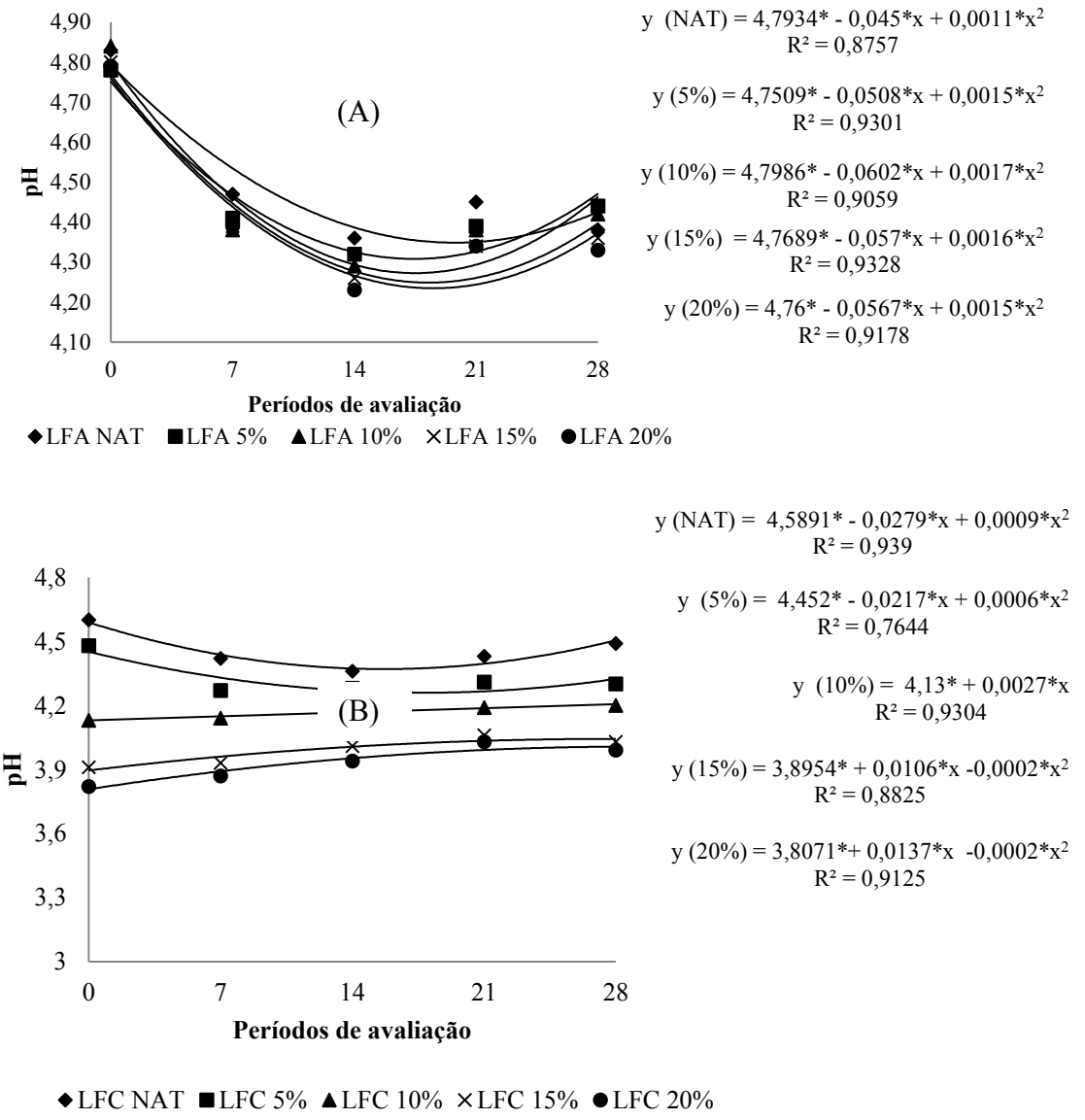



**Figura 2**. Valores de pH em (A) LFA e (B) LFC durante 28 dias de armazenamento.

As contagens de microrganismos probióticos nos LFC e LFA previam contagens de LA-5 e BB-12, entretanto, o BB-12 não cresceu no meio MRS-LP nas condições estabelecidas por LAPIERRE *et.al.* (1992), portanto, os dados referentes a este microrganismo não estão apresentados na Tabela 1. Além

disso, os resultados apresentam as contagens de LA-5 até o dia 14 em função de contaminação fúngica das amostras a partir do dia 18 de avaliação.

**Tabela 1**. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) em leites fermentados com camu-camu e açaí nos dias 0, 7 e 14 de avaliação.

| Teor de polpa (%) | Contagem LA-5 em LFC (Log UFC $g^{-1}$) Dias de avaliação | | | Contagem LA-5 em LFA (Log UFC $g^{-1}$) Dias de avaliação | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 7 | 14 | 0 | 7 | 14 |
| **Nat** | 6,28 bB | 6,72 aA | 6,41 cA | 6,28 cD | 6,72 bC | 6,41 bC |
| **5** | 6,35 aA | 6,29 bC | 6,01 cB | 6,53 aA | 6,15 bB | 6,50 bB |
| **10** | 6,36 aC | 6,02 bD | 6,03 bB | 6,42 aC | 6,10 bD | 6,28 bD |
| **15** | 6,17 aE | 6,03 bB | 6,03 bB | 6,21 bE | 6,21 aA | 6,59 aA |
| **20** | 6,25 aB | 6,11 bC | 5,76 cC | 6,47 aB | 6,20 bD | 6,35 bD |

Obs.: Letras minúsculas diferentes na mesma linha e maiúsculas na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo Tukey a 5% de probabilidade. LFC: Leite fermentado com camu-camu. LFA: Leite fermentado com açaí. Nat: Leite Fermentado sem polpa.

De acordo com a Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que estabelece Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, as contagens de bactérias láticas totais devem ser de no mínimo de 6,0 Log UFC $g^{-1}$ de leite fermentado. Nesse sentido, durante o período avaliado, apenas o LFC a 20% no dia 14 de avaliação não apresentou contagens satisfatórias, enquanto os demais produtos se classificaram como probióticos (Tabela 1).

No dia 0 de avaliação, verificou-se que as contagens de LA-5 nos LFC a 5% e 10% foram superiores às dos LFnat (sem polpa), mostrando efeito positivo da polpa de camu-camu, provavelmente relacionado ao elevado de teor de ácido ascórbico presente naturalmente neste fruto. Dave e Shah (1997) verificaram efetividade na adição de ácido ascórbico (0, 50, 150 e 250 mg/kg iogurte) em eliminar oxigênio em iogurtes probióticos, favorecendo o crescimento destes microrganismos, entretanto os efeitos se mantiveram apenas durante os primeiros 15 dias.

Não foram avaliados os teores de vitamina C nos LFCs com diferentes teores de polpa de camu-camu, entretanto pode-se verificar que o LFC a 5% apresentou as menores reduções (0,94%) nas contagens de probióticos entre os dias 0 e 7 de armazenamento refrigerado, provavelmente relacionada à vitamina C presente no leite fermentado nesta concentração de polpa.

Os LFC a 15% e 20% apresentaram contagens inferiores às do LF Nat no dia 0 de avaliação, mostrando efeito negativo destas concentrações de polpa de camu-camu nestes produtos. Este comportamento pode estar relacionado à acidez exacerbada promovida pelo aumento do teor de polpa camu-camu adicionada aos leites fermentados, comprometendo desta forma, o desenvolvimento dos LA-5.

Entretanto se consideramos as contagens no dia 14, apenas o LFC a 20% reduziu seus valores abaixo de 6,0 UFC $g^{-1}$, concluindo que 20% de polpa influencia negativamente o número de UFC $g^{-1}$ nos produtos, descaracterizando-os como probióticos. Segundo Kandler; Weiss (1986), os LA-5 admitem variações entre valores de pH abaixo de 5,0 até 6,2, portanto estes microrganismos foram influenciados negativamente pela adição polpa de camu-camu nesta concentração, uma vez que o pH no LFC de 20% situou-se entre 3,80 e 3,99.

Durante o período de avaliação, os LFA, em todas as concentrações de polpa, e o LFA Nat se mantiveram dentro do limite previsto no Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (PIQLF) (BRASIL, 2007). Verificou-se no dia 0 de avaliação, que os LFA a 5%, LFA a 10% e LFC a 20% mostraram contagens maiores que o LFA Nat, indicando efeito positivo da polpa de açaí.

No dia 7 de armazenamento, foram verificadas reduções nas contagens de *Lactobacillus acidophilus* em todos os LFA adicionados de polpa de açaí, seguidos por aumento no dia 14. Nos leites fermentados sem polpa de açaí (LFA Nat) observou-se comportamento contrário aos verificados para os leites fermentados adicionados de polpa. Comportamento semelhante foi verificado por Almeida *et al*. (2008) e Espírito Santo *et al.* (2010), que verificaram reduções seguidas de aumentos nas contagens de bactérias em iogurtes probióticos contendo polpa de açaí, durante os períodos avaliados.

As reduções nas contagens das bactérias láticas entre os dias 0 e 7 de avaliação podem ser associadas às maiores taxas de acidificação neste período, ou seja, redução nos valores de pH. Quando os efeitos da acidificação foram reduzidos após o dia 7 houve aumento significativo no número de UFC $g^1$, revelando efeito negativo da acidificação no desenvolvimento destas bactérias. A partir do dia 14, foi possível verificar o efeito positivo do açaí para as bactérias, uma vez que as contagens de todos os leites fermentados adicionados de polpa de açaí aumentaram, enquanto no LFA Nat reduziram. Espirito Santo *et al.* (2010), também avaliaram o efeito benéfico da polpa de açaí, no dia 14 de avaliação, onde todos os iogurtes adicionados de polpa apresentaram contagens superiores às dos iogurtes sem polpa.

A seleção de estirpes ácido-tolerantes é um princípio de absoluta importância na obtenção de resultados satisfatórios para a sobrevivência de culturas probióticas em leites fermentados (MATTILA-SANDHOLM *et al*. 2002). Além disso, a permeabilidade ao oxigênio das embalagens, aditivos alimentares, minerais e a combinação de microrganismos também deve ser avaliada na produção destas matrizes alimentares.

## 4. Conclusão

Os leites fermentados com açaí e com camu-camu atenderam à legislação quanto às contagens de bactérias probióticas, sendo classificados como produtos probióticos durante o período avaliado, com exceção do LFC a 20%.

A partir da contagem dos *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), verificou-se que a adição das polpas de açaí e camu-camu favoreceram o crescimento destes microrganismos nos leites fermentados, sendo, portanto, excelentes alternativas de enriquecimento de produtos lácteos com frutos nativos da Amazônia.

## 5. Referências

AKTER, M. Sorifa *et al*. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**. v. 44:1728-1732, 2011. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.045

ALMEIDA, M.H.B *et al*. 2008. Potentially probiotic açai yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 61(2):178-182, 2008. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00390.x

ANTUNES, L. A. F. Microrganismos probióticos e alimentos funcionais. **Indústria de laticínios**, v. 6(34):30-34, 2001.

BIELECKA, Maria; BIEDRZYCKA, Elzebieta; MAJKOWSKA, Anna. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, v.35(2-3):25-131, 2002. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00173-9

BRASIL. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal**. Instrução Normativa nº. 46 de 23/10/2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. D.O.U., Brasília, 24/10/2007.

CHAGAS, E. A.; BACELAR-LIMA, C. G.; CARVALHO, A. D. S.; RIBEIRO, M. I. G.; SAKAZAKI, T. R.; NEVES, L. C. 2012. Propagação do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc vaugh). **Agro@mbiente**. v. 6:67-73,2012. https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v6i1.634.

DAVE R. I.; SHAH, N. P. Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. **International Dairy Journal**. v. 7(6-7):435-443, 1997 https://doi.org/10.1016/S0958-6946(97)00026-5

ESPÍNDULA, N. C.; CARDOSO, C. E. Formulação de um logurte Suplementado com Compostos Probióticos, Prébióticos e Polpa de Açaí. **Revista TECCEN**, v. 03(01):22-33, 2010.

ESPÍRITO SANTO A. P.; SILVA, R. C.; SOARES, F. A. S. M.; ANJOS, D.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal** . v. 20: 415–422, 2010. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.01.002.

FERREIRA, D. F. 2011. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** *(UFLA)*, v. 35(6):1039-1042, 2011.

GENOVESE, M. I.; PINTO, M. S.; GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M. 2008. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science Technology Internacional**. V. 14:207–214, 2008.

KANDLER, O.; WEISS, N. Genus *Lactobacillus beijerinck* 1901, 212AL. In: SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. (eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.** Baltimore: Williams and Wilkins, 1986.

KANG, J.; LI, Z. M.; WU, T.; JENSEN, G. S.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**. v. 122:610–617, 2010.

LAPIERRE, L.; UNDELAND, P.; COX, L. J. Lithium Chloride-Sodium Propionate Agar for the Enumeration of Bifidobacteria in Fermented Dairy Products. **Journal of Dairy Science**, v. 75(5):1192-1196, 1992.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. **Technological challenges for future probiotic foods**. v. 12(2-3):173-182, 2002.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 23(supl): 172-176, 2003.

RIBEIRO, S.I.; MOTA, M.G.C.; CORRÊA, M.L.P. Recomendações para o cultivo do camu-camuzeiro no Estado do Pará. **Circular Técnica**, Embrapa, Belém (PA), 2002.

ROCHA, L. P. **Benefícios dos Probióticos à Saúde Humana**. **Ijuí, Brasil**. (TCC Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. UFRGS), 31p, 2011.

VINDEROLA, C.G., REINHEIMER, J.A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**. v. 9(8):497-505, 1999.

YUYAMA, L. K. O.; ROSA, R. D,; AGUIAR, J. P.; NAGAHAMA, D.; ALENCAR, F. H.; YUYAMA, K.; CORDEIRO, G. W. O.; MARQUES, H. O.; Açaí (*Euterpe Oleracea* Mart.) e camu-camu (*Myrciaria Dúbia* (H.B.K.) Mc Vaugh) possuem ação anti anêmica? **Acta Amazônica**. v. 32(8): 625-633, 2002. https://doi.org/10.1590/1809-43922002324623.

ZANATTA, C., MERCADANTE, A. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu–camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**. v. 101:1526-1532, 2007.

## 6. Agradecimentos

Agradecemos a Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima (UFRR) e ao conselho nacional de desenvolvimento cientifico e tecnológico (CNPq) pela apoio na pesquisa sendo grandes colaboradores para a realização dessa pesquisa.

## Autores

Daniela Cavalcante dos Santos Campos[1], Leandro Timoni Buchdid Camargo Neves[2], Adriana Flach[3], Jéssica Kellen Souza Mendes[1], Beatriz Oliveira de Souza[1], Anderson do Nascimento Silva[4]

1. Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima, BR 174, Km 37, 69310-000, Boa Vista, Brasil.
2. Centro de Ciências agrárias da Universidade Federal de Roraima, BR 174, Km 12, Monte Cristo, 69300-000, Boa Vista, Brasil.
3. Departamento de química da Universidade Federal de Roraima, Av. Cap. Ene Garcez, 2413, 69310-000, Boa Vista, Brasil.
4. Universidade Estadual de Roraima, Bairro Canarinho, 69306-530, Boa Vista, Brasil.

* Autor para correspondência: daniela.campos@ufrr.br

# CAPÍTULO 4

## Probióticos: inovações no desenvolvimento de formulações de alimentos funcionais não convencionais

Fernanda Weber Bordini, Júlia Cristina Fernandes, Viviane Lívia Carvalho Souza, Elaine Cristina Galhardo, Moysés Estevão de Souza Freitas Pehrson, Ismael Maciel de Mancilha.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c4

**Resumo**

Alimentos funcionais probióticos são alvo constante de estudos, visto a significância de seus benefícios à saúde humana e dos animais domésticos. Entretanto, a necessidade de se relacionar os respectivos efeitos benéficos a viabilidade celular destes microrganismos tem sido questionada, surgindo então novos termos como os para-probióticos e pós-bióticos. Sabe-se ainda que a matriz láctea é a mais promissora para o desenvolvimento de alimentos probióticos, como leites fermentados, iogurtes, queijos e até mesmo colostro. Porém novas matrizes não-lácteas têm sido exploradas como os derivados cárneos e vegetais, propiciando a geração de alimentos probióticos adequados à população que não pode consumir alimentos de origem láctea, especificamente aqueles indivíduos que apresentam intolerância a lactose ou alergia à proteína do leite de vaca, bem como os veganos, entre outros. Assim, uma vasta gama de alimentos tem sido desenvolvida em diferentes matrizes tendo como um dos desafios a manutenção da viabilidade celular das respectivas cepas com vistas a se atingir a concentração celular mínima preconizada pela legislação a fim de se observar os respectivos efeitos à saúde do hospedeiro. Neste contexto, a técnica de microencapsulação apresenta-se como alternativa para contornar tais desafios. Assim, a escolha da técnica, bem como os materiais encapsulantes são essenciais para o sucesso deste desenvolvimento.

**Palavras-chave**: alimentos funcionais não convencionais, lácteos, não lácteos, probióticos, microencapsulação.

### 1. Introdução

De acordo com a FAO/WHO (2002) probióticos são considerados como "*microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro*". Tal definição foi referendada e


Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0

mantida, em 2013, por nutricionistas, microbiologistas e fisiologistas, membros da Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos (ISAPP), que também reavaliaram os termos prebiótico em 2017 (GIBSON *et al*., 2017) e simbióticos em 2020 (SWANSON et al., 2020), assim como, o termo prebiótico, que é considerado como "*um composto que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros que conferem benefícios à saúde*". Neste contexto, simbiótico foi definido como "*uma mistura compreendendo microrganismos vivos e substrato(s) seletivamente utilizados por microrganismos hospedeiros que conferem um benefício à saúde do hospedeiro*", o que equivale a uma associação de probióticos e prebióticos (SWANSON *et al*. 2020).

Entretanto, os avanços da ciência associados às novas descobertas, trouxeram a tona novos termos como "paraprobióticos ou probióticos inativados", bem como "probióticos fantasmas", os quais foram definidos por Taverniti; Guglielmetti (2011) como "*células microbianas não viáveis (intactas ou rompidas) ou extratos celulares brutos (com composição química complexa), que quando administrados (oralmente ou topicamente) em quantidades adequadas, conferem benefícios ao consumidor humano ou animal*", quebrando, assim, o paradigma que apenas células vivas eram capazes de exercer efeito benéfico sobre o hospedeiro. Neste contexto, surgiu o termo "pós-bióticos" que correspondem aos metabólitos resultantes da atividade metabólica desses microrganismos. *O* termo posbióticos foi cunhado por Tsilingiri *et al*. (2012) e Tsilingiri; Rescigno (2013) como "*Metabólitos solúveis produzidos por microrganismos probióticos capazes de beneficiar a saúde independentemente da presença de células viáveis".* Já o termo psicobiótico proposto por Dinan; Stanton; Cryan (2013), corresponde a "micro-*organismos vivos que quando ingeridos em quantidades adequadas produzem benefícios à saúde de pacientes acometidos por doenças psiquiátricas"*, sendo considerado como uma subcategoria de probióticos. Adicionalmente, o termo "psicobiótico" relaciona os respectivos benefícios a metabólitos neuroativos como ácido gama-aminobutírico (GABA) e serotonina produzidos pelos microrganismos probióticos viáveis no TGI, os quais interferem positivamente no funcionamento do eixo intestino-cérebro (DINAN, STANTON e CRYAN, 2013; LI *et al*., 2009; TAKEDA *et al.*, 2011; BISWAS *et al.*, 2013; HSIEH *et al.*, 2016; JANG *et al*., 2018; MAEHATA *et al*., 2021; TRAN *et al*., 2022). Após anos de discussão na

comunidade científica em torno desta terminologia, Salminen *et al.* (2021a) em conjunto com membros da ISAPP (*International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics*) propuseram a junção dos termos “paraprobióticos”, “probióticos fantasmas”, “metabióticos”, “lisados bacterianos”, e “parapsicobióticos” em um único termo, “pósbióticos”, com objetivo de se evitar o emprego de número excessivo de terminologias para produtos essencialmente similares. Enfatizaram ainda que estes termos deveriam consistir de preparações complexas compostas de células inativadas e/ou seus componentes e metabólitos, e não de metabólitos solúveis purificados, sem a presença de biomassa celular como álcoois, proteínas, cetonas, ácidos orgânicos, exopolissacarídeos e compostos quimicamente sintetizados. Para estes metabólitos, purificados ou parcialmente modificados, deveria se adotar a nomenclatura de substâncias químicas envolvidas e, então, removidos da categoria dos “posbióticos”. Outra alteração proposta pelos autores, consiste na eliminação do requisito referente à necessidade de que os respectivos fragmentos ou componentes celulares fossem originários de cepas reconhecidamente probióticas.

A evolução nos conhecimentos sobre os efeitos da microbiota na saúde do hospedeiro está sustentada principalmente no processo de fermentação espontânea, que desde a antiguidade era amplamente utilizado, a princípio, para a conservação de alimentos. Para atingir este objetivo, as condições físico-químicas dos alimentos eram empiricamente modificadas (atividade de água, anaerobiose, temperatura, adição de sal, entre outras) para que espécies microbianas naturalmente presentes nos mesmos se desenvolvem numa sequência natural de crescimento, que por sua vez promoviam novas modificações físico químicas tornando o alimento um meio progressivamente seletivo. Estas modificações realizadas pela microbiota eram resultantes da produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e outras substâncias, garantindo a extensão do período de conservação destes alimentos ao inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis.

Dentre os alimentos de origem vegetal destacam-se chucrute, picles, kimchi, kombucha, natto, kvass, kefir de água, cerveja, vinho, dentre outros. Em relação aos alimentos de origem animal encontram-se kefir de leite, coalhada “natural”, queijos artesanais, hidromel, salame entre outros. (DIMIDI *et al*., 2019).

Estes alimentos se enquadram na categoria dos alimentos funcionais, os quais, além do seu valor nutricional desempenham papel fundamental na promoção da saúde do consumidor. Esta propriedade está sustentada na diversidade de espécies microbianas, principalmente bactérias e leveduras, presentes nos alimentos in natura, que se encontram em equilíbrio e por meio dos seus metabolitos interferem no desenvolvimento das espécies patogênicas e/ou oportunistas. Assim, dentre as espécies benéficas encontram-se aquelas consideradas probióticas, as quais, se consumidas em quantidades adequadas e com frequência conferem benefícios à saúde incluindo a melhoria do funcionamento do organismo e a prevenção de diversas doenças, tendo como consequência a melhoria na qualidade de vida. Sustentada nestes conhecimentos, a Biotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento de novas formulações de produtos probióticos, bem como para a descoberta e avaliação de novas cepas microbianas.

No tocante aos alimentos cárneos probióticos, observa-se que estes ainda são pouco explorados, tendo em vista as dificuldades de se conciliar questões tecnológicas, como equipamentos e protocolos de processamento, aos parâmetros de qualidade, segurança e funcionalidade do alimento formulado. Assim, a manutenção da viabilidade dos microrganismos probióticos em um produto cárneo ao longo das etapas de processamento e armazenamento exige o emprego de técnicas específicas, como a imobilização ou encapsulamento dos mesmos em diferentes matrizes. Destaca-se ainda a necessidade de se conhecer o comportamento dos microrganismos probióticos em meios contendo diferentes concentrações de sal, nitrato, nitrito, condimentos, entre outros (TRABELSI *et al*. 2019). Assim, o desenvolvimento de novos produtos cárneos probióticos tem se destacado no segmento dos alimentos funcionais, com ênfase para a inoculação de cepas de *Lactobacillus* sp na fabricação de salsichas com a função de inibir espécies patogênicas como *Salmonella* sp e *Listeria* sp. Neste caso, enzimas redutases sintetizadas pela referida cepa probiótica auxiliam na degradação do nitrito sem alterar as condições de conservação deste alimento. Dessa forma, a inoculação de microrganismos probióticos, especialmente na forma encapsulada, no processamento de produtos cárneos é uma inovação relevante no campo dos alimentos funcionais.

Atualmente o mercado de alimentos probióticos é representado principalmente por produtos lácteos, sendo que 36,6% é ocupado pelos leites fermentados, tendo em vista suas características como elevada aceitação sensorial, valor nutritivo e a possibilidade de veicular microrganismos com propriedades específicas (MARKETS AND MARKETS, 2022) Neste contexto, o leite e seus derivados, devido às suas características físico químicas, são considerados meios adequados para o desenvolvimento de novas formulações de alimentos funcionais. Ademais, a composição destes meios contribui para a sobrevivência dos microrganismos probióticos na presença do suco gástrico, particularmente por seu efeito tamponante e protetor, além de auxiliar a colonização das cepas probióticas no trato gastrointestinal do hospedeiro.

Dentre as diversas inovações avaliadas neste segmento, destaca-se a técnica de microencapsulação de cepas probióticas, que consiste em revestir as células em material protetor com o objetivo de manter a viabilidade celular exigida para que um alimento seja caracterizado como probiótico durante o período de validade do produto. Esta inovação permite criar condições de proteção destes microrganismos quando sujeitos a condições adversas observadas nas diferentes etapas do processamento, bem como durante o armazenamento e a passagem pelo trato gastrointestinal. Assim, a seleção dos materiais para compor a matriz é dependente da técnica de encapsulação empregada, bem como o tamanho das cápsulas, os quais são fatores que interferem no nível de proteção da cepa probiótica (NUNES *et al.* 2018; ROSOLEN *et al*.2019).

## 2. Probióticos em diferentes matrizes

### 2.1. Matriz láctea

Na antiguidade, o excedente da produção diária de leite era submetido a algum tipo de processamento para gerar derivados com maior vida de prateleira. Além disso, o leite é um alimento acessível a maior parte da população e é um meio propício para o crescimento de micro-organismos em geral devido às suas características nutricionais diversificadas. Estas características favorecem a elaboração de formulações de derivados lácteos enriquecidos com microrganismos probióticos, como iogurtes, leites fermentados, queijos, requeijão, dentre outros.

De acordo com Fox *et al*. (2017), queijo é o termo genérico atribuído a um grupo de produtos fermentados de leite, obtidos após a coagulação (ácida ou enzimática), precipitação e separação da principal proteína do leite, a caseína. Este composto tem como origem etimológica a palavra "*casèu"*, que significa queijo em latim. Historicamente estes alimentos foram produzidos de maneira acidental na tentativa de reduzir o excesso de umidade de leites fermentados e assim preservar seus nutrientes por mais tempo. Os primeiros queijos que se tem evidência eram produzidos por coagulação ácida, obtidos a partir do leite fermentado de forma espontânea ou natural. Neste processo a microbiota autóctone metaboliza a lactose gerando ácidos orgânicos, em especial ácido lático, resultando no abaixamento do pH até atingir o ponto isoelétrico da caseína tendo como consequência sua coagulação. Na sequência, com a continuidade do abaixamento do pH, observa-se a precipitação da caseína que, posteriormente, será separada do soro, dando origem à massa de caseína que, devidamente processada, dará origem aos diferentes tipos de queijos.

Tendo em vista inovações tecnológicas implementadas nas últimas décadas, na atualidade é dispensável a utilização de microrganismos para promover a coagulação da caseína, uma vez que este fenômeno é resultante da utilização de enzimas e ácidos orgânicos, adicionados ao leite pasteurizado, os quais são produzidos por processos fermentativos. Assim, cepas específicas de microrganismos, adquiridas na forma de culturas pré-ativadas ("starter"), são empregadas com vistas a conferir características sensoriais específicas, obtidas ao longo do processo de maturação. Neste contexto, destaca-se ainda a utilização da técnica de "backslapping", também conhecida como soro fermento, pingo ou fermento endógeno, que consiste na utilização do soro no processo de fabricação de queijo do dia anterior, o qual é constituído de cepas específicas de microrganismos naturalmente selecionadas, bem como a utilização da "rala" (porção de queijos maturados "que deram certo" ralados e adicionados ao leite no início do processo) (OLIVEIRA *et al*., 2018). Destaca-se que esta técnica é comumente empregada na fabricação dos diferentes tipos de queijos artesanais, os quais são produzidos a partir de leite cru em conformidade com as legislações regionais pertinentes. Assim, essa microbiota natural, ao longo do processo de maturação, por meio de inúmeras reações bioquímicas, gera compostos que conferem características sensoriais específicas de cada tipo de queijo. Ademais,

criam condições que conferem estabilidade microbiológica e são inadequadas para o crescimento de cepas de microrganismos deteriorantes, toxigênicos e patogênicos, garantido a segurança do consumidor (FOX *et al*.2015).

Alimentos fermentados tradicionais, como kefir e queijos artesanais, podem ser considerados como reservatórios naturais de espécies de microrganismos que apresentam propriedades probióticas. O isolamento e caracterização destas espécies, a partir destes alimentos, reduz a necessidade de extensivas avaliações no que se refere à segurança alimentar, tendo em vista que estes alimentos têm sido utilizados na alimentação humana há muitos anos sem prejuízos à saúde do consumidor. Neste contexto, diversas pesquisas (ZAGO *et al*., 2011; JERONYMO-CENEVIVA *et al*., 2014; JABBARI *et al*., 2017; CASAROTTI *et al*., 2017; ZHANG *et al*., 2020; MARGALHO *et al*., 2021) têm sido realizadas com sucesso tendo como objetivo isolar cepas de microrganismos que apresentam propriedades probióticas a partir de diferentes tipos de queijo artesanal. Este procedimento demonstra que queijos artesanais consistem de uma matriz adequada para o crescimento de microrganismos probióticos, podendo ser, portanto, utilizados como veículo para espécies probióticas isoladas de outras fontes.

Homayouni *et al*. (2020) afirmam que tanto queijos frescos quanto maturados apresentam características adequadas para atuarem como veículos para a administração de microrganismos probióticos. Os primeiros apresentam características físico-químicas que consistem, principalmente, de elevado teor de umidade, pH entre 5.00 e 6.00 e reduzido teor de sal. Estas características favorecem sua utilização como veículo para espécies probióticas e,associado a refrigeração, retarda a produção de metabólitos oriundos da fermentação que poderiam alterar negativamente as propriedades sensoriais do produto. Por outro lado, devem ser produzidos a partir de leite pasteurizado, mantidos sob refrigeração e apresentam vida de prateleira menor em relação aos queijos maturados. No tocante aos queijos maturados, observa-se que estes apresentam características físico-químicas (menor atividade de água, maior teor de sal e pH entre 4.00 e 5.00) mais inóspitas, que impedem o desenvolvimento de espécies de microrganismos oportunistas, mas que também podem inibir o desenvolvimento de algumas espécies de microrganismos probióticos. Desta forma, estas características devem ser consideradas dentre os critérios de

seleção de cepas probióticas para que possam ser veiculadas neste alimento, além de sua interferência nas propriedades sensoriais do produto (HOMAYOUNI *et al*. 2020). Por outro lado, os queijos maturados apresentam vantagens como maior vida de prateleira e por consistir de uma matriz que oferece maior proteção aos microrganismos probióticos durante a passagem pelo TGI. Esta propriedade se deve à presença de substâncias capazes de tamponar o pH estomacal, como aminoácidos livres resultantes das reações de proteólise parcial observadas durante as etapas de coagulação e maturação.

Neste contexto, Stanton *et al*. (1998) demonstraram que queijo do tipo cheddar com 35-36% de umidade, 1,7-1,8% NaCl e pH de 5,20, pode ser manufaturado para carrear *Lactobacillus paracasei* NFBC 338, podendo sustentar entre $10^7$ e $10^8$ UFC/g de queijo durante um período de maturação de 200 dias. Abbas *et al*. (2022) desenvolveram queijo cheddar probiótico que apresenta um pH relativamente elevado e alto teor de gordura, o que permite observar um efeito tampão, o qual interfere na ação do ácido lático produzido pelos micro-organismos probióticos, interferindo na viabilidade das respectivas cepas. Leeuwendaal *et al*. (2022) avaliaram queijo cheddar e leite fermentado (controle) como matriz para o desenvolvimento de uma cepa de *Lactobacillus,* considerando como resposta a resistência da referida cepa ao trato gastrointestinal simulado. Os resultados demonstraram que o queijo cheddar conferiu proteção à referida cepa resultando em valor de sobrevivência dez vezes superior em relação ao controle, atingindo níveis que variaram entre $10^7$ – $10^8$ UFC/g de queijo. Este efeito foi atribuído à presença dos referidos aminoácidos livres resultantes da ação proteolítica da microbiota do leite, bem como do agente coagulante.

Langa *et al*., (2021) avaliaram a incorporação de preparações probióticas compostas por diferentes combinações de *L. lactis* INIA 650 pT1-aFP, *L. paracasei* INIA P272 e *B. breve* INIA PP734, em queijo de baixa umidade elaborado a partir de leite de ovelha, avaliando como resposta a sobrevivência das referidas cepas, bem como a produção, *in situ* e *in vitro,* de nisina pela cepa *L. lactis* INIA 650 pT1-aFP. Verificaram que as cepas avaliadas mantiveram concentrações acima de $10^7$ UFC/g durante os 28 dias de maturação, com destaque para *L. lactis* (produtora de nisina) que apresentou uma população de $10^9$ UFC/g durante este período. Observaram também a produção de

quantidades significativas de nisina a partir de 24h da manufatura dos queijos até o final da etapa de maturação, assim como durante o período de exposição ao trato intestinal simulado. Estes resultados demonstraram a viabilidade técnica de se produzir queijos probióticos contendo cepas bacteriocinogênicas, visando à produção da bacteriocina *in situ*, contribuindo para a estabilidade microbiológica do produto, tendo como consequência a segurança do consumidor, bem como favorecendo a modulação da microbiota intestinal.

O emprego de culturas probióticas na fabricação de queijos argentinos de média umidade foi avaliado por Bergamini *et al*. (2005), sendo reportado que a incorporação de culturas probióticas na forma liofilizada no início do processo se mostrou mais viável quando comparado ao uso da cultura industrial ativada em leite. Os resultados mostraram que as populações foram semelhantes após a etapa de maturação e, também, que o emprego da cultura industrial pré-cultivada em leite resultou em queijos com pH mais baixo, de textura menos cremosa e sabor mais ácido, resultando em menor aceitação por parte dos provadores.

A presença de microrganismos probióticos viáveis em queijos confere proteção e contribui para a conservação destes alimentos, tendo em vista que as condições impostas por estas cepas interferem no desenvolvimento de espécies patogênicas, toxigênicas e deteriorantes. Assim, Pehrson *et al*. (2020) estudaram o efeito da inoculação de cepas probióticas no leite cru empregado no processo de fabricação de queijo tipo parmesão da mantiqueira (Minas Gerais), tendo como controle o leite cru inoculado com fermento endógeno (pingo). Avaliaram ainda o efeito deste procedimento em três estações do ano considerando como indicador a composição da microbiota dos queijos ao longo de 45 dias de maturação. Os resultados revelaram que a microbiota dos queijos maturados apresentou populações significativamente menores de coliformes termotolerantes viáveis, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e espécies da família *Enterobacteriaceae* quando o leite cru foi inoculado com as cepas probióticas. Constataram ainda que os queijos com probióticos apresentaram parâmetros microbiológicos compatíveis com os padrões estabelecidos pela legislação desde o início do período de maturação. A carga microbiana de *Enterobacteriaceae* variou nas diferentes estações do ano, aparentando estar positivamente correlacionada às estações chuvosas e quentes, nas quais a

manutenção de condições apropriadas de higiene é mais difícil em pequenas propriedades rurais.

"Queijos tradicionais avançados" foram conceituados por Fusco *et al*. (2019) que desenvolveram uma tecnologia de produção de queijos maturados que consistiu da inoculação de cepas autóctones, selecionadas dentre a microbiota do inóculo endógeno de queijos tradicionais italianos (Giuncata e Caciotta Leccese). As cepas autóctones foram selecionadas considerando como critérios positivos a produção de exopolissacarídeos, metabolismo de citrato (associado à produção de compostos de aroma), potencial de acidificação, atividades lipolíticas e proteolíticas, bem como e capacidade de inibir patógenos. Dentre as espécies isoladas destacam-se *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii e Streptococcus macedonicus* a qual foi utilizada como cultura starter para produção do queijo. A segunda estratégia empregada foi o enriquecimento destes queijos com a cepa probiótica *Lacticaseibacillus rhamnosus* DSM 16605 (antes classificada como *Lactobacillus rhamnosus*) isolada do trato gastrointestinal humano. Os resultados revelaram que a cepa probiótica (*Lb. rhamnosus* LR04) foi capaz de sobreviver às condições das diferentes etapas do processo de produção, bem como à passagem pelo TGI, tendo sido recuperada nas fezes de voluntários sadios após uma semana de consumo regular dos queijos. Adicionalmente, os autores concluíram que a combinação da inoculação de cepas selecionadas do fermento endógeno associada a respectiva cepa probiótica contribuiu positivamente para as características sensoriais dos queijos. Os autores reportaram ainda que as cepas autóctones selecionadas sobreviveram ao processo produtivo, bem como ao período de maturação de 60 dias e que a associação das cepas autóctones selecionadas à cepa probiótica gerou melhorias nas características sensoriais dos queijos, sendo melhor avaliadas pelos provadores experientes.

A incorporação de preparações probióticas na fabricação de queijos, elaborados ou não com leite cru, representa um procedimento relevante no segmento de alimentos funcionais. Essa técnica permite a agregação de valor, além de conferir propriedades nutricionais e funcionais em um alimento que é amplamente aceito e consumido em âmbito mundial. Inovações neste segmento consiste no desenvolvimento de procedimentos de bioprospecção de novas

cepas probióticas, entendimento dos respectivos mecanismos de ação e conhecimento das características fermentativas das cepas selecionadas. Acrescenta-se ainda a adequação de tecnologias de produção, bem como divulgação dos potenciais benefícios do consumo regular de alimentos probióticos para a saúde, embasados em evidências científicas. Além destas, o emprego de cepas probióticas selecionadas como adjunto na fabricação de queijos artesanais pode contribuir para acelerar a estabilização da microbiota deste alimento evitando, assim, a formação de off-flavours e assegurando o atendimento aos padrões de qualidade, microbiológico e toxicológico, estabelecidos na legislação como a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 331/2019 e a Instrução Normativa (IN) 60/2019.

Outros tipos de laticínios têm sido utilizados como matriz na confecção de alimentos funcionais como requeijão cremoso, que consiste de um produto genuinamente brasileiro com características adequadas para veicular cepas de microrganismos probióticos. Neste contexto, Drunkler (2009) inovou com vistas a produção de uma formulação de requeijão cremoso simbiótico por meio da inoculação de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb-12 e compostos prebióticos como inulina e oligofrutose. Os resultados revelaram uma população de células viáveis em torno de $10^6$ UFC.$g^{-1}$ após 60 dias de armazenamento sob refrigeração. Ainda neste segmento, Souza *et al.*, (2020a), avaliaram o desenvolvimento de formulações de requeijão cremoso probiótico inoculando um "pool" de espécies de l*actobacillus* ($10^{10}$ a $10^{13}$ UFC. $g^{-1}$) Os resultados revelaram que após 65 dias a 5°C, as formulações avaliadas apresentaram redução nos níveis de células viáveis no máximo a três ciclos logarítmicos, além de apresentar características físico químicas e microbiológicas em conformidade com os padrões preconizados pela ANVISA (BRASIL, 2019). Resultados semelhantes foram reportados por Speranza *et al.* (2018), em uma formulação de *cream cheese* inoculada com *Bifidobacterium. animalis* subsp. *lactis* DSM 10140 e *L. reuteri* DSM 20016**,** armazenada por 28 dias sob refrigeração. De forma similar, Teixeira (2012), estudando requeijão cremoso inoculado com *L. acidophilus* e *B. bifidum*, verificou que as cepas utilizadas mantiveram a viabilidade celular estável após o período de armazenamento por 15 dias a 10 °C. Após esse período, foi observada uma redução na viabilidade da população

de *Lactobacillus* equivalente a dois ciclos logarítmicos, atingindo uma população de 4,0 x $10^7$ UFC.$g^{-1}$ e 2,0 x $10^8$ UFC.$g^{-1}$ de *B. bifidum.*

Estes resultados reforçam o potencial destes derivados lácteos como matriz adequada para carrear microrganismos probióticos. Drunkler (2009) e Souza *et al*., (2020a) demonstraram, por meio de caracterizações físico químicas e sensoriais, que as alterações resultantes do metabolismo das cepas probióticas não foram significativas o suficiente para descaracterizar as formulações desenvolvidas, as quais se mantiveram em conformidade com os padrões de qualidade estabelecidos pela legislação em vigor (BRASIL, 2019).

Considerando outros tipos de alimentos, relata-se o desenvolvimento de estudos envolvendo a incorporação de *L. acidophilus* e *B. lactis,* em sorvete confeccionado com leite de cabra conforme reportado por Akalin *et al.*, (2018), bem como chocolates contendo *L. paracasei* e *L. acidophilus* acrescido de inulina (KONAR *et al.*, 2018); queijo Minas Frescal contendo *L. acidophilus* LA 14 e *B. longum* BL 05 (LOLLO *et al.*, 2015), "cream cheese**"** contendo *B. animalis* subsp. Lactis DSM 10140 e *L. reuteri* DSM 20016 (SPERANZA *et al.*, 2017). Konar *et al.* (2018) estudaram como matriz chocolate branco sem açúcar inoculado com $10^9$ UFC.$g^{-1}$ de uma cepa de *L. paracasei* na etapa final do processo de fabricação e observaram nenhuma diminuição na viabilidade do probiótico durante 90 dias de armazenamento. Nestes trabalhos, os autores destacaram os respectivos alimentos como matrizes adequadas para incorporação e manutenção das culturas probióticas.

Dentre as principais cepas comerciais empregadas no desenvolvimento e produção de alimentos probióticos destacam-se espécies de bactérias lácticas dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus,* bem como espécies de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae,* oriundas dos processos de fermentação alcoólica nas usinas alcooleiras e cervejarias, a qual tem sido explorada como substituto de antibióticos na confecção de ração para as diferentes espécies de animais domésticos. Em atenção a *Saccharomyces boulardii,* originalmente isolada de lichia *e Kluyveromyces fragilis,* com destaque para a cepa BO 399 - Turval (TABANELLI *et al*. 2016), vale salientar suas propriedades funcionais específicas, principalmente, no controle de diarreias, bem como no sistema imunológico humano conforme reportado por Smith *et al*. (2016) e Homayouni-Rad *et al*., (2020), que concluíram que *K. marxianus* pode ser considerada uma

espécie probiótica promissora para ser explorada na confecção de preparações comerciais com aplicações nas áreas médica e alimentícia. Neste contexto, vários suplementos, contendo esta cepa probiótica, estão disponibilizados pela Turval Laboratories (https://turval.com/company) nos mercados norte-americanos e europeus, sendo algumas premiadas por inúmeras instituições.

De acordo com Oliveira *et al*. (2022), os sorvetes são considerados um alimento adequado para veicular cepas probióticas, tendo em vista suas características nutricionais aliadas à aceitação por parte da população das diferentes faixas etárias. Trabalhos envolvendo sorvetes probióticos têm sido reportados. Abghari *et al.* (2011), avaliaram a formulação de um sorvete não fermentado contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*, cujos resultados revelaram uma taxa de sobrevivência adequada das cepas avaliadas, bem como propriedades físico-químicas aceitáveis. Demonstram ainda que as propriedades probióticas das cepas avaliadas, como resistência à bile e ácidos, é dependente das condições de processamento e armazenamento do sorvete.

Prata *et al*., (2018) avaliaram a viabilidade celular de *Lactobacillus casei* veiculadas em sorvetes a base de leite sem lactose, além da variação do pH, proteína bruta e sólidos solúveis, bem como avaliação sensorial, tendo como controle sorvete sem inoculação. Os resultados revelaram que a contagem de células se manteve constante em 5,49 USF/g após os 45 dias de estocagem e não houve diferença significativa nos demais parâmetros avaliados quando comparados ao controle. A avaliação sensorial revelou uma boa aceitação tendo como respostas “gostei muito” e “gostei moderadamente” comprovando que o sorvete sem lactose apresenta potencial como veículo de culturas probióticas.

Uma outra formulação de sorvete foi avaliada por Silva *et al*. (2020) onde empregou-se como base leite fermentado com grãos de kefir por 24 horas, sendo incorporado na formulação geleia de frutas e pectina como espessante. A avaliação sensorial deste sorvete revelou que o emprego do kefir não conferiu características indesejáveis ao sorvete e que este pode ser comercializado como sorvete com propriedades probióticas. Ainda neste segmento, Leite (2021) avaliou a influência da matriz láctea para confecção de gelados comestíveis a base de leite fermentado ou não, com ou sem lactose. As 4 formulações desenvolvidas foram inoculadas com a cultura ABT-5 (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus*). Verificou-

se que, nas formulações avaliadas, a viabilidade celular se manteve acima de 6,0 log UFC/g para as cepas probióticas durante o período de armazenamento. No tocante à resistência ao trato gastrointestinal simulado, verificou-se que *L. acidophilus* La-5 não resistiu às condições estudadas. Por outro lado, *Bifidobacterium animalis* Bb-12 apresentou maior resistência nas formulações contendo lactose. Em relação a avaliação sensorial observou-se que não houve diferenças significativas entre as 4 formulações. Carneiro (2020) também desenvolveu uma formulação de sorvete probiótico com a proposta de utilizar co-produtos agroindustriais utilizando cascas do abacaxi, como ingrediente rico em fibras, no desenvolvimento de sorvete contendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 como agente probiótico. Verificou-se que a população de *L. rhamnosus* após 90 dias a -18° C foi de $10^8$ log UFC/mL para a formulação controle e de $10^9$ log UFC/mL para a formulação contendo a farinha da casca de abacaxi, demonstrando, assim, sua contribuição na manutenção da viabilidade celular. A análise sensorial revelou níveis de aceitação correspondentes a “gostei muito” e “gostei moderadamente".

Um outro alimento com potencial probiótico é o colostro bovino. O colostro é a primeira secreção produzida pelas glândulas mamárias após o parto e apresenta níveis nutricionais superiores em comparação aos encontrados no leite (GOMES, 2021; MARTINS *et al*., 2021). Durante os primeiros dias após o parto, observa-se uma variação significativa na composição do colostro no tocante ao valor nutritivo e propriedades funcionais. Este derivado é caracterizado como “leite de transição” (GUIMARÃES *et al.*, 2018) e apresenta alto teor de sólidos não gordurosos como proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais (MARTINS *et al*., 2021). Entre os nutrientes do colostro, pode-se destacar as imunoglobulinas, classe de proteínas que representa de 70 a 80% das proteínas totais de sua composição. As imunoglobulinas atuam como sinalizadores das células do sistema imunológico e dessa forma, auxiliam no combate às infecções e nas respostas inflamatórias. Outras proteínas encontradas no colostro são a lisozima, lactoferrina e lactoperoxidase, que apresentam ação bactericida e bacteriostática, com a finalidade de proteger o trato gastrointestinal do neonato (PUPPEL *et al*., 2019). A inclusão de colostro bovino como suplemento na alimentação humana tem sido avaliada por Arslan *et al.* (2021), com o objetivo de promover melhor desempenho de atletas, devido

à concentração elevada de imunoglobulinas. Outros possíveis benefícios, segundo os autores, são a recuperação de quadros clínicos de enterocolites e diarréia.

A utilização de colostro bovino e do leite de transição na alimentação humana é pouco explorada no Brasil devido à rápida deterioração de seus nutrientes, à regulamentação e às dificuldades tecnológicas no processo de coleta e armazenamento (GALDINO, 2021). Nesse sentido, dentre as técnicas de conservação que permitem a manutenção de suas características, está a "ensilagem" do colostro, que consiste na fermentação espontânea do colostro por 21 dias em temperatura ambiente, conforme descrito por Saafeld *et al*. (2013). Este processo permite a obtenção de um derivado rico em espécies de *Lactobacillus sp*. viáveis, sendo algumas com propriedades probióticas, mantendo os demais constituintes como proteínas, matéria seca e gordura semelhantes às do colostro *in natura*. Tendo em vista a ação da microbiota presente naturalmente no colostro, observa-se queda do pH e consequente inibição das espécies de microrganismos oportunistas (SAALFELD *et al*., 2016). Para comprovar a ação anti-patogênica do colostro fermentado, os autores inocularam o colostro bovino fresco com cepas patogênicas, a saber, *B. abortus*, *E. coli*, *L. interrogans*, *M. bovis*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. aureus.* Reportaram que o processo fermentativo ocorreu por 30 dias e que, após 7 dias, não foi observado crescimento das cepas *B. abortus*, *L. interrogans* e *M. bovis* e, após 14 dias de fermentação, não foi verificado crescimento de *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis* e *S. Typhimurium*. Relataram ainda que após 30 dias de fermentação foi verificado o desenvolvimento de *B. cereus* e bactérias lácticas, o que demonstra a eficácia da fermentação espontânea como técnica de conservação das propriedades funcionais do colostro.

A partir do colostro bovino fermentado naturalmente Vitola *et al.* (2018) isolaram e caracterizaram a cepa *Lactobacillus casei* CSL3, que posteriormente teve seu desempenho avaliado quando imobilizada em grãos de soja. Os resultados revelaram um aumento na população da referida cepa de 6,23 log UFC/g para 6,71 log UFC/g após 30 dias de armazenamento a 25°C. Assim, concluíram que a soja apresenta características adequadas para ser utilizada como suporte para imobilização de células, bem como apresenta em sua

composição substâncias com propriedades prebióticas, o que contribui para as suas propriedades funcionais.

O colostro bovino submetido ao processo de fermentação espontânea, pode ser utilizado para introduzir propriedades funcionais em derivados de leite. Neste contexto, Cardoso *et al.* (2019), inovaram ao introduzir colostro fermentado por 21 dias em 25°C no processo de fabricação de manteiga, coalhada e ricota. A análise sensorial destes derivados demonstrou boa aceitação com notas acima de 7 para as características de odor, textura e sabor. A utilização de colostro fermentado tem sido avaliada em outros alimentos como biscoitos salgados (ALVES *et al.*, 2013), queijos frescos e maturados (BARBOSA, 2020), iogurte simbiótico (SOUZA, 2015a) e balas de goma (BARTKIENE *et al.*, 2018).

Considerando as propriedades funcionais do colostro bovino, Pacini e Ruggiero (2017) idealizaram uma formulação de leite fermentado à base de culturas de kefir acrescentado de colostro. Neste processo verificaram a formação de compostos bioativos, com destaque para GcMAF (Glycoprotein Macrophage Activating Factor), que apresenta propriedades funcionais relevantes sobre o sistema imune em indivíduos acometidos por uma séria anormalidade. Assim, o efeito positivo da ação de GcMAF tem sido reportado em diversas situações conforme descrito por Pacini *et. al* (2011), Albrachat (2022), Pacini e Ruggiero (2019, 2020), Blythe e Pacini (2017). Considerando o sucesso apresentado pela formulação de leite fermentado a base de kefir e colostro, Pacini e Ruggiero criaram um kit que é comercializado como BRAVO.

Entretanto, desafios ainda são enfrentados pelo setor de lácteos fermentados, onde o incremento da acidez ao longo da vida de prateleira destes derivados é um fator limitante para estender a vida útil destes alimentos funcionais. Nesse contexto, a inclusão de prebióticos pode ser uma alternativa, conforme descrito por Buran *et al.* (2021), que avaliaram as características sensoriais e a viabilidade de *Lactobacillus acidophillus* e *Bifidobacterium bifidum* em um produto simbiótico desenvolvido em meio a base de leite de vaca, cabra e fruto-oligossacarídeos (FOS). Os autores reportaram que a viabilidade das referidas cepas após 28 dias de armazenamento foi superior quando se empregou leite de cabra e enfatizaram que a adição de FOS contribuiu de forma

significativa sobre a consistência do produto, bem como na viabilidade das referidas cepas.

Outro aspecto polêmico consiste na necessidade destas cepas estarem viáveis para propiciar benefícios à saúde do consumidor. Neste contexto, Vinderola; Sanders; Salminen (2022), têm demonstrado que a administração de preparações constituídas por células inativas de microrganismos, bem como alguns de seus constituintes celulares ou metabólitos, é capaz de conferir benefícios à saúde do hospedeiro. Assim, destaca-se que preparações probióticas disponíveis para consumo são constituídas de metabólitos, células ativas e células mortas, sendo que algumas das células ativas serão inativadas quando da passagem pelo TGI, desta forma, todos estes constituintes poderão conferir efeitos benéficos ao hospedeiro, os quais têm sido objeto de estudos visando elucidar os respectivos mecanismos de ação para explicar fisiologicamente e em nível humoral e celular a manifestação destes efeitos.

Em atenção ao critério proposto por Salminen *et al*. (2021b) no tocante a origem dos posbióticos, o estudo conduzido por Cardona *et al*. (2016) realizado em ratos e o estudo de Montané *et al*., (2017) realizado em humanos, demonstraram que a administração por via oral de uma preparação composta por células de *Mycobacterium manresensis,* térmicamente inativadas, conferiu efeitos positivos no que se refere ao impedimento da progressão inflamatória precursora da tuberculose ativa. Ambos Cardona *et al.* (2016) Montané *et al*., (2017) verificaram que a administração de células inativadas de *M. manresensis* acarretou em aumento significativo nas populações de células T efetoras e de memória específicas no combate de *Mycobacterium tuberculosis*, tanto em indivíduos acometidos por tuberculose latente quanto em indivíduos saudáveis.

## 2.2. Matrizes não-lácteas

Conforme mencionado anteriormente, matrizes lácteas, são matrizes adequadas para o desenvolvimento, bem como para incorporação de cepas probióticas, entretanto o mercado atual busca por alimentos funcionais confeccionados a partir de matrizes de origem não-láctea. Este comportamento está sustentado na crescente demanda por parte da população que não pode consumir derivados lácteos, seja por intolerâncias, alergias, estilo de vida

(veganos) entre outros. Assim, destaca-se neste segmento o desenvolvimento de formulações probióticas a partir de derivados cárneos e vegetais.

Sustentados nos respectivos conhecimentos e nos benefícios conferidos por preparações probióticas de base não láctea, principalmente no que se refere aos efeitos imunomoduladores, anti inflamatório e anti câncer (Zamberi *et al.*, 2016), Pacini; Ruggiero (2017) apresentaram um novo conceito de probiótico com vistas a modulação do sistema imunológico e propuseram o desenvolvimento de uma formulação probiótica de base não láctea, a qual encontra-se disponibilizada no mercado Europeu. Esta formulação consistiu da dissolução de 5 gramas de Sulfato de Condroitina Sódica (grau alimentar) em um litro de água acrescido de maltodextrina (prebiótico), 18 g de sacarose orgânica, 17 mL de suco de limão e 15 g de ameixa seca. Este meio foi inoculado com uma cultura de Bifidobacteria (80×109 células) e cepas de *Lactobacilos*, incluindo *L. rhamnosus*, seguido de incubação de 22°C por 24 h. Os resultados demonstraram elevada concentração celular das cepas probióticas e leveduras (Kluyveromyces *marxianus)* associada a uma população de cepas patogênicas em conformidade com os limites estabelecidos pela legislação. Assim, os autores concluíram que esta bebida pode ser considerada como um novo conceito de probiótico tendo em vista que as cepas empregadas normalmente não são encontradas em formulações não lácteas. Ressaltaram ainda o potencial que glicosaminoglicano e sulfato de condroitina como suplemento alimentar que, além de atuarem como prebiótico, apresentam propriedades funcionais relevantes à saúde humana.

Dentre os alimentos não-lácteos podemos destacar os cárneos, visto que as carnes cruas são ricas em nutrientes e apresentam micro-organismos naturalmente encontrados no ambiente e nos animais, incluindo micro-organismos potencialmente patogênicos, como *E. coli* e *Salmonella sp*. Esses micro-organismos migram da pele, linfonodos ou intestinos do animal abatido durante o manuseio da carcaça no abatedouro ou entre as peças nas “casas de carne” (FELIX, 2020). Apesar dos cuidados e das boas práticas de manuseio e fabricação, a carne crua não é um alimento biologicamente seguro. Por esse motivo, o processo de fermentação de carnes foi empregado por diversas culturas na conservação do alimento por meio da acidificação. A adição de probióticos no processamento de derivados cárneos pode auxiliar na

manutenção da estabilidade físico, química e microbiológica durante o armazenamento, conforme reportado por Trabelsi *et al*. (2019). Estes autores inocularam cepas de *L. plantarum* à carne bovina moída e avaliaram a oxidação de lipídios e degradação de proteínas em amostras armazenadas durante 10 dias a 4 °C. Os resultados apontaram que a cepa probiótica agiu como agente bioprotetor, pois as amostras que receberam a cepa de *L. plantarum* apresentaram textura e cor preservadas após 10 dias de refrigeração.

Dentre as técnicas de preparo e armazenamento de carnes destaca-se a "marinada", que consiste em manter a carne em uma solução contendo sal, agente acidulante e condimentos, com vistas a melhorar as características sensoriais da carne. Neste sentido Gargi; Sengun (2021), avaliaram a influência de cepas *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* sobre as propriedades sensoriais de carne bovina marinada por 48 h a 4°C. Os resultados revelaram melhoras nas propriedades sensoriais da carne, e redução de até 50% da viabilidade de bactérias potencialmente patogênicas como *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Typhimurium* que comumente estão presentes na carne crua. Estes resultados se devem à ação das cepas probióticas avaliadas por meio da produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas.

O nitrito é um aditivo responsável por inibir o crescimento de patógenos e conferir cor avermelhada aos derivados cárneos embutidos. Sua adição é regulada de forma rígida pois é uma substância com potencial carcinogênico (OLIVEIRA *et al.*, 2021). Dessa forma, na busca por substitutos e considerando a capacidade de *L. plantarum* de produzir as enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, Sirini *et al.* (2021) e Zhu; Guo; Yang (2020) avaliaram o desempenho de cepas de *L. plantarum* em baixos níveis de nitrito na fabricação de salsichas e outros embutidos e sugeriram que essas cepas probióticas podem ser importantes ferramentas para o desenvolvimento de formulações com menores níveis de nitrito.

Uma outra alternativa, no tocante às matrizes não lácteas, consiste no desenvolvimento de formulações probióticas em base vegetal. Assim, a fermentação para conservação de vegetais é uma prática antiga e incorporada por diversas culturas, gerando produtos como chucrute, picles, dentre outros. De acordo com Campos *et al*. (2020), esses produtos são uma importante forma de incorporar probióticos na alimentação humana, graças à interação simbiótica de

microrganismos com as estruturas vegetais, especialmente com aquelas denominadas prebióticos. Prebióticos são fibras que suportam o desenvolvimento de microrganismos presentes no intestino, favorecendo a atividade metabólica dos mesmos. Segundo Cosme; Inês; Vilela (2021), os prebióticos geralmente são carboidratos não digeríveis de baixa massa molecular, intermediários entre açúcares simples e polissacarídeos. Os Frutooligossacarídeos (FOS) e Galacto-oligossacarídeos (GOS) são os principais prebióticos de origem vegetal; no entanto, alguns outros compostos foram descritos como prebióticos, como o amido resistente, inulina e manano-oligossacarídeos (MOS), sendo este isolado da parede celular de leveduras.

As leveduras são amplamente utilizadas na fermentação de uma gama enorme de bebidas, com ênfase para cerveja. Assim, com o objetivo de produzir cerveja probiótica, Mendonça (2021) descreveu a elaboração de cerveja artesanal formulada com emprego da levedura *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii. Observou-se que* a fermentação ocorreu de forma mais lenta quando comparada à fermentação convencional com *S. pastorianus*, no entanto, a cerveja apresentou células viáveis de *S. cerevisiae* var. *boulardii* após 20 dias de estocagem sob refrigeração. Resultados semelhantes foram reportados por De Paula *et al*. (2021), que observaram que, após 60 dias de armazenamento em 0°C, a cerveja apresentou uma população de células viáveis equivalente a 6 milhões UFC/mL. Concluíram que novos estudos são necessários para otimizar as condições de fermentação e armazenagem com a finalidade de garantir a viabilidade das cepas probióticas.

Com o objetivo de avaliar a ação de probióticos em chá, Wang *et al*. (2022) inocularam cepas de *S. boulardii* e *L. plantarum* em infusões da planta *Camellia sinensis*, conhecida como “chá da Índia”. Após dois dias de fermentação em 31°C, os autores descreveram que a bebida fermentada apresentou aromas frutais e mentolados realçados, sugerindo que a interação entre a levedura e a bactéria láctica produz compostos aromáticos capazes de conferir características agradáveis ao chá probiótico.

Outra linha de produtos de base não-láctea consiste no desenvolvimento de formulações de sorvetes a base de extrato solúvel de soja. Neste contexto, Fernandez (2015) desenvolveu formulações de sorvete à base de extrato solúvel de soja de diferentes origens, nas quais foram avaliadas as cepas *Lactobacillus*

*delbrueckii* UFV H2B20, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356*, Lactobacillus casei* ATCC 7469*, Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 e *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. A formulação utilizando *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2B20 apresentou melhor desempenho na produção de ácido láctica comparado às demais cepas e em relação às células viáveis apresentou alta concentração inicial ($10^9$ UFC/mL), a qual apresentou uma queda inferior a um ciclo logarítmico após 150 dias de armazenamento. Esta formulação também apresentou boa aceitação por parte dos provadores. Estes resultados demonstram que derivados de soja são uma opção viável para substituir o leite na confecção de alimentos como sorvetes e outros alimentos funcionais. Alves (2022) avaliou os fatores que influenciam na escolha entre sorvete e picolé e concluiu que o sorvete é o alimento gelado preferido pelos entrevistados, sendo, portanto, um ótimo veículo para incorporar cepas probióticas.

Entretanto, entre os desafios para se incorporar cepas probióticas em alimentos, especialmente aqueles de base não-láctea, consiste na manutenção da viabilidade celular para que o mesmo possa ser caracterizado como probiótico. Desta forma, técnica como a encapsulação surge na área dos probióticos como uma alternativa para melhorar as suas características no que se refere a resistência a condições adversas como passagem pelo trato gastrintestinal, tempo de armazenamento, resistência térmica entre outros (REQUE; BRANDELLI, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2020). Diversas técnicas são utilizadas visando proteger estes microrganismos por meio do seu envolvimento em um ou mais materiais encapsulantes também denominados de material de parede. Estes permitem a formação de uma “cápsula” capaz de proteger os microrganismos contidos em seu interior, as condições estomacais, e promover a sua liberação, no caso de probióticos, no intestino. O sucesso desta técnica depende de fatores como o objetivo de proteção, presença de estresse térmico, longo tempo de armazenamento, bem como a passagem pelo trato gastrointestinal. Assim, pode se variar tamanho da cápsula (3 a 800µm) ou até mesmo nanocápsulas (10 a 1000 nm) e também seu poder protetor que vai depender do tipo de material encapsulante e demais parâmetros técnicos (REQUE; BRANDELLI, 2021; SARAO; ARORA, 2017).

Alguns autores classificam a técnica de microencapsulação em três categorias (extrusão, emulsão e desidratação), compreendendo três etapas,

sendo primeiramente a incorporação do material ativo a ser encapsulado a uma matriz sólida. Nesta etapa ocorrem fenômenos como aglomeração ou adsorção e no caso de a incorporação ocorrer em matriz líquida observa-se a emulsão e desidratação. Na segunda etapa esta matriz envolvendo o microrganismo e o material encapsulante é pulverizada (matriz sólida) ou dispersa (matriz líquida) e por fim na terceira etapa ocorre a estabilização do sistema por meio de um processo podendo ser físico (evaporação, solidificação ou coalescência) ou químico (polimerização) ou ainda físico-químico (gelificação), (CASSANI; GOMEZ-ZAVAGLIA; SIMAL-GANDARA, 2020; REQUE; BRANDELLI, 2021).

A escolha da técnica é importante, mas a escolha dos materiais encapsulantes tem total influência no sucesso do processo, pois irá interferir em várias características como tamanho de partícula, nível de proteção oferecido entre outros. Muitos estudos utilizam a combinação de vários materiais e até mesmo utilizam técnicas de multicamadas combinados por um ou mais técnicas diferentes envolvidos, por exemplo, emulsão e *spray drying* (DE ARAÚJO ETCHEPARE *et al.*, 2020; PITIGRAISORN *et al*., 2017). Sendo estas escolhas pautadas no objetivo geral da microencapsulação de probióticos que é proteger e propiciar viabilidade celular para que os benefícios sejam alcançados (TRIPATHI; GIRI, 2014).

**Tabela 1**. Microencapsulação de cepas probióticas por diferentes técnicas e material encapsulante para diferentes finalidades.

| Cepa | Técnica | Material | Finalidade | Referência |
|---|---|---|---|---|
| *L. lactis* R7 | Spray drying | Soro de queijo e inulina | Armazenamento, TGI e térmico | (ROSOLEN *et al.*, 2019) |
| *L. acidophilus* | Extrusão/gelificação iônica externa | Alginato de cálcio e proteínas do soro de queijo | Armazenamento, TGI e térmico | (DE ARAÚJO ETCHEPARE *et al.*, 2020) |
| *L. paracasei* KS-199 | Eletrofiação | Alginato | TGI | (YILMAZ *et al.*, 2020) |
| *L. plantarum* TISTR | Extrusão | Alginato de sódio e proteína isolada de soja | Térmico | (PRAEPANITCHAI *et al.*, 2019) |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *L. acidophilus* NRRL B-4495 e *L. plantarum* ATCC-14917 | Emulsão | Goma de tragacanto e amido de sagu | Cozimento e armazenamento | (GHASEMI *et al.*, 2022) |
| *L. acidophilus* PTCC 1643 e *B. bifidum* PTCC 1644 | Gelificação interna | Alginato de sódio | Armazenamento | (MOKHTARI; JAFARI; KHOMEIRI, 2019) |
| *L. acidophilus* La-5 | Spray drying | Inulina, hi-maize e trealose | Armazenamento, térmico e TGI | (NUNES *et al.*, 2018) |
| *L. plantarum* CECT 220 | Coacervação seguida de spray drying | Proteína isolada de soja | TGI | (GONZÁLEZ-FERRERO *et al.*, 2020) |
| *B. longum* BL-05 | Extrusão e gelificação iônica | Proteína de soro e pectina | Armazenamento e TGI | (YASMIN *et al.*, 2019) |
| *L. plantarum* PTCC 1896™ | Eletrospray | Ca-alginato/quitosana e inulina ou amido resistente | Armazenamento | (ZAEIM *et al.*, 2020) |
| *L. rhamnosus* HN001 | Spray drying | Goma arábica e maltodextrina | TGI | (BARAJAS-ÁLVAREZ; GONZÁLEZ-ÁVILA; ESPINOSA-ANDREWS, 2022) |
| *L. rhamnosus, L. casei* e *L. plantarum* | Spray drying | Suco de acerola e ceriguela | Eficiência de encapsulação | (SOUZA *et al.*, 2020b) |
| *L. delbrueckii* UFV H2B20 | Emulsificação e gelificação ionotrópica | Alginato e farinhas de banana verde, maracujá, feijão branco, maçã e laranja | Eficiência de encapsulação e TGI | (SOUZA, 2015b) |

Dentre as técnicas utilizadas para a microencapsulação de probióticos, a técnica de *spray drying* ou atomização, que consiste em desidratar uma solução contendo a cepa probiótica e o material encapsulante. Esta por sua vez é injetada no *spray dryer*, equipamento composto por uma câmara principal com temperatura de entrada, fluxo de ar e fluxo de injeção da solução controlados. Esta temperatura geralmente é de pelo menos 100°C para que ocorra a

desidratação do produto em questão, levando a evaporação da água e obtenção dos sólidos em pó que será coletado em uma segunda câmara (NUNES; MARQUES; HOLKEM, 2015). A principal vantagem da atomização é seu baixo custo quando comparado a outras técnicas como a liofilização e como desvantagem pode-se citar o emprego de altas temperaturas, o qual pode levar a morte do microrganismo (ECKERT *et al*., 2017; MARTÍN *et al*., 2015).

A escolha do material de parede ou encapsulante é fundamental para promover a proteção desejada, pois pode proporcionar o acúmulo de nutrientes para o microrganismo como aminoácidos e carboidratos que compensam a redução da atividade de água e pressão osmótica que ocorrem durante o processo de secagem, minimizando os danos celulares (HUANG *et al*., 2017). Rosolen *et al.* (2019) utilizaram a combinação de um material proteico (soro de queijo) e prebiótico (inulina) para microencapsular células de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 por atomização. A combinação do prebiótico e probiótico na microcápsula rendeu o status de simbiótica a microcápsula produzida neste estudo, que demonstrou ótimos resultados nos testes in vitro como passagem simulada ao trato gastrointestinal, resistência térmica (60, 65 e 70°C), armazenamento (180 dias) e uma eficiência de encapsulação de 94%. Os autores relataram que a combinação avaliada é adequada para aplicação em alimentos. Assim, Rosolen et al. (2022) avaliaram a aplicação desta microcápsula em três diferentes matrizes alimentares (leite, creme de leite e suco de mirtilo) observando que a viabilidade das células probióticas foi mantida no armazenamento por 28 dias em 4°C.

Independente da técnica, o parâmetro eficiência de encapsulação (EE%) é fundamental e deve ser avaliado, pois se baseia na determinação da viabilidade celular antes e após o processo, demonstrando o grau de sucesso da escolha de técnica/parâmetros/material. Souza (2015b) obteve 80% de eficiência de encapsulação utilizando a técnica de emulsificação em alginato e diferentes tipos de farinhas (banana verde, maracujá, feijão branco, maçã e laranja) para microencapsular *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2B20. Entretanto, uma boa eficiência não é garantia de sucesso nos testes como passagem pelo trato gastrintestinal (TGI) ou ao armazenamento. Assim, embora o autor tenha obtido 80% de EE% com todas as farinhas avaliadas, obteve viabilidade mínima probiótica no teste relativo ao trato gastrointestinal simulado apenas quando

utilizou as farinhas de maracujá e banana verde (>77% de sobrevivência) como material encapsulante. Estas foram escolhidas para prosseguir a pesquisa sendo combinadas a inulina, que por sua vez não demonstrou incremento da viabilidade celular a passagem pelo trato gastrointestinal, mas propiciou sobrevivência >90% quando armazenadas a 4°C e >96% quando adicionadas em sorvete (-18°C).

A aplicação destas microcápsulas em alimentos deve atender a vários critérios, como status GRAS (Geralmente Seguro para o Uso) do microrganismo e dos materiais de parede, tamanho da microcápsula para que não ocorra interferência negativa nas características sensoriais do alimento, além do custo, local de liberação direcionado e aplicabilidade (ABD EL KADER; ABU HASHISH, 2020; ILHA *et al*., 2015; ROSOLEN *et al*., 2019).

## 3. Conclusão

É sabido que a manutenção de uma microbiota equilibrada é fator preponderante para garantir uma qualidade de vida saudável, tendo em vista os diferentes mecanismos de ação das cepas probióticas. Neste contexto, destaca-se a importância destas espécies na manutenção do sistema imunológico, além de desempenhar papel fundamental no eixo cérebro-intestino e demais funções que conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Assim, para a manutenção de uma microbiota equilibrada é fundamental o consumo de alimentos funcionais, cujas inovações nas técnicas de obtenção foram focadas neste capítulo, com ênfase para os alimentos funcionais não convencionais.

## 4. Referências

ABBAS, M. S.; SAEED, F.; AFZAAL, M.; JIANFENG, L.; HUSSAIN, M.; IKRAM, A.; JABEEN, A. Recent trends in encapsulation of probiotics in dairy and beverage: A review. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. December 2021, p. 1–16, 2022. https://doi.org/10.1111/jfpp.16689

ABD EL KADER, A. E.; ABU HASHISH, H. M. Encapsulation Techniques of Food Bioproduct. **Egyptian Journal of Chemistry**, [*s. l.*], v. 63, n. 5, p. 1881–1909, 2020. https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.16269.1993

ABGHARI, Ali e SHEIKH-ZEINODDIN, Mahmoud e SOLEIMANIAN-ZAD, Sabihe. Nonfermented ice cream as a carrier for Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus rhamnosus. **International Journal of Food Science and**

**Technology**, v. 46, p. 84–92, 2011. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02453.x.

AKALIN, A. S. et al. Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 1, p. 37-46, 2018.https://doi.org/10.3168/jds.2017-13468

ALVES, Arthur Maurício Souza. **Análise de perfil dos consumidores de sorvetes e picolés profile analysis of ice cream and popsicle**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Uberlândia p. 1–15, 2022.

ALVES, Mariane I. G. et al. **Características nutricionais, microbiológicas e de aceitação de biscoito salgado à base de silagem de colostro**. In: Anais do XXII Congresso de Iniciação Científica - Universidade Federal de Pelotas, 2013. p. 3–6. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2013/CA_02615.pdf. Acesso em 02 jun. 2022

ALBRACHAT, S P I Immunotherapy with GcMAF revisited - A critical overview of the research Nobuto Yamamoto. **Cancer Treatment and Research Communications**, v.3, 2022.https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2022.100537

ARSLAN, Ayşenur et al. Bovine colostrum and Its potential for human health and nutrition. **Frontiers in Nutrition**, p. 350, 2021. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.651721

BARAJAS-ÁLVAREZ, P.; GONZÁLEZ-ÁVILA, M.; ESPINOSA-ANDREWS, H. Microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 by spray drying and its evaluation under gastrointestinal and storage conditions. **LWT**, [*s. l.*], v. 153, p. 112485, 2022. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112485

BARBOSA, Idiana de Macedo. **Utilização do colostro bovino na produção de queijos**. Dissertação de Mestrado. Macaíba: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2020.

BARTKIENE, E. *et al*. Development of antimicrobial gummy candies with addition of bovine colostrum, essential oils and probiotics. **International Journal of Food Science and Technology,** v. 53, n. 5, p. 1227–1235, 2018. https://doi.org/10.1111/ijfs.13701

BERGAMINI, C. V. et al. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**, v.38, n.5, p.597-604, 2005. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.013

BISWAS, G. et al. Cytokine responses in the Japanese pufferfish (*Takifugu rubripes*) head kidney cells induced with heat-killed probiotics isolated from the Mongolian dairy products. **Fish & Shellfish Immunology**, v.34, n.5, p.1170-1177, 2013. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.024

Blythe J and Pacini S. Case report: intermittent fastingand probiotic yogurt consumption are associated with reduction of serum alpha-

N-acetylgalactosaminidase and increased urinary excretion of lipophilic toxicants, 2017. https://doi.org/10.1101/177774

BRASIL (2019a). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. **Padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356

BRASIL (2019b). Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n° 31, de 26 de dezembro de 2019, dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF

BURAN, İ.; AKAL, C.; OZTURKOGLU-BUDAK, S.; YETISEMIYEN, A. Rheological, sensorial and volatile profiles of synbiotic kefirs produced from cow and goat milk containing varied probiotics in combination with fructooligosaccharide. **Lwt**, v. 148, n. April, 2021. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111591.

CAMPOS, Priscilla Araújo et al. CAPÍTULO 3-PRODUTOS DE ORIGEM VEGETAL CONTENDO BACTÉRIAS PROBIÓTICAS COM ÊNFASE EM VEGETAIS FERMENTADOS. **Contribuições para a Área de Alimentos: Experiências do Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Rio Pomba**, p. 37.ISBN: 978-65-87185-11-8

CASSANI, L.; GOMEZ-ZAVAGLIA, A.; SIMAL-GANDARA, J. Technological strategies ensuring the safe arrival of beneficial microorganisms to the gut: From food processing and storage to their passage through the gastrointestinal tract. **Food Research International**, [*s. l.*], v. 129, n. August 2019, p. 108852, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108852.

CASAROTTI, S. N. et al. In vitro assessment of safety and probiotic potential characteristics of *Lactobacillus strains* isolated from water buffalo mozzarella cheese. **Annals of Microbiology**, v.67, n.1, p.289-301, 2017. https://doi.org/10.1007/s13213-017-1258-2.

CARDONA, P. et al. Oral administration of heat-killed *Mycobacterium manresensis* delays progression toward active tuberculosis in C3HeB/FeJ mice. **Frontiers in microbiology**, v.6, n.1, p.4-7, 2016. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01482

CARDOSO, G. H. M. et al. PRODUÇÃO DE SILAGEM DE COLOSTRO BOVINO E AS POTENCIALIDADES DE SEU USO EM DIFERENTES RECEITAS. **Tekhne e Logos**, v. 10, n. 3, p. 36-44, 2019. Disponível em: <http://www.tjyybjb.ac.cn/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=9987>.

CARNEIRO, Walkeane dos Dantos Felismino Rocha. **Aproveitamento da farinha de casca de abacaxi Ananas comosus (L.) Merril para elaboração de sorvete funcional probiótico**. 2020. 85 f. 2020.

COSME, F.; INÊS, A.; VILELA, A. Aceitabilidade do consumidor e consciência de saúde de probióticos e prebióticos de produtos não lácteos. **Food Research International**, v. 151, p. 110842, 2022.

DE ARAÚJO ETCHEPARE, M. *et al.* Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins. **Lwt**, [*s. l.*], v. 117, n. September 2019, p. 108601, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108601.

DE PAULA, Breno Pereira et al. Technological features of Saccharomyces cerevisiae var. boulardii for potential probiotic wheat beer development. **LWT**, v. 135, p. 110233, 2021. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110233

DIMIDI, E. et al. Fermented foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. **Nutrients**, v.11, n.8, 1806, 2019. https://doi.org/10.3390%2Fnu11081806

DINAN, T. G.; STANTON, C.; CRYAN, J. F. Psychobiotics: A novel class of psychotropic. **Biological Psychiatry**, v.74, n.10, p.720-726, 2013. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.001

DRUNKLER, D. A. (2009). ***Produção de requeijão cremoso simbiótico***. (Tese Doutorado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil). Obtido em. Retrieved from http://www.posalim.ufpr.br/Pesquisa/pdf/DeisyADrunkler.pdf

ECKERT, C. *et al.* Microencapsulation of Lactobacillus plantarum ATCC 8014 through spray drying and using dairy whey as wall materials. **LWT - Food Science and Technology**, [*s. l.*], v. 82, p. 176–183, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.045.

FELIX, D. C. **Ocorrência de contaminação em carcaças bovinas durante o processamento em abatedouro frigorífico**.Dissertação, Universidade Estadual de Goiás, 2020. Disponível em: https://www.bdtd.ueg.br/handle/tede/664

FERNANDEZ, L. C. **Desenvolvimento de sorvetes probióticos à base de extrato solúvel de soja**. Dissertação - Unversidade de São Paulo, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS AND WHO WORKING GROUP. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. [s. l.], p. 1–11, 2002. Disponível em: <http://www.fao.org/es/ESN/Probio/probio.htm>

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science.** 2nd ed. New York: Springer. 2017. 799p. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9

FOX, P. F.; UNIACKE-LOWE, T.; MCSWEENEY, P. L. H.; O'MAHONY, J. A. Chemistry and Biochemistry of Cheese. In: FOX, P. F.; UNIACKE-LOWE, T.; MCSWEENEY, P. L. H.; O'MAHONY, J. A. **Dairy Chemistry and Biochemistry.** 2nd ed. Switzerland: Springer International Publishing. 2015. 499-546. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2

FUSCO, V. *et al*. Autochthonous and probiotic lactic acid bacteria employed for production of “Advanced Traditional Cheeses”. **Foods**, v.8, n.9, p.1-17, 2019 https://doi.org/10.3390%2Ffoods8090412

GALDINO, A. B. S. **Inserção do colostro bovino e seus derivados na alimentação humana: benefícios para a saúde, desafios e elaboração de um produto**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2021.

GARGI, A.; SENGUN, I. Y. Marination liquids enriched with probiotics and their inactivation effects against food-borne pathogens inoculated on meat. **Meat Science**, v. 182, n. July, p. 108624, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108624>.

GHASEMI, L. *et al*. The effects of encapsulated probiotic bacteria on the physicochemical properties, staling, and viability of probiotic bacteria in gluten-free bread. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. e16359, 2022. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfpp.16359.

GIBSON, G. R. *et al*. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.14, n.1, p.491-502, 2017. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75

GOMES, R. D. S. **Perfil de ácidos graxos em colostro bovino de diferentes ordenhas e iogurtes do tipo grego formulados com colostro**. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

GONZÁLEZ-FERRERO, C. *et al.* Encapsulation of probiotics in soybean protein-based microparticles preserves viable cell concentration in foods all along the production and storage processes. **Journal of Microencapsulation**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 242–253, 2020.

GUIMARÃES, F. *et al*. Seleção de bactérias láticas com potencial probiótico provenientes do leite de transição bovino fermentado. **Interciência**, v. 43, n. 2, p. 132–136, 2018.

HOMAYOUNI, A. *et al*. Cheese as a potential food carrier to deliver probiotic microorganisms into the human gut: A review**. Current Nutrition & Food Science**, v.16, n.1, p.15-28, 2020. DOI: 10.2174/1573401314666180817101526

HOMAYOUNI-RAD, A. *et al*. Kluyveromyces marxianus as a probiotic yeast: A mini-review. **Current Nutrition & Food Science**, v. 16, n. 8, p. 1163-1169, 2020. https://doi.org/10.2174/1573401316666200217113230

HUANG, S. *et al.* Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends in Food Science and Technology**, [*s. l.*], v. 63, p. 1–17, 2017. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.007

HSIEH, F. *et al*. Heat-killed and live *Lactobacillus reuteri* GMNL-263 exhibit similar effects on improving metabolic functions in high-fat diet-induced obese rats. **Food and Function**, v.7, n.1, p.2374-2388, 2016. https://doi.org/10.1039/C5FO01396H

ILHA, E. C. *et al. Lactobacillus paracasei* isolated from grape sourdough: acid, bile, salt, and heat tolerance after spray drying with skim milk and cheese whey. **European Food Research and Technology**, [*s. l.*], v. 240, n. 5, p. 977–984, 2015. https://doi.org/10.1007/s00217-014-2402-x

JABBARI, V. *et al*. *Lactobacillus plantarum* as a probiotic potential from Kouzeh cheese (traditional iranian cheese) and Its antimicrobial activity. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v.9, n.1, p.189-193, 2017. https://doi.org/10.1007/s12602-017-9255-0

JANG, H. J. Antioxidant effects of live and heat-killed probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln1 isolated from kimchi. **Journal of Food Science and Technology**, v.55, n.1, p.3174-3180, 2018. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3245-4

JERONYMO-CENEVIVA, A. B. *et al*. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from water-buffalo mozzarella cheese. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v.6, n.1, p.141-156, 2014. https://doi.org/10.1007/s12602-014-9166-2

KONAR, N. *et al*. Conventional and sugar-free probiotic white chocolate: Effect of inulin DP on various quality properties and viability of probiotics. **Journal of Functional Foods**, v. 43, p. 206-213, 2018. https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.016

LANGA, S. *et al*. Development of multi-strain probiotic cheese: Nisin production in food and gut. **LWT**, v.148, n.1, p.1-8, 2021.https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111706

LEEUWENDAAL, N. K. *et al*. Protection of candidate probiotic lactobacilli by Cheddar cheese matrix during simulated gastrointestinal digestion. **Journal of Functional Foods**, v.92, n.1, p.1-9, 2022. https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105042

LEITE, M. S. **Influência da matriz de gelado comestível sobre o comportamento e a sobrevivência de cepas probióticas a condições do trato gastrointestinal simuladas in vitro**. 2021. Universidade de São Paulo, 2021.

LI, N. *et al*. Live and heat-killed *Lactobacillus rhamnosus* GG: Effects on proinflammatory and anti-inflammatory cytokines/chemokines in gastrostomy-fed infant rats. **Pediatric Research**, v.66, n.1, p.203-207, 2009. https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181aabd4f

LOLLO, P. C.B *et al*. Hypertension parameters are attenuated by the continuous consumption of probiotic Minas cheese. **Food Research International**, v. 76, p. 611-617, 2015.https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.015

MAEHATA, H. *et al*. Immuno-modulation by heat-killed *Lacticaseibacillus paracasei* MCC1849 and its application to food products. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v35, n.1, 2021. https://doi.org/10.1177/20587384211008291

MARGALHO, L. P. *et al*. Biopreservation and probiotic potential of a large set of lactic acid bacteria isolated from Brazilian artisanal cheeses: From screening to in product approach. **Microbiological Research**, v.242, n.1, p.1-12, 2021. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126622

MARTÍN, M. J. *et al.* Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], v. 27, p. 15–25, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.010.

MARTINS, Fernanda Antunes et al. **Características físico-químicas e perfil microbiano do leite de transição bovino in natura e fermentado em diferentes períodos**. Medicina Veterinária (UFRPE), v. 15, n. 4, p. 388-395, 2021.

MENDONÇA, A. **Emprego de Saccharomyces cerevisiae var. boulardii no processo de elaboração de cervejas com potencial probiótico.** Monografia. Bento Gonçalves: Universidade Estadual do Rio Grande do Sul; 2021.

MOKHTARI, S.; JAFARI, S. M.; KHOMEIRI, M. Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. **Food Science and Technology International**, [*s. l.*], v. 25, n. 2, p. 120–129, 2019. https://doi.org/10.1177/1082013218801113

MONTANÉ, E. *et al*. Pilot, double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial of the supplement food Nyaditum resae® in adults with or without latent TB infection: Safety and immunogenicity. **PLOS One**, v12, n.2, p.1-20, 2017. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171294.

NUNES, G. L. *et al.* Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, [*s. l.*], v. 89, n. October 2017, p. 128–133, 2018.https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.032

NUNES, G. L.; MARQUES, T.; HOLKEM, A. T. Microencapsulation of probiotic cultures: principles of spray drying method.**Biointerface Research in Applied Chemistry**, p. 132–141, 2015. https://doi.org/10.33263/briac114.1122111232

OLIVEIRA, M. A. R. S. *et al*. Sorvetes Probióticos: Tecnologia, Importância E Perspectivas Para O Futuro. Recima21 - Revista Científica Multidisciplinar ISSN 2675-6218, p. 1–15, 2022. Disponível em: <https://www.recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/778/685>.

OLIVEIRA, W. A. *et al*. Potentially probiotic or postbiotic pre-converted nitrite from celery produced by an axenic culture system with probiotic lacticaseibacilli strain. **Meat Science**, v. 174, n. October 2020, 2021. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108408

OLIVEIRA, S. P. P. Características físico-químicas de queijo minas artesanal do serro fabricados com pingo e com rala. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes,** v.73, n.4, p.235-244, 2018. https://doi.org/10.14295/2238-6416.v73i4.717.

PACINI, S., T. PUNZI, G. MORUCCI; M. RUGGIERO. Macrophages of the Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT) as key elements of the immune response to vitamin D binding protein-macrophage activating factor. Ital. **J. Anat. Embryol.**, 116: 136-136, 2011. https://doi.org/10.13128/IJAE-10160

PACINI S.; RUGGIERO, M. Description of a Novel Probiotic Concept: Implications for the Modulation of the Immune System. **American Journal of Immunology,** 2017.https://doi.org/10.3844/ajisp.2017.107.113

PACINI S.; RUGGIERO M. Natural Plasmids in a Swiss Fermented Milk and Colostrum Product assessed by Microbiome Array. **Madridge J Immunol**. ISSN: 2638-2024 Volume 3 • Issue 2 • 1000123. 2019

PACINI S AND RUGGIERO M. Phage composition of a fermented and colostrum product assessed by microbiome array; putative role of open reading frames in referencetocell signaling and neurological development. 2020. https://doi.org/10.1101/714154

PEHRSON, M. E. S. F. et al. Incorporation of multi-strain probiotic preparation in a traditional. Brazilian cheese: effects on microbiological safety and bacterial community, **Journal of Food Research**, n.9, v.1, p.1-10. 2020. https://doi.org/10.5539/jfr.v9n1p1

PITIGRAISORN, P. *et al.* Encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in moist-heat-resistant multilayered microcapsules. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], v. 192, p. 11–18, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.07.022.

PRAEPANITCHAI, O. A. *et al.* Survival and Behavior of Encapsulated Probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in Calcium-Alginate-Soy Protein Isolate-Based Hydrogel Beads in Different Processing Conditions (pH and Temperature) and in Pasteurized Mango Juice. **BioMed Research International**, [*s. l.*], v. 2019, n. 3, 2019.https://doi.org/10.1155/2019/9768152

PRATA, Bianca Mendonça; e colab. **Viabilidade de Lactobacillus casei em sorvete sem lactose e avaliação das características físico-químicas e sensoriais**. Revista Brasileira de ciencias, tecnologia e Inovação, v. 3, p. 69–78, 2018.

Probiotics Market by Application (Functional Food & Beverages (Dairy Products, Non-dairy Beverages, Infant Formula, Cereals), Dietary Supplements, Feed), Ingredient (Bacteria, Yeast), Form (Dry, Liquid), End User, & Region - Global Forecast to 2026. **Markets and Markets**, 2022. Disponível em:https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market advanced-technologies-and-global-market-69.html. (Acesso em 10 jun. 2022).

PUPPEL, Kamila et al. Composição e fatores que afetam a qualidade do colostro bovino: uma revisão. **Animais**, v. 9, n. 12, pág. 1070, 2019.

REQUE, P. M.; BRANDELLI, A. Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. **Trends in Food Science & Technology**, [*s. l.*], v. 114, p. 1–10, 2021.https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022

RODRIGUES, F. J. *et al.* Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review. **Food Research International**, [*s. l.*], v. 137, p. 109682, 2020.https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109682

ROSOLEN, M. D. *et al.* Survival of Microencapsulated *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* R7 Applied in Different Food Matrices. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [*s. l.*], v. 194, n. 5, p. 2135–2150, 2022.https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1038341/v1

ROSOLEN, M. D. *et al.* Symbiotic microencapsulation of Lactococcus lactis subsp. lactis R7 using whey and inulin by spray drying. **Lwt**, v. 115, n. January, p. 108411, 2019. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108411.

SAALFELD, M. H. et al. Effect of anaerobic bovine colostrum fermentation on bacteria growth inhibition. **Ciencia Rural**, v. 46, n. 12, p. 2152–2157, 2016. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160393

SALMINEN, S. et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.18, n.1, p.649-667, 2021a. https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6

SALMINEN, S. et al. Reply to: Postbiotics — when simplification fails to clarify. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.18, n.1, p.827-828, 2021b. https://doi.org/10.1038/s41575-021-00522-5

SARAO, L. K.; ARORA, M. Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [*s. l.*], v. 57, n. 2, p. 344–371, 2017.https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055

SILVA, Morhana Santos e colab. **Sorvete de kefir saborizado com geléia de maracujá**. Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, v. 1, n. 6, p. 122–133, 2020.

SMITH, I.M.; *et al*. *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces boulardii* Induce Distinct Levels of Dendritic Cell Cytokine Secretion and Significantly Different T Cell Responses In Vitro.**Plos One**, v.11, n.11, 2016. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167410.

SIRINI, N.; FRIZZO, L. S.; ALEU, G.; SOTO, L. P.; ROSMINI, M. R. Use of probiotic microorganisms in the formulation of healthy meat products. **Current Opinion in Food Science**, v. 38, p. 141–146, 2021. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.11.007.

SPERANZA, B. et al. Functional cream cheese supplemented with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DSM 10140 and *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 and prebiotics. **Food microbiology**, v. 72, p. 16-22, 2018.https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.001.

SOUZA, C. **Aplicação do colostro bovino no desenvolvimento de um iogurte potencialmente simbiótico**. 2015a. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SOUZA, V. L. C. et al. Development of Probiotic "creamy requeijão" Formulations Containing Lactobacillus Strains, **Journal of Food Research**, n.9, v.1, p.1-10. 2020a. https://doi.org/10.5539/jfr.v8n3p86.

SOUZA, A. F. de. **Estudo da viabilidade de microrganismos probióticos encapsulados em matriz polimérica natural contendo ingredientes prebióticos e fibras alimentares**. Tese, Universidade de São Paulo [*s. l.*], 2015b.

SOUZA, M. *et al.* Microencapsulation by spray drying of a functional product with mixed juice of acerola and ciriguela fruits containing three probiotic lactobacilli. **https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1862182**, [*s. l.*], v. 40, n. 6, p. 1185–1195, 2020b.

STANTON, C. et al. Probiotic cheese. **International Dairy Journal**, v.8, n.5-6, p.491-496, 1998. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00080-6.

SWANSON, K. S. *et al*. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.17, n.1, p.687-701, 2020. https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2.

TABANELLI, G V. et al., Survival of the functional yeast *Kluyveromyces marxianus* B0399 in fermented milk with added sorbic acid. **J. Dairy Sci.** 99:120–12, 2016. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10084.

TAKEDA, S. *et al*. Efficacy of oral administration of heat-killed probiotics from Mongolian dairy products against influenza infection in mice: Alleviation of influenza infection by its immunomodulatory activity through intestinal immunity. **International Immunopharmacology**, v.11, n.12, p.1976-1983, 2011. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.08.007.

TAVERNITI, V.; GUGLIELMETTI, S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). **Genes & Nutrition**, v..6, n.3, p. 261-274, 2011. https://doi.org/10.1007/s12263-011-0218-x.

TEIXEIRA, G.L.S.B. **Qualidade e Viabilidade de Requeijão Cremoso Adicionado de Lactobacillus Acidophilus e Bifidobacterium Bifidum**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

Trabelsi, I., et al. (2019). Incorporation of probiotic strain in raw minced beef meat: Study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters

during refrigerated storage. **Meat Science**, 154, 29–36. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.04.005.

TRAN, N. T. et al. Application of heat-killed probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, v.548, n.5, 2022. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737700.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, [*s. l.*], v. 9, n. 1, p. 225–241, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030.

TSILINGIRI, K. *et al*. Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model. **Gut**, v.61, n.1, p.1007-1015, 2012. https://doi.org/10.1136/gfutjnl-2011-300971.

TSILINGIRI, K.; RESCIGNO, M. Postbiotics: what else? **Beneficial Microbes**, v.4, n.1, p.101-107, 2013. https://doi.org/10.3920/bm2012.0046.

VINDEROLA, G., SANDERS, M. E., & SALMINEN, S. (2022). The Concept of Postbiotics. **Foods**, 11(8). https://doi.org/10.3390/FOODS11081077.

VITOLA, H. R. S. et al. Probiotic potential of Lactobacillus casei CSL3 isolated from bovine colostrum silage and its viability capacity immobilized in soybean. **Process Biochemistry**, v. 75, p. 22-30, 2018. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.09.011.

YASMIN, I. *et al.* Development of Whey Protein Concentrate-Pectin-Alginate Based Delivery System to Improve Survival of B. longum BL-05 in Simulated Gastrointestinal Conditions. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [*s. l.*], v. 11, n. 2, p. 413–426, 2019.https://doi.org/10.1007/s12602-018-9407-x.

YILMAZ, M. T. *et al.* An alternative way to encapsulate probiotics within electrospun alginate nanofibers as monitored under simulated gastrointestinal conditions and in kefir. **Carbohydrate Polymers**, [*s. l.*], v. 244, p. 116447, 2020.https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116447.

ZAEIM, D. *et al.* Microencapsulation of probiotics in multi-polysaccharide microcapsules by electro-hydrodynamic atomization and incorporation into ice-cream formulation. **Food Structure**, [*s. l.*], v. 25, p. 100147, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foostr.2020.100147.

ZAGO, M. et al. Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. **Food Microbiology**, v.28, n.5, p.1033-1040. 2011. https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.009.

ZHANG, X. et al. Probiotic characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from cheese and their antibacterial properties against gastrointestinal tract pathogens. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.27, n.12, p.3505-3513, 2020. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.022.

ZHU, Y.; GUO, L.; YANG, Q. Partial replacement of nitrite with a novel probiotic Lactobacillus plantarum on nitrate, color, biogenic amines and gel properties of

Chinese fermented sausages. **Food Research International**, v. 137, n. January, p. 109351, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109351.

Zamberi, N.R. et al. The antimetastatic and antiangiogenesis effects of kefir water on murine breast cancer cells. **Integrative Cancer Therapies**, v.15, p.53-66, 2016. https://doi.org/10.1177/1534735416642862.

WANG, R. et al. Green tea fermentation with Saccharomyces boulardii CNCM I-745 and *Lactiplantibacillus plantarum* 299V. **LWT**, v. 157, p. 113081, 2022.https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113081.

## Autores

Fernanda Weber Bordini[1], Júlia Cristina Fernandes[1], Viviane Lívia Carvalho Souza[1], Elaine Cristina Galhardo[1], Moysés Estevão de Souza Freitas Pehrson[2], Ismael Maciel de Mancilha[1]

1. Departamento de Biotecnologia - Escola de Engenharia de Lorena - Universidade de São Paulo, Estrada Municipal do Campinho s/n, 12602810, Lorena, Brasil.
2. Coordenação de Laboratórios Multidisciplinares, Centro Universitário de Barra Mansa - SOBEU - Associação Barramansense de Ensino Superior, Rua Vereador Pinho de Carvalho, 267, 27330-550, Barra Mansa, Brasil.

* Autor para correspondência: mancilha@usp.br

# CAPÍTULO 5

## Avaliação do potencial probiótico de leveduras do gênero *saccharomyces* e não-*saccharomyces*

Thaís Costa Santos, João Guilherme Da Silva Araújo, Eskálath Morganna Silva Ferreira, Juliana Fonseca Moreira da Silva.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c5

**Resumo**

Probióticos são considerados microrganismos que quando ingeridos em quantidades suficientes e de forma adequada pode resultar em diversos benefícios para a saúde do hospedeiro. Dentre os microrganismos que possuem esse potencial, as leveduras têm ganhado destaque quanto sua aplicação probiótica, e entre os gêneros, a levedura *Saccharomyces boulardii* é a mais conhecida e disponível comercialmente como probiótica. Desta forma visando ampliar o conhecimento e a aplicação de leveduras probióticas, pesquisas vêm sendo desenvolvidas objetivando o isolamento e a identificação de novas cepas pertencentes tanto ao gênero *Saccharomyces*, como não-*Saccharomyces*, a partir de diferentes fontes, como por exemplo, de frutos, pois o bioma brasileiro apresenta uma grande diversidade vegetal com potencial para obtenção de microrganismos probióticos, visto que são frequentemente obtidos a partir da fermentação espontânea de seus tecidos. Dessa forma, o presente trabalho visa realizar uma revisão de literatura que tem como objetivo apresentar as diferentes fontes de isolamento de levedura com potencial probiótico, sua caracterização e possíveis aplicações biotecnológicas. Corroborando para literatura atual sobre o isolamento e a diversidade de leveduras com caráter probiótico e suas aplicações. Dessa forma, o uso de tais microrganismos mostra-se interessante, devido sua vasta possibilidade de aplicação e por sua principal característica de resistência a antimicrobianos, além de suas amplas fontes de isolamento.

**Palavras-chave:** Leveduras probióticas, fontes de isolamento, aplicação biotecnológica.

### 1. Introdução

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que desempenham algum tipo de benefício à saúde dos hospedeiros se consumido regularmente e em quantidades adequadas (FAO/WHO, 2002; CONTRERAS-RODRIGUEZ et al., 2020). De forma geral, as bactérias são mais utilizadas e


Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0

reconhecidas como agentes probióticos, e dentre os gêneros os *Lactobacillus* sp. e *Bifidobacterium* sp. são os mais reconhecidos (TERHAAG et al., 2020).

Todavia, com os avanços das pesquisas por microrganismo que apresentem características benéficas foram observados efeitos probióticos resultantes de leveduras como a linhagem Saccharomyces cerevisiae var. boulardii que está disponível comercialmente (TERHAAG et al., 2020). E também em leveduras não pertencem ao gênero *Saccharomyces* sp., como por exemplo, as do gênero *Meyerozyma caribbica* (MENDONÇA, 2021; AMORIM et al., 2018).

Segundo Guimarães (2015) às linhagens de leveduras Saccharomyces e não-Saccharomyces não apresentam perigos para saúde humana, recebendo assim o reconhecimento de gênero de microrganismo seguro (GRAS) (GUIMARÃES, 2015). Tal característica é importante para selecionar microrganismos que serão utilizados como probióticos, uma vez que, o objetivo de utilização é que haja benefícios à saúde do hospedeiro.

A obtenção de microrganismos probióticos de maneira geral é realizada através do isolamento da microbiota de hospedeiros saudáveis ou de produtos lácteos (CARDOSO, 2015). Porém, é possível isolar microrganismos com está característica através de outras fontes, como: Frutos, grãos, bebidas fermentadas, sucos de frutas e vegetais devido a sua composição nutricional (SILVA et al., 2021; SOUSA et al., 2021; CORRÊA, 2019)

Microrganismo probióticos podem ainda serem obtidos a partir de substratos oriundos de locais extremos ou ainda poucos explorados como: habitats da região Antártica, solos e plantas briófitas, uma vez que os microrganismos que habitam esses locais, são em grande maioria, capazes de sobreviver a condições extremas devido às vias metabólicas incomuns que se adaptam a estas condições e podem apresentar boas características para a seleção de novos agentes probióticos (COUTINHO et al., 2021).

Para avaliar a capacidade de um microrganismo possuir características probióticas é necessário realizar diversos ensaios in vitro e in vivo, submetendo os isolados obtidos do isolamento ao estudo das condições simuladas do sistema gastrointestinal, resistência a variadas faixas de pHs, aos sais biliares, a capacidade de aderência a superfícies do intestino, e dessa forma realizar a caracterização da seleção de novas linhagens (BONET, 2016).

Nesta vertente, o presente estudo objetivou realizar uma revisão de literatura qualitativa sobre o isolamento de leveduras com potencial probiótico e apresentar as diferentes fontes que possuem potencial de isolamento de levedura probióticas, sua caracterização e possíveis aplicações biotecnológicas.

## 2. Metodologia

Esse trabalho foi realizado através de um estudo descritivo realizado a partir do levantamento bibliográfico exploratório de publicações científicas, incluindo artigos de pesquisa e de revisão, e livros, adotando-se um intervalo de publicação de 12 anos (2010 a 2022).

Para a realização da busca bibliográfica foram utilizados os bancos de dados: Periódicos CAPES, Web of Science, Elsevier, PubMed e Scielo. Foram utilizados os seguintes termos descritores: “leveduras probióticas” OR “leveduras isoladas de frutos”, “leveduras isoladas de diferentes habitats AND caracterização e aplicação biotecnológica”. A busca foi realizada nos idiomas inglês e português.

Para a seleção dos artigos utilizados nesta revisão foram aplicados os critérios de seleção: artigos científicos que abordassem os potenciais do uso de leveduras como probiótico, suas características, fontes de isolamento e/ou aplicação biotecnológica. Foram encontrados um total de 206 artigos em todas as bases de dados pesquisadas, destes apenas 63 estavam alinhados aos critérios de inclusão utilizados, os demais trabalhos encontrados foram excluídos por não atenderem o intervalo de publicação e/ou serem duplicatas, restando ao final 39 estudos. Na figura 1 pode-se observar o fluxograma das etapas de seleção dos artigos.

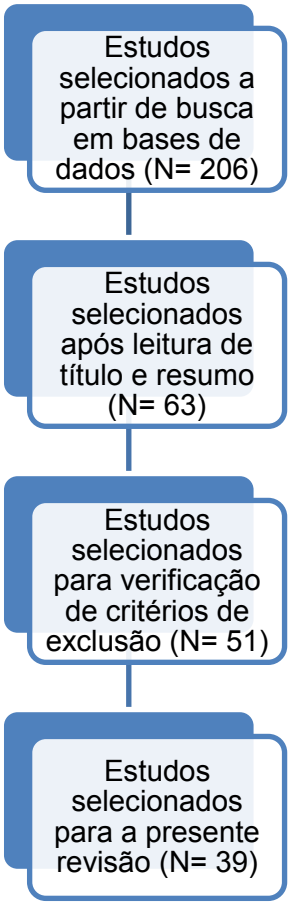



**Figura 1**. Fluxograma das etapas de seleção de artigos.

## 3. Leveduras probióticas *Saccharomyces* sp. e não-*Saccharomyces*

A procura dos consumidores por alimentos probióticos e consequentemente o interesse da indústria alimentícia por desenvolver novos produtos faz com que mais pesquisas sejam realizadas objetivando a seleção de novas linhagens probióticas.

De acordo com a Compound Annual Growth Rate (CAGR) a previsão do mercado global de alimentos probióticos para 2022 é um crescimento de cerca de 7% (U$ 64 bilhões), enquanto que para o mercado brasileiro essa previsão é de um aumento de cerca de 11% (CAGR, 2021).

As leveduras têm ganhado destaque nos últimos anos no mercado e isso tem se dado pela sua vasta aplicação industrial, sendo utilizadas na indústria alimentícia, farmacêutica, veterinária entre outras (SILVA; MALTA, 2016). E a razão pela qual estas têm se tornado de grande interesse se dá por suas

propriedades fermentativas, probióticas e de inibição de outros microrganismos (BARONY, 2018).

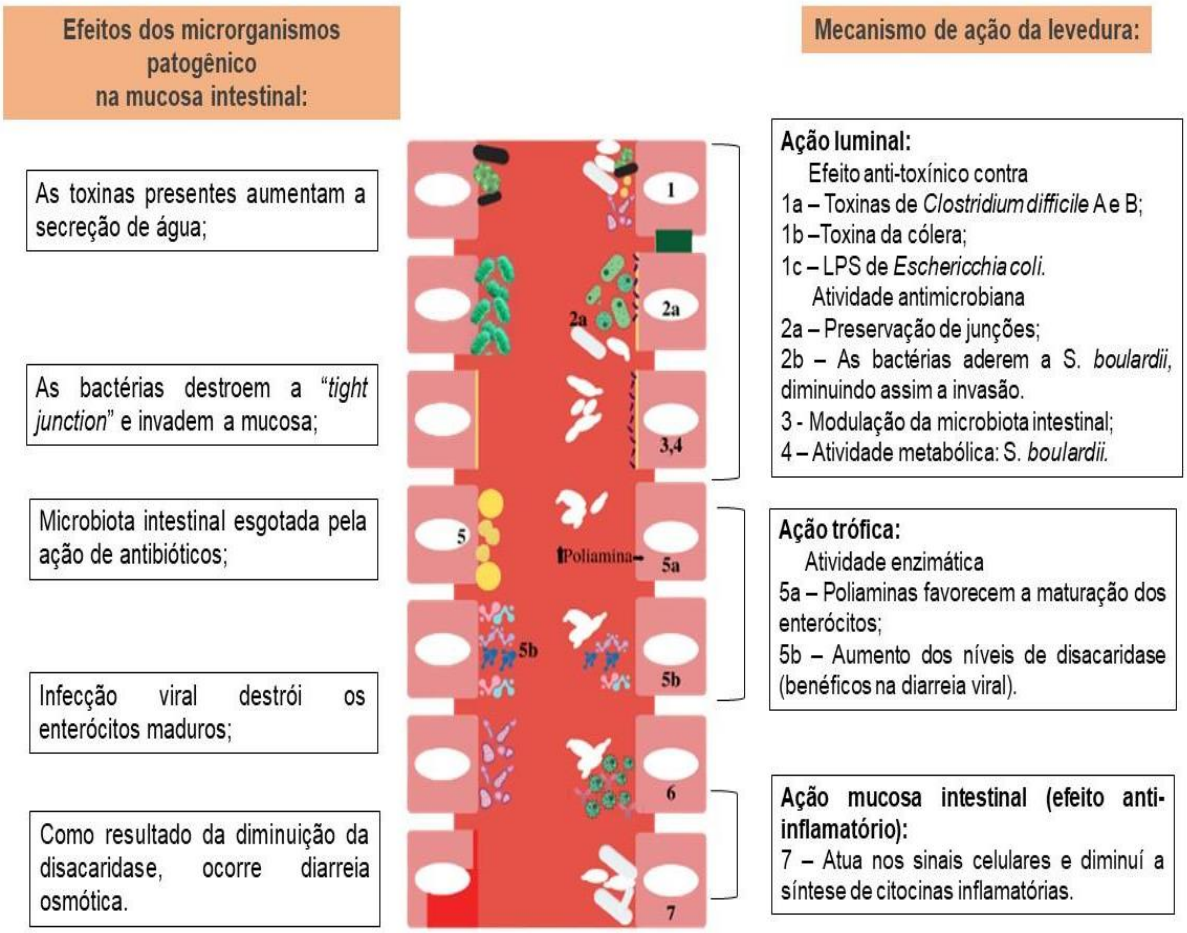
De acordo com Moreira (2019) leveduras podem ser classificadas como microrganismos pertencentes ao reino Fungi, os quais possuem características morfológicas típicas, como por exemplo, a presença de parede celular rígida, forma oval ou redonda, núcleo organizado com membrana nuclear, a reprodução pode ocorrer de forma sexuada ou assexuada, as quais ocorrem através de células especializadas denominadas de esporos e por brotamento.

Dentre os variados gêneros e espécies de leveduras já descritas, as do gênero *Saccharomyces* sp. possui um maior destaque pois é aplicado como fermento na indústria cervejeira, especificamente a espécie *S. cerevisiae*, conhecida popularmente como “levedura de cerveja” ou mesmo “levedura de padeiro” por sua aplicação na indústria de panificação (SILVA et al., 2020).

A espécie é um dos eucariotos mais pesquisados devido sua natureza unicelular, ou seja, suas funções biológicas encontradas também estão presentes na maioria dos eucariotos (PARAPOULI et al., 2020). Outro destaque se dá a S. cerevisiae var. boulardii, que atualmente é a única levedura probiótica disponível comercialmente para aplicação em alimentos e/ou na aplicação da indústria farmacêutica (BALIZA et al., 2018).

De forma simplista, *S. boulardii* tem sido bastante estudada no decorrer dos últimos anos, segundo McFarland (2017), em um período de 39 anos foram realizados cerca de 90 ensaios controlados com esta levedura aos quais abrangeram 15 tipos diferentes de doenças, apontando eficácia no tratamento de diarreia aguda pediátrica e na prevenção de diarreia associada a antibióticos. Essa levedura é utilizada como probiótico desde a década de 50, comercializada na forma liofilizada, auxiliando na prevenção e tratamento de diarreia em crianças e adultos (YI et al., 2016).

Os principais mecanismos de ação encontrados nessa espécie são: Efeitos tróficos na mucosa intestinal, inibição de atividade de patógenos bacterianos e modificação das vias de sinalização do hospedeiro incluídas em doenças intestinais (inflamatórias e não inflamatórias) (RIBEIRO, 2020). A figura 2 demonstra os principais mecanismos de ação desenvolvidos pela levedura *S. boulardii* no trato gastrointestinal de um hospedeiro.



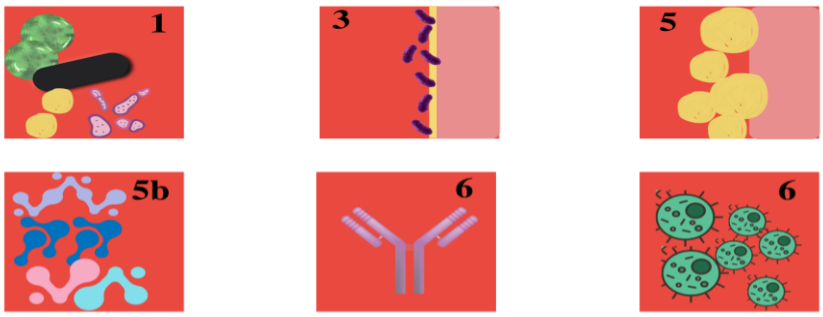




**Figura 2**. Mecanismos de ação da levedura *Saccharomyces* boulardii no trato gastrointestinal de um hospedeiro. 1 - Toxinas de *C. difficile*, toxina da cólera, lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*; 3 - Microbiota intestinal; 5 - Enterócitos imaturos com vírus; 5b - Acumulação de dissacarídeos no Lúmen; 6 - IgA; 6 - Patógenos na ausência de IgA. Fonte: Adaptado de McFarland (2010).

Dentro do lúmen do intestino, a *S. boulardii* pode degradar toxinas de patógenos, interferir na aderência patogênica, modular a microbiota normal e preservar a fisiologia intestinal normal. Além disso, também pode indiretamente restaurar o equilíbrio normal de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), aumentar os níveis de IgA secretora (sIgA) ou mesmo atuar como um regulador imunológico desempenhando influência nos níveis de citocinas (McFarland, 2010). Tais efeitos positivos, faz com que esta levedura apresente alto potencial para aplicação como probiótico.

Corroborando com o avanço das pesquisas sobre aplicação de leveduras em produtos probióticos, as leveduras não-Saccharomyces apresentam alto potencial na aplicação em diversos produtos (CASSANEGO, 2015). Uma vez que podem reduzir a presença de micotoxinas no intestino e/ou em alimentos, são capazes de produzir vitaminas e normalmente são resistentes a antibióticos, fazendo-se necessário a manutenção da microbiota intestinal em períodos de tratamento (ARÉVALO-VILLENA et al., 2018).

Dentre leveduras com potencial probiótico já estudadas destacam-se as das espécies: *Pichia kudriavzevii, Pichia membranifaciens, Lachancea thermotolerans, Hanseniaspora osmophila, Candida vini, Rhodotorula mucilaginosa, Meyerozyma caribbica, Diutina rugosa, Meyerozyma caribbica* (FERNÁNDEZ-PACHECO et al., 2021; AMORIM et al., 2018; MERCHÁN et al., 2020; OCHABGCO et al., 2016). A tabela 1 resume as principais espécies de leveduras não-*Saccharomyces* isoladas de diversos substratos.

No estudo desenvolvido por Fernández-Pacheco et al. (2021), foi realizada uma avaliação do potencial probiótico de 20 linhagens de leveduras não-*Saccharomyces* e *Saccharomyces*, e foi possível observar que as espécies não pertencentes ao gênero *Saccharomyces* apresentaram resultados satisfatórios, podendo ser aplicadas como potenciais probiótico, considerando sua capacidade de resistir às condições de estresse do trato gastrointestinal (TGI), a auto agregação e hidrofobicidade.

Em outra pesquisa realizada em 2018 pelo mesmo grupo de pesquisa foi observado, após, submeter 108 isolados de leveduras não-Saccharomyces e a condições simuladas do TGI, taxa de crescimento, temperatura de 37ºC e presença de enzimas, que apenas as linhagens *H. osmophila* e *P. kudriavzevii* apresentaram resultados promissores (FERNÁNDEZ-PACHECO et al., 2018).

**Tabela 1**. Leveduras não-Saccharomyces potencialmente probióticas.

| Nome da espécie | Fonte de isolamento | Referência |
|---|---|---|
| *Candida vini* | Vinícola | Fernandez-Pacheco *et al.* (2021) |
| *Meyerozyma caribbica 9 C e 9 D* | Polpa de abacaxi fermentada espontaneamente | Amorim *et al*. (2018) |
| *Kluyveromyces lactis* | Kefir | Merchán *et al.* (2020) |
| *Lachancea thermotolerans* | Vinícola | Fernandez-Pacheco *et al.* (2021) |
| *Hanseniaspora osmophila* | Destilaria | Fernandez-Pacheco *et al.* (2021) |
| *Pichia kudriavzevii* | Vinícola | Fernandez-Pacheco *et al.* (2021) |
| *Pichia membranifaciens* | Vinícola | Fernandez-Pacheco *et al.* (2021) |
| *Rhodotorula mucilaginosa 32* | Flores e/ou frutos endêmicos | Fernandez-Pacheco *et al.* (2021) |
| *Debaryomyces hansenii* | Intestino e comida de peixe | CHANG *et al.* (2016) |

Amorim et al. (2018), ao analisarem 50 leveduras isoladas da casca e polpa de abacaxi fermentada, quanto aos testes de sobrevivência em pH (2,0), enzima pepsina (3,0 g/L) e analisado a tolerância a sais biliares (0,1 e 1% (p/v), além de condições in vitro da passagem pelo TGI humano; observaram que dessas apenas cinco sobreviveram (três da espécie *Candida lusitaniae* e duas da *Meyerozyma caribbica*), por fim, após todos os testes realizados as leveduras *Meyerozyma caribbica* 9 C e 9 D apresentaram melhores propriedades probióticas se assemelhando a linhagem de referência (*S. cerevisiae* var. *boulardii*) o que aponta como linhagens interessantes para aplicação probiótica (AMORIM et al., 2018).

Uma das características que faz com que haja um avanço nos estudos utilizando leveduras como probióticos é que tais microrganismos são naturalmente resistentes a antibióticos, visto que o mecanismo de ação dos antibióticos tem como objetivo principal aderir a células procariotas, afetando

mais especificamente as células de bactérias (NOGUEIRA et al., 2016), e está é uma característica considerada importante pois a grande vantagem da terapia com os probióticos é a ausência de efeitos secundários, como a seleção de bactérias resistentes. Assim, os efeitos destes microrganismos devem ser basicamente os mesmos da microbiota normal do corpo humano (SHRUTHI et al., 2022).

## 5. Fontes de isolamento de leveduras probióticas e caracterização

Leveduras em geral, por demonstrarem ubiquidade (MOZZACHIODI et al., 2022), são isoladas de diversos substratos e utilizadas na produção de pães e vinhos há mais de 4000 anos (LAZO- VELEZ et al., 2018). Porém, ao tratar-se de leveduras probióticas, os primeiros relatos de isolamento se deram no início do século 20, a partir da lichia, um fruto tropical na Indochina pelo microbiologista Henri Boulard (MCFARLAND, 2010).

De forma geral as leveduras probióticas do gênero *Saccharomyces* têm sido naturalmente isoladas de produtos de laticínios como leite, iogurte, creme de leite, coalhada, queijos e kefir (LAZO-VELEZ et al., 2018), além de vinhos, azeitonas fermentadas e musgos em árvores (AGARBATI et al., 2020; STANISZEWSK et al, 2021). No entanto, também foi possível encontrar esse gênero isolados a partir de folhas e cascas de árvores, além de solos, frutas e organismos vivos como insetos (ABID et al., 2022), mel e cacau fermentado (SHRUTHI et al., 2022).

Desta forma o interesse por descobrir novas cepas probióticas têm aumentado (STANISZEWSK et al., 2021), algumas leveduras probióticas não - *Saccharomyces* também já foram isoladas de meios naturais como solo (SHRUTHI et al., 2022), musgo e cascas de árvores (*L. thermotolerans, M. ziziphicola*), folhas, vinícolas e frutos (*T. delbrueckii*). Assim como de alimentos espontaneamente fermentados como caldo da cana de açúcar (*T. delbrueckii*), vinho (*L. thermotolerans*) (AGARBATI et al., 2020), queijo e kefir, além de mel (*M. guillermondii*) e flores (FERNÁNDEZ-PACHECO et al, 2021) e intestino de peixes.

Ademais, como prova da ubiquidade das leveduras sobretudo probióticas estas foram isoladas de alguns substratos da Antártica como, neve, gelo glacial, lagos congelados, solos e duas espécies de briófitas (COUTINHO et al, 2021).

A caracterização de leveduras com potencial probiótico é uma etapa importante na busca de novas cepas, uma vez que para obter melhores resultados é fundamental conhecer as capacidades e limitações de cada isolado de levedura encontrado. A partir de determinadas características funcionais pode-se afirmar que determinado isolado de levedura possui ou não propriedades probióticas (BASSO, 2019).

Dentre estes aspectos destacam-se a tolerância a ambientes ácidos, hidrofobicidade, auto agregação, produção de substância antagonista e co-agregação com patógenos. Além disso, são utilizados alguns métodos para identificação e caracterização de leveduras, como os que utilizam técnicas de biologia molecular ou mesmo métodos clássicos, como caracterização bioquímicas, morfológicas e/ou reprodutivas (DAS; RAGAVAN 2017).

Desta forma, para que uma cepa seja reconhecida como probiótica, é necessário que resista às condições fisiológicas do TGI, como por exemplo, sobrevivência a temperatura de 37ºC, uma vez que essa é a temperatura corporal e esta necessita colonizar o corpo humano. Possuir capacidade de crescimento em meio ácido, faixa de pH entre 1 a 3, sais biliares (± 0,3%) (GIL-RODRIGUEZ et al., 2015). O pH ácido é uma das condições hostis mais desafiadoras que podem ser encontradas por cepas probióticas durante o trânsito gástrico e após a exposição a ácidos graxos no intestino delgado. Por outro lado, a resistência à presença dos sais biliares no intestino, é necessária como mecanismos de defesa específicos para conter o estresse e colonizar com sucesso esse órgão. Assim, a capacidade das cepas de sobreviverem aos sais biliares e ao pH ajudam na colonização e na atividade metabólica no intestino delgado do hospedeiro (SANCHEZ et al., 2012).

Por fim, testes pré-clínicos também se fazem necessários para caracterização de leveduras, uma vez que o comportamento das linhagens em testes in vitro podem diferir dos testes in vivo. Segundo metodologias disponíveis na literatura, como as descritas por Coutinho et al. (2021), estes sugerem a utilização de um modelo animal objetivando observar a capacidade de recuperação dos microrganismos probióticos em fezes de camundongos (COUTINHO et al., 2021).

## 7. Aplicação biotecnológica

Desde a época de Louis Pasteur, leveduras de diversos grupos têm sido usadas como modelos de organismos para biotecnologia, biologia celular, medicina, genética e genômica (MOZZACHIODI et al., 2022). Quanto às leveduras probióticas e suas aplicações biotecnológicas, a S. cerevisiae var boulardii, é a mais explorada (STANISZEWSK et al., 2021), a qual mostra-se muito mais versátil em usos benéficos para o ser humano. Podendo, portanto, ser utilizada na produção de derivados lácteos de bovinos e caprinos e na produção de não laticínios, como a fermentação de grãos de cacau e produção de kombucha, além disso, sua aplicação pode ser feita também na indústria química, farmacêutica e de ração animal (ABID et al., 2022).

Já as leveduras não-*saccharomyces*, embora pouco exploradas em campo, possuem indicativos muito promissores em sua aplicação biotecnológica. Assim, cabe citar a produção de proteínas heterólogas, alto potencial de produção de enzimas, como, celulases, pectinases, lipases, e outras xygosases. Além da identificação de melatonina em alguns alimentos (FERNÁNDEZ-PACHECO et al., 2021).

Ademais, o uso de leveduras probióticas dos gêneros *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* também está presente em aplicações bioterapêuticas, como efeitos de imunomodulação, produção de anticorpos, assimilação de colesterol, agentes anticancerígenos e antioxidantes; controle biológico; promoção do crescimento de plantas e biorremediação (SHRUTHI et al., 2022).

## 8. Conclusões

A utilização de linhagens *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* como microrganismos probióticos mostra-se vantajosa, uma vez que o mercado destes produtos vem crescendo com o passar dos anos. Tais leveduras podem ser isoladas de diversos ambientes, habitats, frutos e grãos e possuem diversificadas possibilidades de aplicação desde a indústria alimentícia, química, farmacêutica, e de ração, devido principalmente a característica de resistência a substâncias antimicrobianas. Assim, o interesse no uso destes agentes microbianos vivos com o propósito de beneficiar a saúde do hospedeiro e prevenção ou tratamento de doenças vêm sendo ampliado.

## 9. Referências

ABID, Rameesha et al. Probiotic Yeast Saccharomyces: Back to Nature to Improve Human Health. **Journal of Fungi** 2022, 8, 444. https://doi.org/10.3390/jof805044.

AGARBATI, Alice et al. Potential Probiotic Yeasts Sourced from Natural Environmental and Spontaneous Processed Foods. **Foods**. 9. 287. 10.3390/foods9030287. 2020.

AMORIM, C. Julia; PICCOLI, H. Roberta; DUARTE, F. Whasley. Probiotic potential of yeasts isolated from pineapple and their use in the elaboration of potentially functional fermented beverages. **Food Research International** v.107, 518–527, 2018.

ARÉVALO-VILLENA, María et al. Probiotic Capability in Yeasts: Set-up of a Screening Method. **Food Science & Technology** 89 (2018): 657-65. Web.

CASSANEGO, B. Daniela et al. Leveduras: diversidade em kefir, potencial probiótico e possível aplicação em sorvete. **Ciência e Natura** v.37, Ed. Especial-Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, 2015, p. 175– 186.

CORRÊA, P. Isabela. Avaliação de Leveduras no Controle Pós-colheita de Aspergillus sp. em grãos de café. Tese de doutorado. Curitiba/PR. Universidade Federal do Paraná. 2019.

COUTINHO, O. P. A. Joana et al. In Vitro and In Vivo Evaluation of the Probiotic Potential of Antarctic Yeasts. **Probiotics Antimicrob Proteins**. 2021 Oct;13(5):1338-1354. doi: 10.1007/s12602-021-09758-8. Epub 2021 Mar 23. PMID: 33759043.

FAO; WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. In Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report; FAO: Rome, Italy; WHO: Geneva, Switzerland, 2002. (Acessado em 30 de maio de 2022).

FERNÁNDEZ-PACHECO, P. P. Cristina; PÉREZ, B. Ana; ARÉVALO-VILLENA, Maria. Potential Probiotic Strains of *Saccharomyces* and Non- *Saccharomyces*: Functional and Biotechnological Characteristics. **Journal of Fungi** (Basel) 7.3 (2021): 177.

MOZZACHIODI, Simone et al. Yeasts from temperate forests. **Yeast** (Chichester, England). 2022 Jan;39(1-2):4-24. DOI: 10.1002/yea.3699. PMID: 35146791.

MCFARLAND, V. Lynne. Chapter 18-Common Organisms and Probiotics: Saccharomyces boulardii. **The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology**. Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis. p. 145-164, 2017.

MCFARLAND, V. Lynne. Systematic review and meta-analysis of Saccharomyces boulardii in adult patients. **World Journal Gastroenterology**. v. 16, n. 18, p. 2202-2222, 2010.

MENDONÇA, Anubia. Emprego de *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* no processo de elaboração de cervejas com potencial probiótico. Monografia. Bento Gonçalves/RS. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. 2021.

MOREIRA, A. M. Geisianny. Diversidade e ecologia de leveduras em solos brasileiros. Tese (Doutorado em Biologia Microbiana) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília. Brasília, Distrito Federal, 2019.

RAGAVAN, L. Mangala; DAS, Nilanjana. Isolation and Characterization of Potential Probiotic Yeasts from Different Sources. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research** 10.4 (2017): 451.

SÁNCHEZ, Lilian, et al. Cepas de Lactobacillus spp. con capacidades probióticas aisladas del tracto intestinal de terneros neonatos. **Rev. Salud Animal**. Vol. 37 No. 2, 94-104. 2015.

SILVA, F. M. Juliana; MIRANDA, L. Wilson; LEÃO, M. A. Geovanka. Isolamento e identificação de Lactobacillus sp. e Saccharomyces sp. da fermentação espontânea do fruto amazônico (pupunha) com potencial probiótico e biotecnológico para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios. DESAFIOS - **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 8, n. Especial, p. 14-22, 3 nov. 2021.

SILVA, V. Kamila. Potencial de Aplicação de Leveduras Selvagens em Processos de Panificação. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Campus Universitário de Palmas, Universidade Federal do Tocantins. Palmas, Tocantins, 2020.

SILVA, J. A. Camila; MALTA, J. N. Diana. A importância dos fungos na biotecnologia. **Revista ciências biológicas e da saúde**, Recife v. 2, n. 3, p. 49-66, Jul 2016.

SOUSA, M. Nádia et al. Aspectos morfológicos de leveduras isoladas de frutas e flores. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 40309 - 40319 para 2021.

SHRUTHI, B et al. Exploring biotechnological and functional characteristics of probiotic yeasts: A review, **Biotechnology Reports**, Volume 34,2022, e00716, ISSN 2215-017X,https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00716.

TERHAAG, M. Marcela; BERTUSSO, R. Fernando; PRUDÊNCIO, H. Sandra. Desenvolvimento de Bebidas Probióticas não Lácteas Adicionadas de *Saccharomyces boulardii*: Situação Atual e Perspectivas. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, e17491211031, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i12.11031

## Autores

Thaís Costa Santos[1,*], João Guilherme Da Silva Araújo[2], Eskálath Morganna Silva Ferreira[3], Juliana Fonseca Moreira da Silva[1]

1. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Tocantins, Quadra 109 Norte Av. NS-15, ALCNO-14. Plano Diretor Norte, 77001-090, Palmas/TO, Brasil.
2. Universidade Federal do Tocantins, Quadra 109 Norte Av. NS-15, ALCNO-14. Plano Diretor Norte, 77001-090, Palmas/TO, Brasil.
3. Universidade Estadual do Tocantins, Rua Amâncio de Morais, Nº 392-Centro, 77600-000, Paraíso do Tocantins/TO, Brasil.

* Autor para correspondência: taiscostass441@gmail.com

# CAPÍTULO 6

## Efeitos da suplementação de probióticos em portadores de diabetes

Sueli Essado Pereira, Bruna Marques Cintra.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c6

**Resumo**

Atualmente, o diabetes é considerado um transtorno de grande impacto na saúde da população mundial, com prevalência preocupante, chegando a atingir cerca de meio bilhão de pessoas no mundo. A microbiota intestinal desempenha um papel significativo na patogenia do diabetes e nas alterações metabólicas inflamatórias relacionadas a esse distúrbio. O objetivo foi levantar estudos sobre o diabetes que analisaram os efeitos dos probióticos na melhora do quadro, tanto como prevenção (pré-diabetes) quanto na terapia do distúrbio já instalado. Se realizou uma revisão sistemática narrativa de ensaios clínicos randomizados, realizados entre 2010 a 2021, sendo utilizadas palavras-chaves isoladas e combinadas entre si: probióticos, diabetes mellitus, disbiose, microbiota, terapia nutricional, suplemento nutricional, resistência à insulina e estresse oxidativo, nas bases de dados PubMed, Scielo, Medline e Lilacs, mediante os portais de busca BVS, Capes e Google Acadêmico. As principais cepas utilizadas foram dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Os principais efeitos da suplementação de probióticos foram redução da glicemia de jejum, da hemoglobina glicada, da resistência à insulina e a melhora do perfil lipídico com redução do colesterol total e de LDL-C e aumento do HDL-C, o que corrobora com diversos outros estudos. A suplementação de probióticos parece melhorar o controle glicêmico e metabólico de pacientes diabéticos. Os resultados foram mais efetivos quando se aplicou um mix de probióticos de cepas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, mesmo a quantidade não sendo padronizada, para os quais novos estudos se fazem necessário.

**Palavras-chave:** probióticos; diabetes mellitus; microbiota; suplemento nutricional; resistência à insulina.

### 1. Introdução

O Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio metabólico definido por hiperglicemia resultante da deficiência na produção da insulina, bem como da ineficiência desta de exercer seus efeitos de forma eficaz, resultando em


Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0

resistência à insulina, levando a complicações a longo prazo. O aumento dos níveis de glicose sanguínea permanente está associado a complicações crônicas macro e microvasculares, redução da qualidade de vida e elevação da taxa de morbimortalidade (WHO, 2021; RODACKI et al., 2022).

Atualmente, o diabetes é considerado um transtorno de grande impacto na saúde da população mundial, com prevalência preocupante, chegando a atingir mais de meio bilhão de pessoas no mundo em 2021 (WHO, 2021; IDF, 2020-2021). Aproximadamente 80% deste número estão concentrados em países tradicionais, de forma que os estudos apontam um número crescente nos próximos anos (COBAS *et al.,* 2022). No Brasil, mais de 12 milhões de brasileiros apresentam diabetes, que corresponde a mais de 7,7% da população (BRASIL, 2018). O diabetes mellitus acomete mais o público adulto observando-se uma incidência maior em mulheres do que em homens, apesar de todas as faixas serem afetadas pela doença (WHO, 2021).

O diabetes mellitus tipo II (DM2) é caracterizado por ser uma doença crônica e complexa, que ocorre quando o organismo não consegue utilizar a insulina produzida de forma eficaz (MALANDRINO; SMITH, 2011). Além disso, o DM2 é de causa poligênica, multifatorial, associado fatores ambientais e relacionado à péssimos hábitos alimentares e ao sedentarismo (RODACKI et al., 2022). Trata-se de uma patologia com elevadas taxas de morbimortalidade que envolve mais de 20% dos adultos entre 65 e 76 anos (OLIVEIRA, 2012). Por outro lado, a condição no qual os valores glicêmicos estão acima dos valores de referência, porém ainda abaixo dos valores diagnósticos de diabetes, denomina-se pré-diabetes (COBAS *et al.,* 2022; RODACKI *et al*., 2022).

Dentre as principais estratégias para o tratamento de DM2 incluem modificações no estilo de vida de uma forma geral, aconselhamento nutricional, incentivo à prática de atividade física, monitorização glicêmica, uso de medicamentos e de insulina em determinados casos (EVERT *et al.,* 2014). Estudos recentes, além dos consensos publicados pela American Diabetes Association (ADA) e Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), têm demonstrado que mudanças nos hábitos alimentares em pacientes portadores de DM2 auxiliam nos picos de hiperglicemia, sendo de suma importância no tratamento do diabetes (MOURA *et al*., 2018; ADA, 2022a; PITITTO *et al.,* 2022).

Ao observar o estado fisiopatológico, o DM induz à disfunção vascular por meio de vários mecanismos, como hiperlipidemia, hiperinsulinemia, hiperglicemia e resistência à insulina. Essas patologias metabólicas geram inflamação endovascular, promovendo efeitos adversos dos mediadores do diabetes nos componentes vasculares. Esses fatores têm relação com a microbiota e a inflamação endotelial induzida pela doença (LIU *et al.,* 2018; ADA, 2022b).

Neste contexto, a microbiota intestinal desempenha um papel significativo na patogenia do diabetes e nas alterações metabólicas inflamatórias relacionadas a esse distúrbio. Evidências sustentam que a microbiota intestinal alterada leva ao aumento da permeabilidade intestinal e da resposta imune da mucosa, o que contribui para o desenvolvimento do quadro de DM. Esse aumento da permeabilidade da microbiota intestinal juntamente com a susceptibilidade aos antígenos microbianos está relacionado com a ocorrência de endotoxemia metabólica e a resistência à insulina (GOMES *et al.,* 2014; MARTINS; BAPTISTA; CARRILHO, et al. 2018; NOVELLE, 2021).

A definição de probióticos foi universalmente instituída pela FAO/OMS em 2001, e adotada por diversos autores, sendo considerados “microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro, contribuindo para o equilíbrio da microbiota, fornecendo um ambiente intestinal favorável” (MOROTI et al., 2012; BINNS, 2014; GUARNER et al., 2017; AGAMENNONE et al., 2018).

Atualmente os estudos vêm dando ênfase ao consumo de probióticos como fator de controle do DM, associados a efeitos na microbiota intestinal dos indivíduos com a doença levando ao controle da glicemia, facilitando assim o metabolismo de carboidratos, diminuindo os efeitos contrários da hiperglicemia crônica e aumentando a sensibilidade à insulina das células-alvo. Está associado à ação anti-inflamatória, antioxidantes, imunomodulatórias e a alteração da expressão de alguns genes presentes no diabetes (MIRAGHAJANI *et al.,* 2017; MIRANDA *et al.,* 2021). Nesse sentido, a modulação da microbiota intestinal por probióticos contribui no manejo de várias condições clínicas, tais como no quadro de diabetes. Os estudos apontam que os probióticos auxiliam na manutenção de uma microbiota intestinal saudável e são atribuídos como adjuvantes eficazes

em terapias de resistência à insulina (MOROTI et al., 2012; BARROS; COSTA; SIVIER, 2021).

Considerando esse contexto e a necessidade de consolidar estratégias terapêuticas que beneficiem o paciente diabético, o objetivo desta pesquisa foi levantar estudos sobre o diabetes que analisaram os efeitos dos probióticos na melhora do quadro, tanto como prevenção (pré-diabetes) quanto na terapia do distúrbio já instalado, por meio de uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados.

## 2. Métodos

Esse estudo propôs uma revisão sistemática narrativa que levantou as atuais evidências relacionadas ao diabetes e a suplementação de probióticos, de acordo com os objetivos propostos. Para a pesquisa foram levantados os estudos publicados a partir de 2012 até 2022, sendo que para análise de artigos originais foram incluídas as pesquisas realizadas entre 2015 até 2019, pela elegibilidade dos critérios de inclusão.

Os critérios de inclusão foram: as pesquisas realizadas em humanos, pesquisas sem conflitos de interesse e os artigos originais publicados a partir de 2015. Foram incluídos apenas ensaios clínicos que avaliaram o efeito da suplementação de probióticos em pacientes diabéticos com DM2 e/ou pré-diabetes permanecendo 10 estudos a serem analisados nesta revisão sistemática entre 2015 a 2019, uma vez que estudos mais recentes foram em sua maioria de revisão, ou ensaios *in vitro*.

Quanto aos critérios de exclusão, foram excluídos do quadro de análise os artigos em duplicata, assim como aqueles de revisão, os estudos feitos em animais e aqueles que foram publicados antes do período proposto, além de artigos que não apresentavam textos completos ou que declararam conflitos de interesse ou fins comerciais.

Foram utilizadas palavras-chaves isoladas e combinadas entre si: probióticos, diabetes mellitus, disbiose, microbiota, terapia nutricional, suplemento nutricional, resistência à insulina e estresse oxidativo. O levantamento dos periódicos foi realizado nas seguintes bases de dados: U.S. National Library of Medicine (PubMed), Scientific Eletronic Library Online

(Scielo), Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (Medline) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), mediantes os portais de busca: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Capes, utilizando ainda Google Acadêmico.

A figura 1 apresenta o fluxograma em relação a síntese da busca para melhor visualização. Os artigos de revisão encontrados foram utilizados para discussão das análises, além das diretrizes lançadas recentemente.

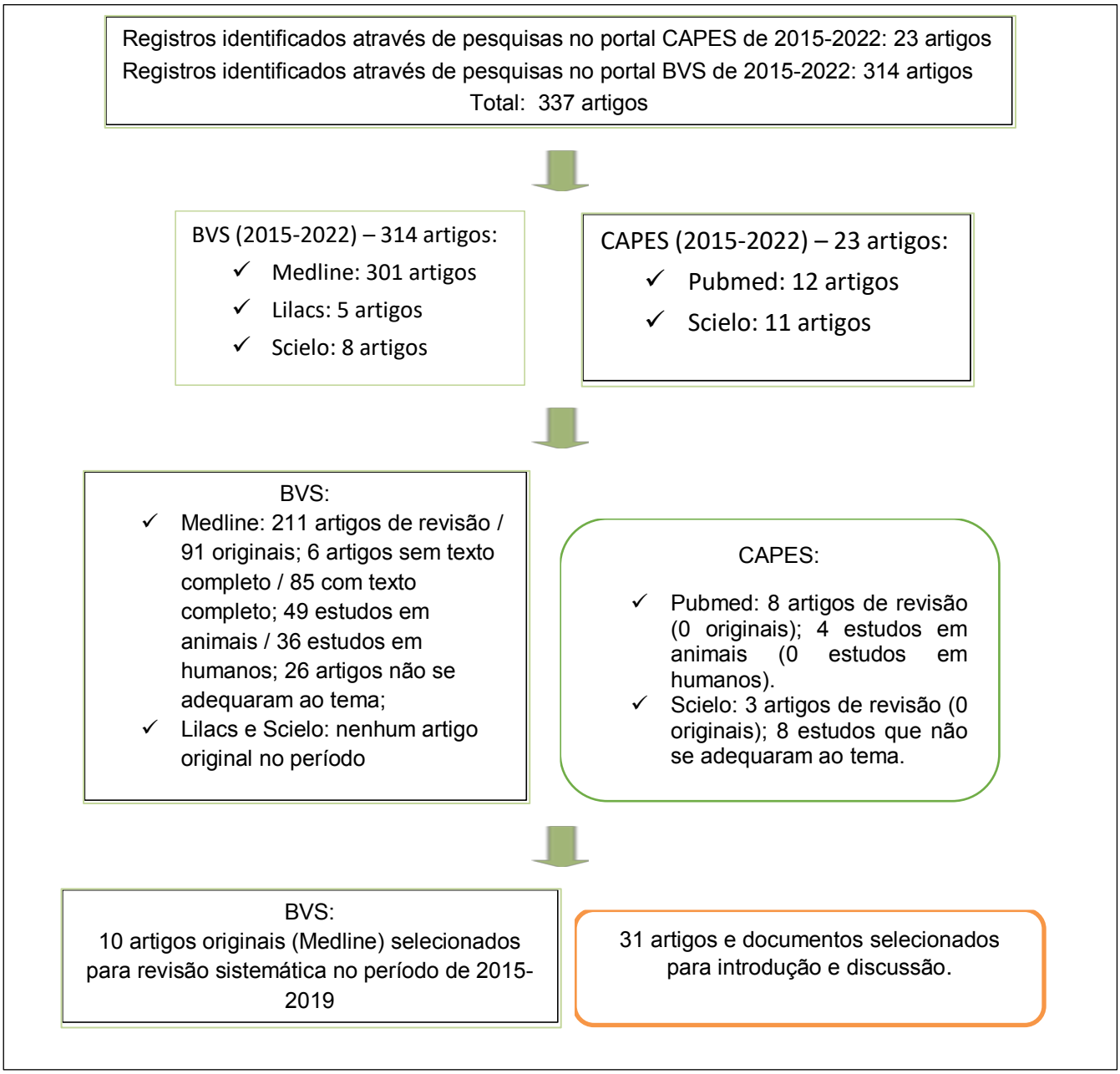



**Figura 1**. Fluxograma da seleção de artigos para a revisão sistemática, englobando artigos publicados entre 2015-2022.

## 3. Resultados e Discussão

De acordo com esta revisão, foram encontrados nessa busca 10 artigos de ensaios clínicos randomizados para análise, entre 2015 e 2018, que verificaram os efeitos da suplementação de probióticos em indivíduos com diabetes. A amostra dos estudos variou de 21 a 136 participantes e era composta de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 ou pré-diabetes. O tempo de intervenção dos estudos variou de 4 a 24 semanas, predominando os estudos com intervenção de 12 semanas (Quadro 1 e 2).

**Quadro 1**. Análise descritiva dos artigos originais (pesquisa em humanos) cujos estudos avaliaram os efeitos probiótico no diabetes (2015-2019).

| Autor/ano, título e tipo de pesquisa | Público-alvo, N/sexo e local | Principais procedimentos e conclusões |
|---|---|---|
| SIMON *et al.,* 2015<br><br>**- Título:** "Intake of Lactobacillus reuteri Improves Incretin and Insulin Secretion in Glucose-Tolerant Humans: A Proof of Concept".<br><br>**- Tipo de estudo:** estudo duplo-cego, 1:1, randomizado, prospectivo, piloto longitudinal; por 8 semanas. | **- N:** 39 no início e 21 ao final do estudo.<br><br>**- Idade e sexo:** adultos tolerantes à glicose (11 magros com idade de 49-67 anos e 10 obesos com idade de 51-67 anos. Magro (IMC 19-25 kg/m²) e obeso (30-45 kg/m²)<br><br>**- Local:** Alemanha. | **- Procedimentos:** 5 magros receberam placebo e 6 magros receberam probiótico; 5 indivíduos com obesidade receberam placebo e os outros 5 indivíduos com obesidade receberam o mesmo probiótico. Os participantes ingeriram $10^{10}$ UFC de *L. reuteri* SD5865 ou placebo durante 8 semanas.<br><br>**- Conclusões:** 1- Efeito na modulação a secreção de insulina, peptídeo C e peptídeos intestinais derivados de pró-glucagon. A sensibilidade à insulina, massa corporal e conteúdo de gordura ectópica, inflamação sistêmica, estresse oxidativo permaneceram inalterados. Logo, aumentou a secreção de insulina, porém não afetou diretamente a sensibilidade à insulina ou a distribuição de gordura corporal. 2- Concluíram que administração de uma cepa específica pode servir como uma nova abordagem terapêutica para melhorar a liberação de insulina dependente de glicose. |
| FEIZOLLAHZADEH *et al.,* 2016<br><br>**-Título:** "Effect of Probiotic Soy Milk on Serum Levels of Adiponectin,Inflammatory Mediators, Lipid Profile, and Fasting Blood Glucose Among Patients with Type II Diabetes Mellitus".<br><br>**- Tipo de estudo:** ensaio clínico duplo-cego randomizado, paralelo e controlado; por 8 semanas. | **- N:** 48 no início e 40 no final do estudo.<br><br>**- Idade e sexo:** pacientes com DM2 com idades entre 35–68 anos.<br><br>**- Local:** Isfahan, Irã. | **- Procedimentos:** Os participantes foram divididos no grupo que consumiu leite de soja contendo probiótico (n= 20, 10 homens e 10 mulheres) e o grupo controle (n= 20, 10 homens e 10 mulheres) que tomaram leite de soja sem probiótico. Durante 8 semanas os participantes tomaram 200 ml de leite de soja/dia e o grupo probiótico o leite foi suplementado com $10^7$ UFC de *L. plantarum* A7.<br><br>**- Conclusões:** 1- Não teve efeito sobre a adiponectina sérica, mediadores inflamatórios e FBS, porém houve redução do LDL e aumento o HDL. 2- Os autores afirmam que o estudo teve suas limitações como a curta duração de tratamento, a ausência de grupo controle que não tomou leite de soja e a falta de dosagem de probióticos antes e após o tratamento nas fezes. |
| MOBINI *et al.,* 2017<br><br>**- Título:** "Metabolic effects of Lactobacillus reuteri DSM 17938 in Patients with Type | **- N:** 46<br><br>**- Idade e sexo:** homens e mulheres adultos com DM2 | **- Procedimentos:** 35 homens e 11 mulheres com DM2 foram recrutados para o estudo durante 12 semanas, com três grupos paralelos que receberam placebo, ou $10^8$ ou $10^{10}$ UFC de *L. reuteri* DSM 17938. |

| | | |
|---|---|---|
| 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial".<br><br>**- Tipo de pesquisa:** ensaio clínico randomizado e controlado por placebo; por 12 semanas | com 50-75 anos de idade.<br><br>**- Local:** Gotemburgo, Suécia. | **Conclusões:** 1- Não afetou a HbA1c em pacientes com DM2 em terapia com insulina, mas melhorou a sensibilidade à insulina em um subconjunto de pacientes. 2- Não afetou a esteatose hepática e a adiposidade. Os pacientes que receberam a maior dose de *L. reuteri* mostraram aumento no ISI e DCA em comparação com a linha de base, mas essas diferenças não foram significativas entre os grupos. |
| TONUCCI *et al.,* 2017<br><br>**- Título:** "Clinical Application of Probiotics in Type 2 Diabetes Mellitus: a Randomized, DoubleBlind, Placebo-Controlled Study".<br><br>**- Tipo de estudo:** ensaio duplo-cego, randomizado e controlado por placebo; por 6 semanas. | **- N:** 50 no início e 45 ao final do estudo.<br><br>**- Idade e sexo:** adultos de idade 35-60 anos, IMC inferior a 35 kg/m² e diabetes tipo 2 diagnosticado há pelo menos um ano.<br><br>**- Local:** Ceará, Brasil. | **- Procedimentos:** 50 indivíduos participaram e foram divididos no grupo probiótico que consumiu leite fermentado contendo *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium animalis subsp lactis* BB-12 ($10^9$ UFC/dia) e o grupo controle que consumiu leite fermentado convencional.<br><br>**- Conclusões:** 1- Houve melhora no controle glicêmico em pacientes com DM2 e sugere-se que a ingestão de probióticos está associado a redução dos níveis de frutosamina, HbA1c e que os probióticos podem evitar o aumento de CT e LDL-C e uma redução de citocinas anti-inflamatórias. 3- Necessário se faz realizar um ensaio em prazo mais longo, a fim de confirmar resultados alcançados. |
| FIROUZI *et al.*, 2017[21]<br><br>**- Título:** "Effect of multi‐strain probiotics (multi‐strain microbial cell preparation) on glycemic control and other diabetes‐related outcomes in people with type 2 diabetes: a randomized controlled trial".<br><br>- **Tipo de estudo:** ensaio clínico randomizado, duplo-cego, de grupo paralelo e controlado; por 12 semanas. | **- N:** 136<br><br>**- Sexo e idade:** adultos com diabetes tipo 2 de 30-70 anos.<br><br>**- Local:** Kuala Lumpur, Malásia. | **- Procedimentos:** 136 indivíduos participaram do estudo por 12 semanas, sendo dividido em 2 grupos, o grupo que recebeu probiótico (n=68) e o grupo placebo (n=68). Foi fornecido uma dose de $3 \times 10^{10}$ de seis preparações de células microbianas viáveis: três cepas do gênero Lactobacillus, Firmicutes phyla (*Lactobacillus acidophilus, Lactobacilluscasei, Lactobacillus lactis*) e três cepas do gênero Filos Bifidobacterium e Actinobacteria (*Bifidobacte-rium bifidum, Bifidobacterium longum e Bifidobacterium infantis*). A dose diária de cada cepa foi de $10^{10}$ UFC.<br><br>**Conclusões:** 1- Os probióticos melhoraram a HbA1c e insulina de jejum em pessoas com DM2. 2- Os autores sugerem um tempo maior de intervenção para analisar melhor os resultados. |
| SABICO *et al.,* 2017<br><br>**- Título:** "Effects of a multi-strain probiotic supplement for 12 weeks in circulating endotoxin levels and cardiometabolic profiles of medication naïve T2DM patients: a randomized clinical trial".<br><br>**- Tipo de pesquisa:** estudo duplo cego randomizado e controlado por placebo; por 12 semanas. | **- N:** 78<br><br>**- Idade e sexo: (**adultos) pacientes sauditas com DM2 com idades entre 30 e 60 anos.<br><br>**- Local:** Riade, Arábia Saudita. | **- Procedimentos:** 39 participantes receberam placebo e o restante (N: 39) receberam probiótico ($2{,}5 \times 10^9$UFC) (*Bifidobacterium bifidum* W23, *Bifidobacterium lactis* W52, *Lactobacillus acidophilus* W37, *Lactobacil-lus brevis* W63, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus salivarius* W24, *Lactococcus lactis* W19 e *Lactococcus lactis* W58 (Ecológico®Barreira)).<br><br>**- Conclusões:** 1- A suplementação de multi-cepas em indivíduos com DM2 (sem uso de medicação) resultou em nenhuma mudança significativa nos níveis de endotoxina circulante, porém, houve melhora do HOMA-IR e uma redução modesta da adiposidade abdominal. 2- Uma coorte maior e um tempo maior de tratamento é necessário para investigar se a suplementação de probióticos pode ser protetora contra complicações no DM. |
| SOLEIMANI *et al.,* 2017<br><br>**- Título:** "Probiotic supplementation in diabetic hemodialysis patients has beneficial metabolic effects".<br><br>**- Tipo de estudo:** estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, com placebo | **- N:** 60 no início do estudo e 55 ao final do estudo.<br><br>**- Idade e sexo:** adultos diabéticos em hemodiálise com idade entre 18 e 80 anos. | **- Procedimentos:** 55 indivíduos (probiótico [n=28] e placebo [n=27]) participaram até o final do estudo, sendo dividido no grupo probiótico com *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei e Bifidobacterium bifidum* ($10^9$ UFC/g cada) ou placebo.<br><br>**- Conclusões:** A suplementação com probióticos em diabéticos em hemodiálise tiveram efeitos benéficos nos parâmetros da homeostase da glicose e alguns biomarcadores de inflamação e estresse oxidativo (FPG, insulina, HOMA-IR, HOMA-B, |

| | | |
|---|---|---|
| ensaio clínico controlado; por 12 semanas. | **- Local:** Kashan, Irã. | QUICKI, HbA1c, hs-CRP, os níveis de MDA, SGA, TIBC e TAC). |
| KASSAIAN *et al.,* 2018<br><br>**- Título:** "The effects of probiotics and synbiotic supplementation on glucose and insulin metabolism in adults with prediabetes: a double-blind randomized clinical trial".<br><br>**- Tipo de estudo:** ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado por placebo de grupo paralelo; por 24 semanas. | **- N:** 120 no início e 85 ao final do estudo.<br><br>**- Sexo e idade:** adultos pré-diabéticos; homens e mulheres de 35–75 anos.<br><br>**- Local:** Isfahan, Irã. | **- Procedimentos:** 85 indivíduos participaram até no final da intervenção, sendo 27 indivíduos em uso de probiótico, 30 em uso de simbióticos e 28 com placebo. Os participantes receberam 6 g/dia de dos probióticos contendo (*Lactobacillus acidophilus* liofilizado, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum* (1 × $10^9$ cada)) com maltodextrina, ou simbiótico (probióticos e prebiótico) à base de inulina ou placebo com maltodextrina.<br><br>**- Conclusões:** 1- Houve uma melhora glicêmica feita pelo uso de probióticos, principalmente dos simbióticos, em indivíduos pré-diabéticos e que, portanto, a sua ingestão atua no controle glicêmico em indivíduos com diabetes. 2- Necessário mais estudos para definir recomendações ideais para o tratamento de pacientes com tal patologia. |
| MAfi *et al*., 2018<br><br>**- Título:** "Metabolic and genetic response to probiotics supplementation in patients with diabetic nephropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial".<br><br>**- Tipo de estudo:** ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo; por 12 semanas. | **- N:** 60 no início e 54 ao final do estudo.<br><br>**- Sexo e idade:** adultos com ND (diabético renal, doença com proteinúria, com ou sem a elevação de níveis de creatinina sérica) de 45 a 85 anos.<br><br>**- Local:** Kashan, Irã. | **- Procedimentos:** Participaram 60 indivíduos divididos em dois grupos para tomar probióticos (n=30) ou placebo (n=30) por 12 semanas. O grupo de probióticos recebeu 8 × $10^9$ UFC dia contendo *Lactobacillus acidophilus* cepa ZT-L1, *Bifidobacterium bifidum* cepa ZT-B1, *Lactobacillus reuteri* ZT-Lre e *Lactobacillus fermentum* ZT-L3 (cada 2 × $10^9$).<br><br>**- Conclusões:** 1- A suplementação de probióticos para pacientes com ND teve efeitos no controle glicêmico, marcadores de risco cardiometabólico e sobre a expressão gênica sugerindo que a suplementação de probióticos pode conferir um potencial terapêutico vantajoso para pacientes com ND. 2- Mais pesquisas são necessárias em outros participantes e por mais tempo para determinar os efeitos benéficos dos probióticos. |
| RAZMPOOSH *et al.,* 2019<br><br>**- Título:** "The effect of probiotic supplementation on glycemic control and lipid profile in patients with type 2 diabetes: A randomized placebo controlled trial".<br><br>**- Tipo de pesquisa:** estudo randomizado duplo-cego controlado; por 6 semanas. | **- N:** 68 no início e 60 ao final do estudo.<br><br>**- Sexo e idade:** adultos (homens e mulheres) elegíveis de idade entre 30 a 75 anos.<br><br>**- Local:**Teerã. | **- Resultados:** 32 homens e 36 mulheres com DM2 participaram e foram divididos no grupo probiótico (multiespécies) (n = 34, com 14 homens e 18 mulheres) com *Lactobacillus acidophilus* [2 × $10^9$ UFC)], *Lactobacillus casei* (7 × $10^9$ UFC), *Lactobacillus rhamnosus* (1,5 × $10^9$ UFC), *Lactobacillus bulgaricus* (2 × 108 UFC), *Bifidobacterium breve* (3 × $10^{10}$ UFC),*Bifidobacterium longum* (7 × $10^9$ UFC), *Streptococcus thermophilus* (1,5 × $10^9$ UFC) ou placebo (n = 34, com 16 homens e 16 mulheres).<br><br>**- Conclusões:** houve redução no nível de FPG e de HDL-C mediante o uso de probióticos. Outros parâmetros foram analisados, mas não houve alterações, portanto, mais estudos são necessários para confirmar os resultados apresentados. |

**Legenda 1:** UFC - unidades formadoras de colônia; DM2 – diabetes melittus tipo 2; FBS – Glicose no sangue em jejum; HDL-C - lipoproteína de alta densidade; LDL-C – lipoproteína de baixa densidade; IMC – índice de massa corporal; HbA1c - hemoglobina glicada; DCA -níveis séricos do ácido biliar secundário (ácido desoxicólico); HOMA-IR - modelo de homeostase de avaliação da resistência à insulina estimada; HOMA-B - modelo de avaliação de homeostase-função estimada da célula b; QUICKI, índice quantitativo de verificação de sensibilidade à insulina; TNF-α - fator de necrose tumoral alfa; CT – colesterol total; ISI – sensibilidade à insulina; FPG - glicose em jejum no plasma; ND – nefropatia diabética; hs-CRP - proteína C reativa de alta sensibilidade; MDA – malonaldeído; SGA - avaliação subjetiva global; TAC - capacidade antioxidante total; TIBC - capacidade total de ligação do ferro.

**Quadro 2**. Sumário dos resultados levantados na revisão sistemática sobre estudo do diabetes e uso de probióticos como terapia nutricional (2015-2019).

| Critérios | Resultados analisados | Referências |
|---|---|---|
| **População estudada:**<br><br>**Total= 620 adultos de ambos os sexos.** | **(Ano: n/faixa etária)**<br><br>**2015**: 21/49-67 anos<br><br>**2016:** 40/35-68 anos<br><br>**2017:** 46/50-75 anos<br><br>**2017**: 45/35-60 anos<br><br>**2017:** 136/30-70 anos<br><br>**2017:** 78/30-60 anos<br><br>**2017:** 55/18-80 anos<br><br>**2018:** 85/35-75 anos<br><br>**2018**: 54/45-85 anos<br><br>**2018**: 60/30-75 anos | <br><br>SIMON *et al.,* 2015. (Alemanha)<br><br>FEIZOLLAHZADEH *et al.,* 2016. (Isfahan, Irã)<br><br>MOBINI *et al.,* 2017. (Gotemburgo, Suécia)<br><br>TONUCCI *et al.,* 2017. (Ceará, Brasil)<br><br>FIROUZI *et al*., 2017. (Kuala Lumpur, Malásia) SABICO *et al.,* 2017. (Riade, Arábia Saudita) SOLEIMANI *et al.,* 2017. (Kashan, Irã)<br><br>KASSAIAN *et al*., 2018. (Isfahan, Irã)<br><br>MAFI *et al.,* 2018. (Kashan, Irã)<br><br>RAZMPOOSH *et al.,* 2019. (Teerã) |
| **Análise do estado nutricional (IMC)** | **(Ano: resultado)**<br><br>**2015:** O grupo com obesidade teve IMC mais alto em relação aos magros ao longo do estudo.<br><br>No restante dos estudos foi detectado nenhuma diferença significativa no IMC em ambos os grupos. | SIMON *et al.,* 2015. (Alemanha).<br><br>FEIZOLLAHZADEH *et al*., 2016. (Isfahan, Irã); MOBINI *et al.,* 2017. (Gotemburgo, Suécia); TONUCCI *et al.,* 2017. (Ceará, Brasil); FIROUZI *et al*., 2017. (Kuala Lumpur, Malásia) SABICO *et al.,* 2017. (Riade, Arábia Saudita); SOLEIMANI *et al.,* 2017. (Kashan, Irã); KASSAIAN *et al*., 2018. (Isfahan, Irã); MAFI *et al.,* 2018. (Kashan, Irã); RAZMPOOSH *et al.,* 2019 (Teerã). |
| **Efeitos encontrados com uso de probióticos** | **(Ano: tipo de cepa/quantidade/efeitos)**<br><br>**2015:** *L. reuteri SD5865* / $10^{10}$ UFC/dia / Modulação da secreção de insulina, peptídeo C e peptídeos intestinais derivados de pro-glucagon. A sensibilidade à insulina, estresse oxidativo, massa corporal, conteúdo de gordura ectópica, inflamação sistêmica permaneceram inalterados.<br><br>**2016:** *L.plantarum A7* / 29 × $10^{7}$ UFC/dia no leite / Alteração do perfil lipídico com redução do LDL e aumento do HDL. Sem efeito sobre adiponectina sérica, mediadores inflamatórios e glicemia de jejum.<br><br>**2016:** *L. reuteri DSM17938* / $10^{8}$ ou $10^{10}$ UFC/dia / Melhora na sensibilidade à insulina e dos níveis séricos de DCA. Sem efeito sobre a HbA1c, sem efeito sobre a | SIMON *et al.,* 2015. (Alemanha)<br><br>FEIZOLLAHZADEH *et al*., 2016. (Isfahan, Irã) |

| | | |
|---|---|---|
| | esteatose hepática, adiposidade e a composição da microbiota. | MOBINI *et al.,* 2017. (Gotemburgo, Suécia) |
| | **2017:** *Lactobacillus acidophilus La-5* e *Bifidobacterium animalis subsp lactis BB-12* / $10^9$ UFC/dia / Melhora no controle glicêmico, redução dos níveis de frutosamina e HbA1c, redução do LDL, colesterol total e citocinas antiinflamatórias. A glicose plasmática em jejum, concentrações de insulina, resistência à insulina não teve efeito significativo. | TONUCCI *et al.,* 2017. (Ceará, Brasil) |
| | **2017:** *Lactobacillus acidophilus, Lactobacilluscasei, Lactobacillus lactis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium infantis* / $10^{10}$ UFC/dia de cada cepa / Melhora na HbA1c, a insulina de jejum e o HOMA-IR. Sem efeito nos parâmetros antropométricos (IMC), proteína c reativa, perfil lipídico, pressão arterial e controle glicêmico. | FIROUZI *et al*., 2017. (Malásia) |
| | **2017:** *Bifidobacterium bifidum W23, Bifidobacterium lactis W52, Lactobacillus acidophilus W37, Lactobacil-lus brevis W63, Lactobacillus casei W56, Lactobacillus salivarius W24, Lactococcus lactis W19* e *Lactococcus lactis W5* / 2 vezes ao dia - 2,5 × $10^9$ UFC/g / Melhora no HOMA-IR e redução da adiposidade abdominal. Sem efeito significativo sobre os níveis de endotoxina circulante. | SABICO *et al.,* 2017. (Arábia Saudita) |
| | **2017:** *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium bifidum* / 2 × $10^9$ UFC/g de cada / Melhora na homeostase da glicose e biomarcadores de inflamação e estresse oxidativo (glicose plasmática em jejum, insulina, HOMA-IR, HOMA-B, QUICKI, HbA1c, hs-CRP, os níveis de MDA, SGA, TIBC e TAC). | |
| | **2018:** *Lactobacillus acidophilus liofilizado, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum* / 1 × $10^9$ UFC para cada / Melhora do controle glicêmico com redução da glicose plasmática em jejum, dos níveis de insulina de jejum, HOMA-IR, HbA1c e melhora na sensibilidade insulínica. Sem efeito significativo sobre HOMA-B. | SOLEIMANI *et al.,* 2017. (Kashan, Irã) |
| | **2018:** *Lactobacillus acidophilus cepa ZT-L1, Bifidobacterium bifidum cepa ZT-B1, Lactobacillus cepa reuteri ZT-Lre* e *cepa Lactobacillus fermentum ZT-L3* / 8 ×$10^9$ UFC dia (cada 2 × $10^9$) / Melhora do controle glicêmico e alguns marcadores | |

| | | |
|---|---|---|
| | de risco cardiometabólico. Não afetou a expressão gênica. | |
| | **2019:** *Lactobacillus acidophilus* - 2 × $10^9$ UFC, *Lactobacillus casei* - 7 × $10^9$ UFC, *Lactobacillus rhamnosus* - 1,5 × $10^9$ UFC, *Lactobacillus bulgaricus* - 2 × $10^8$ UFC, *Bifidobacterium breve* - 3 × $10^{10}$ UFC *Bifidobacterium longum* - 7 × $10^9$ UFC, *Streptococcus thermophilus* - 1,5 × $10^9$ UFC / Redução da glicose plasmática em jejum e no HDL. Sem alteração significativa nos níveis de insulina, triglicérides, colesterol total, resistência insulínica, peso, circunferência da cintura e IMC. | KASSAIAN *et al.*, 2018. (Isfahan, Irã) |
| | | MAFI *et al.,* 2018. (Kashan, Irã) |
| | | RAZMPOOSH *et al.,* 2019. (Teerã) |

**Legenda 2:** UFC - unidades formadoras de colônia; HDL-C - lipoproteína de alta densidade; LDL-C – lipoproteína de baixa densidade; IMC – índice de massa corporal; HbA1c - hemoglobina glicada; DCA - níveis séricos do ácido biliar secundário (ácido desoxicólico); HOMA-IR - modelo de homeostase de avaliação da resistência à insulina estimada; HOMA-B - modelo de avaliação de homeostase-função estimada da célula b; QUICKI, índice quantitativo de verificação de sensibilidade à insulina; hs-CRP - proteína C reativa de alta sensibilidade; MDA – malonaldeído; SGA - avaliação subjetiva global; TAC - capacidade antioxidante total; TIBC - capacidade total de ligação do ferro.

Nessa pesquisa, foram analisados um conjunto de estudos específicos relacionados ao uso de probióticos como terapia no DM, com intervenção do grupo de probióticos comparado ao grupo placebo, totalizando 620 indivíduos adultos de ambos os sexos nos estudos (SIMON *et al.*, 2015; FEIZOLLAHZADEH *et al.,* 2016; MOBINI *et al.,* 2017; TONUCCI *et al.,* 2017; FIROUZE *et al.,* 2017; SABICO *et al.,* 2017; SOLEIMANI *et al*., 2017; KASSAIAN *et al*., 2018; MAFI *et al.*, 2018; RAZMPOOSH *et al.*, 2019).

O estado nutricional dos indivíduos diabéticos depende entre outros fatores das práticas alimentares e estilo de vida saudável. Os maus hábitos

alimentares e o sedentarismo estão associados a diversos prejuízos à saúde, entre eles, a obesidade, que tem sido apontada como um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do diabetes tipo 2. Nesses indivíduos é importante a análise do estado nutricional, o qual geralmente é avaliado pelo índice de massa corporal (IMC), que relaciona o peso e altura. Os indivíduos que apresentam IMC > 25 kg/m² têm risco aumentado a desenvolver DM2, portanto, com o aumento do IMC, o risco de se desenvolver diabetes fica mais pronunciado na medida em que o tecido adiposo atua aumentando a demanda por insulina em pacientes com obesidade, criando resistência à insulina, o que ocasiona aumento na glicemia e consequente hiperinsulinemia (SBD, 2019; WHO, 2021).

Portanto, a maioria dos diabéticos tipo 2 tem algum grau de obesidade e aqueles que não apresentam obesidade pelos critérios normais de IMC, geralmente apresentam uma concentração da gordura corporal na região abdominal. Essa patologia se caracteriza por uma evolução mais silenciosa, podendo não ser diagnosticada durante muitos anos, o que explica o estágio avançado das complicações existentes (ADA, 2022a). Nessa pesquisa, pôde-se observar no quadro 2 que todos os estudos incluídos nessa revisão fizeram intervenção com probióticos, a fim de alcançar melhora no perfil corporal e melhora nos parâmetros bioquímicos dos indivíduos analisados. Dentre os estudos, apenas um deles, realizado na Alemanha, com 21 participantes, apresentou mudanças em que o grupo com obesidade teve IMC mais alto em relação ao grupo magro (eutrofia), associado ao uso de probióticos (SIMON *et al.,* 2015). Todos os outros não apresentaram diferenças significativas nesse quesito, associando o uso de probióticos e a melhora do estado nutricional. Corroborando com nossos dados, outras revisões levantaram resultados similares (BEZERRA *et al*., 2016; TAO *et al*., 2020), as quais detectaram nenhuma alteração significativa no IMC ao suplementar os participantes com probióticos.

Existem inúmeras formas de tratamento para portadores de diabetes, como algumas terapias nutricionais, como o uso de probióticos, que contribuem positivamente para essa patologia. Os objetivos dessas terapias englobam a melhora no quadro do índice glicêmico, melhora na função das células beta

pancreáticas, assim como na produção de insulina. Além disso, reduz a resistência à insulina, promove a regulação do metabolismo das gorduras, do estresse oxidativo, dos processos inflamatórios, e consequente melhora no peso corporal e nas complicações micro e macrovasculares existentes (MIRMIRAN; BAHADORAN; AZIZI, 2014). Portanto, as terapias nutricionais existentes têm como base a melhora do estado nutricional do indivíduo, bem como a melhora da saúde e a qualidade de vida, além de contribuir na prevenção e tratamento das complicações a curto e longo prazo e as comorbidades associadas ao diabetes (WHO, 2021).

Com isso, é fundamental a implantação de estratégias terapêuticas que beneficiem o diabético para melhoria do controle glicêmico, do perfil lipídico além do estresse oxidativo presente nessa doença. Nesse sentido, são muitos os efeitos benéficos em relação uso de probióticos na prevenção e no tratamento do DM, associado a modulação da microbiota intestinal, da resposta imune e de outros mecanismos (RAZMPOOSH et al., 2016; RAZMPOOSH et al., 2019). Nessa revisão por sua vez, verificou-se muitos benefícios acerca do uso de probióticos no diabetes, de forma isolada ou combinada. Dentre os estudos apresentados nessa revisão destaca-se o estudo de Tonucci e colaboradores (2017), Soleimani e colaboradores (2017) e Kassaian e colegas (2018). No estudo de Soleimani e colaboradores (2017) o uso de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium bifidum* resultou na melhora da homeostase da glicose e alguns biomarcadores de inflamação e do estresse oxidativo, com destaque em relação a glicose plasmática em jejum, insulina, HOMA-IR, HOMA-B, QUICKI, HbA1c e Proteína C Reativa.

No estudo de Kassaian e colegas (2018) houve intervenção com três grupos (placebo, probiótico e simbiótico) e concluíram que houve uma significativa melhora glicêmica feita pelo uso de probióticos, principalmente com o uso dos simbióticos (probiótico associado ao prebiótico), em indivíduos pré-diabéticos e que, portanto, a sua suplementação atua como co-adjuvante no controle glicêmico em indivíduos com diabetes. Esse estudo em questão, revelou resultados benéficos em alguns dos parâmetros analisados, tais como, a melhora do controle glicêmico com redução da glicose plasmática em jejum, melhora nos níveis de insulina de jejum, HOMA-IR, HbA1c e melhora na

sensibilidade insulínica, com uso das cepas: *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum.*

O estudo de Tonucci e equipe (2017), realizado no Brasil, também demostrou efeitos efetivos acerca do uso de probióticos associados ao DM, com o uso de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis subsp lactis*. Após a ingestão de leite fermentado acrescido de probióticos, concluíram que o consumo dessas cepas gerou melhora no controle glicêmico e além disso, em relação ao perfil lipídico, mostrou que o consumo de leite fermentado acrescido de probióticos evitou o aumento do colesterol total e do LDL-C, enquanto que os indivíduos que consumiram apenas o leite fermentado tradicional observou-se um aumento significativo no colesterol total e LDL-c. Portanto, de modo geral, o estudo revelou melhoras no controle glicêmico, redução dos níveis de frutosamina e HbA1c, redução do LDL, colesterol total e citocinas antiinflamatórias. As pesquisas de Razmpoosh e colaboradores (2019) mostraram efeitos positivos em alguns dos parâmetros analisados, com uma redução do HDL e da glicose plasmática em jejum, após uma intervenção de 6 semanas com uso de probióticos. Um estudo feito na Malásia (FIROUZE *et al.*, 2017), apresentou uma melhora na HbA1c, na insulina de jejum e no HOMA-IR.

Os outros estudos inseridos no quadro 2 (SIMON *et al*., 2015; FEIZOLLAHZADEH *et al*., 2016; MOBINI *et al*., 2017; SABICO *et al*., 2017; MAFI *et al*., 2018) também apresentaram efeitos vantajosos em alguns dos parâmetros analisados, porém esses estudos tiveram um menor destaque em relação aos outros. O ensaio realizado na Alemanha (SIMON *et al.*, 2015), apresentou uma modulação da secreção de insulina, peptídeo C e peptídeos intestinais derivados de pro-glucagon. Uma pesquisa no Irã, de Feizollahzadeh e colaboradores (2016), resultou em uma alteração do perfil lipídico com redução do LDL e aumento do HDL. Outro estudo na Suécia, de Mobini e colaboradores (2017), revelou uma melhora na sensibilidade à insulina e dos níveis séricos do ácido biliar secundário (ácido desoxicólico). Na Arábia Saudita, a pesquisa de Sabico et al. (2017) apontou melhora no HOMA-IR e redução da adiposidade abdominal e também no Irã, ensaio de Mafi e colegas (2018), indicou uma melhora do controle glicêmico, alguns marcadores de risco cardiometabólico e sobre a expressão gênica relacionada ao estado metabólico.

Sabe-se que os principais efeitos benéficos da suplementação de probióticos em diabéticos são a diminuição da glicemia de jejum e HbA1c (OSTADRAHIMI et al., 2015) além da melhora da resistência a inulina (TAO et al., 2020). As cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são bastante estudadas e já tem constatado que a suplementação auxilia na redução da resistência à insulina e na melhora do perfil lipídico, diminuindo os níveis séricos de colesterol total e de LDL-C e aumentando o de HDL-C (BEZERRA et al., 2016). Nesse sentido, percebe-se que a glicemia de jejum, HbA1c, insulina e o perfil lipídico são os parâmetros mais relevantes e significativos relacionados ao uso de probióticos no controle do diabetes.

Além de diversos benefícios encontrados, alguns estudos evidenciaram parcialmente, efeitos não efetivos em alguns parâmetros com a suplementação de probióticos no quadro DM. O ensaio de Mobini e colaboradores (2017) levantou que a suplementação de probióticos, não influenciou sobre a HbA1c, sobre a esteatose hepática e sobre adiposidade abdominal. No estudo de Simon e colaboradores (2015), a sensibilidade à insulina e os parâmetros que influenciam a sensibilidade insulínica (estresse oxidativo, massa corporal, conteúdo de gordura ectópica, inflamação sistêmica) permaneceram inalterados.

Na pesquisa de Sabico e colaboradores (2017), poucos parâmetros foram analisados, não apresentando nenhum efeito significativo sobre os níveis de endotoxina circulante. De acordo com a intervenção de Mafi e colaboradores (2018), a expressão gênica não foi afetada, além disso, dentre os parâmetros mais significativos, houve somente a melhora do controle glicêmico.

Outros estudos como de Feizollahzadeh e colaboradores (2016), constatou que não houve efeito positivo sobre a adiponectina sérica, mediadores inflamatórios e a glicemia de jejum. Corroborando com esta revisão, uma meta-análise verificou que o uso de probióticos em diabéticos tipo 2 não mostrou uma melhora significativa sobre a glicemia de jejum além de não apresentar melhora relevante nos níveis séricos de insulina (KASINSKA; DRZEWOSKI, 2015).

Analisando estes estudos e os efeitos esperados em cada aplicação de cepa, sabe-se na literatura que as espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são bastante utilizadas como probióticos, ao passo em que desempenham um papel importante na melhoria da hiperglicemia com reduções na glicemia de jejum e na pós-prandial, na hemoglobina glicada, nas concentrações séricas de

insulina e na resistência à insulina (RAZMPOOSH et al., 2016; GUARNER et al., 2017).

As cepas utilizadas em intervenção levantadas nesta presente revisão, foram dos gêneros *L. reuteri* (SIMON *et al.,* 2015; MOBINI *et al.,* 2017; MAFI *et al.,* 2018)*, L. plantarum* (FEIZOLLAHZADEH *et al*., 2016), *Lactobacillus acidophilus (*TONUCCI *et al.,* 2017; FIROUZE *et al.*, 2017; SABICO *et al.,* 2017; SOLEIMANI *et al.,* 2017; KASSAIAN *et al*., 2018; MAFI *et al.,* 2018; RAZMPOOSH *et al*., 2019*), Lactobacillus lactis* (FIROUZE *et al.,* 2017), *Lactobacillus casei* (FIROUZE et al., 2017; SABICO et al., 2017; SOLEIMANI *et al.,* 2017; RAZMPOOSH et al., 2019), *Lactobacillus brevis* (SABICO et al., 2017; RAZMPOOSH et al., 2019), *Lactobacillus salivarius* (SABICO et al., 2017), *Lactobacillus rhamnosus* (RAZMPOOSH et al., 2019), *Lactobacillus bulgaricus* (RAZMPOOSH et al., 2019), *Lactobacilus fermentum* (MAFI *et al.,* 2018), *Bifidobacterium bifidum (*SABICO *et al.*, 2017; SOLEIMANI *et al*., 2017; KASSAIAN *et al.,* 2018; MAFI *et al.,* 2018), *Bifidobacterium longum (*FIROUZE *et al.,* 2017; KASSAIAN *et al.,* 2018*;* RAZMPOOSH *et al.,* 2019), *Bifidobacterium infantis (*FIROUZE *et al.,* 2017), *Bifidobacterium lactis (*SABICO *et al.,* 2017*;* KASSAIAN *et al*., 2018), e *Streptococcus thermophilus (*RAZMPOOSH et al., 2019), predominando as cepas *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus casei.*

Dentre os estudos dessa revisão sistemática, as principais cepas que promoveram uma amplitude maior de benefícios no organismo dos portadores de diabetes ou pré-diabetes foram*: Lactobacillus acidophilus La-5* associado ao *Bifidobacterium animalis subsp lactis BB-12* (TONUCCI *et al.,* 2017); assim como *Lactobacillus acidophilus com Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium bifidum* (SOLEIMANI *et al.,* 2017), além das cepas *Lactobacillus acidophilus liofilizado, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum* (KASSAIAN *et al.*, 2018).

Na intervenção realizada por Firouze e colaboradores (2017), foi testada a hipótese de que a suplementação com multi-cepas (*Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus lactis, Bifidobacte-rium bifidum, Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium infantis*) ocasionaria a melhora do controle glicêmico. A pesquisa revelou que o efeito dos probióticos no DM parece

ser mais relevante quando a suplementação é realizada com multi-cepas, isto é, com um mix de cepas. No entanto, ressalta que mais estudos são requeridos para definir quais as melhores cepas e as combinações indicadas no DM, qual a melhor dose, que tempo é necessário para suplementação e as interferências que podem existir.

Ainda assim, a utilização de probióticos é considerado um instrumento nutricional importante e promissor dentre inúmeras opções para o tratamento do diabetes. Dessa forma, pode-se observar que os estudos que utilizaram um mix de probióticos como terapia do DM foram mais efetivos do que aqueles que analisaram cepas isoladas (Quadro 2). Corroborando com essa afirmação, em outros estudos e revisões, ficaram constatados que a maioria dos ensaios clínicos relatados ao longo dos anos utilizaram uma mistura de vários probióticos, principalmente Lactobacillus spp. em combinação com outras cepas, gerando benefícios específicos mediante o seu uso. Além disso, verificou-se que há uma complexidade para analisar a eficácia desses agentes, pelas características específicas da cepa e os resultados de um probiótico (ou combinação) não poder ser extrapolado para outro. Dessa forma, os resultados dos ensaios clínicos podem depender da concentração e das medidas utilizadas para garantir a "biodisponibilidade" da cepa (BEZERRA *et al.,* 2016; GOMES *et al.*, 2014; GUARNER *et al.,* 2017; MARKOWIAK; SLIZEWSKA, 2017; MARTINS; BAPTISTA; CARRILHO, *et al.* 2018).

## 4. Conclusão

A presente revisão sistemática narrativa de ensaios clínicos oferece um otimismo, porém comedido, em relação à suplementação de probióticos no diabetes. As cepas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* foram as que demostraram efeitos mais significativos, além de predominarem nos estudos dessa revisão, assim como de outros estudos feitos ao longo dos anos. Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* podem ser atribuídos a efeitos benéficos no tratamento do DM, bem como na prevenção e/ou no tratamento de complicações associadas. A suplementação de probióticos em indivíduos com essa patologia auxilia na redução significativa da glicemia de jejum, HbA1c, melhora da resistência à insulina, e na melhora do perfil lipídico, reduzindo os níveis séricos de colesterol total e de LDL-C e aumentando o de HDL-C. Por

outro lado, houve resultados mais efetivos quando se aplicou um mix de probióticos, mesmo a quantidade não sendo padronizada.

No entanto, existe a necessidade de mais pesquisas, principalmente com período de duração maior, a fim de levantar com maior evidência os resultados descritos pelos estudos, controlando de forma mais eficiente as variáveis, como por exemplo a quantidade de probióticos a serem prescritos.

## 5. Referências

ADA. American Diabetes Association. Introduction: *Standards of medical care in diabetes*- 2022. **Diabetes Care**. v. 45; n 1 (S), p. S1-S2. January, 2022a. Disponível em: https://professional.diabetes.org/content-page/practice-guidelines-resources. Acesso: 25/05/2022. Doi: https://doi.org/10.2337/dc22-SINT.

ADA. American Diabetes Association. Cardiovascular Disease and Risk Management: *Standards of Medical Care in Diabetes*—2022. **Diabetes Care**, v. 45; n. (Suppl. 1):S144–S174. January, 2022b. Disponível em: https://professional.diabetes.org/content-page/practice-guidelines-resources. Acesso: 25/05/2022. Doi: https://doi.org/10.2337/dc22-S010.

AGAMENNONE, Valéria; et al. A practical guide for probiotics applied to the case of antibiotic-associated diarrhea in The Netherlands. **BMC Gastroenterology**, Holland, v. 18, n. 1, p. 2-12, 2018. DOI: 10.1186/s12876-018-0831-x.

BARROS, Yasmin C. de Lima; COSTA, Giselle Nobre; SIVIER, Katia. Probióticos no Controle da Pré-Diabetes e Diabetes Tipo 2. **Ensaios e Ciência**, v.25, n.2, p.153-159, 2021. DOI: https://doi.org/10.17921/1415-6938.2021v25n2p153-159.

BEZERRA, N. Alana, et al. Efeito da suplementação de probióticos no diabetes mellitus: uma revisão sistemática. **Revista HUPE**, Rio de Janeiro, vol.15(2), p.129-139. 2016. DOI: https://doi.org/10.12957/rhupe.2016.28238.

BINNS, Nino. Probióticos, Prebióticos e a Microbiota Intestinal. Monografias Concisas. **ILSI Europe**, v. 8, n. 8. Brasil, 2014. Disponível em: https://ilsibrasil.org/publication/probioticos-prebioticos-e-a-microbiota-intestinal/ Acesso em 15-09-2020.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Vigitel. Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Brasília, DF, 2018.

COBAS, Roberta *et al.* Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022). DOI: 10.29327/557753.2022-2, ISBN: 978-65-5941-622-6.

EVERT, Alison B. et al. Nutrition Therapy Recommendations for the Management of Adults with Diabetes. **Diabetes Care**. v. 37, Supplement 1, January, 2014. DOI: 10.2337/dc14-S120

FEIZOLLAHZADEH, Sadegh, et al. Effect of Probiotic Soy Milk on Serum Levels of Adiponectin, Inflammatory Mediators, Lipid Profile, and Fasting Blood Glucose Among Patients with Type II Diabetes Mellitus. **Probiotics & Antimicro**. **Prot**. Vol. 9(1):41-47, 2016. DOI: 10.1007/s12602-016-9233-y.

FIROUZI, Somayyeh, et al. Effect of multi-strain probiotics (multi-strain microbial cell preparation) on glycemic control and other diabetes-related outcomes in people with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. **Eur J Nutr**, Jun, vol. 56 (4):1535–1550. p.1536-1550. 2017. DOI: 10.1007/s00394-016-1199-8.

GOMES, Aline Corado et al. Gut microbiota, probiotics and diabetes. **Nutr. J**. vol.13:60, 2014. DOI: 10.1186/1475-2891-13-60.

GUARNER, Francisco et al. Documento de consenso de especialistas: Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia. A declaração de consenso da Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos sobre o escopo e o uso apropriado do termo probiótico. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, Fevereiro/ 2017, 35p. Disponível em: https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-portuguese-2017.pdf Acesso em 20-09-2020.

International Diabetes Federation (IDF). IDF Guide for diabetes epidemiology studies. 2020-2021. Disponível em: https://diabetesatlas.org/idf-guide-for-epidemiology-studies/ Acesso em 02/06/2022.

KASINSKA, Marta A.; DRZEWOSKI, Józef. Effectiveness of probiotics in type 2 diabetes: a meta-analysis. **Pol Arch Med Wewn**. Vol.125 (11), p. 803-13. 2015. DOI: 10.20452/pamw.3156.

KASSAIAN, Nazila, et al. The effects of probiotics and synbiotic supplementation on glucose and insulin metabolism in adults with prediabetes: a double-blind randomized clinical trial. **Acta Diabetologica**, Oct, vol. 55 (10), p. 1019–1028. 2018. DOI: 10.1007/s00592-018-1175-2.

LIU, Wen Chung *et al.* Lactobacillus plantarum reverse diabetes-induced Fmo3 and ICAM expression in mice through enteric dysbiosis-related c-Jun NH2-terminal kinase pathways. **Plos One**, São Francisco, v. 13, n. 5, p. e0196511, 2018. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196511.

MAFI, Alireza, et al. Metabolic and genetic response to probiotics supplementation in patients with diabetic nephropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. This journal is. **The Royal Society of Chemistry, Food & Function**, Sep vol. 19 (9): 4763-4770. 2018. DOI: 10.1039/c8fo00888d.

MALANDRINO, Noemi; SMITH, Robert J. Personalized diabetes medicine. **Clin Chem** 2011; 57: 231 – 240. DOI: https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.156901.

MARKOWIAK, Paulina; SLIZEWSKA, Kkatarzyna. Effects of Probiotics, Prebiotics and Synbiotics on Human Health. **Nutrients**, Suiça, v. 9, n. 9, p. 1-30, 2017. DOI:10.3390/nu9091021.

MARTINS, Diana Cruz; BAPTISTA, Carla; CARRILHO, Francisco. Microbiota Intestinal e Diabetes *Mellitus:* Associações Intrínsecas. **Rev Port Endocrinol Diabetes Metab**. Aug., vol. 13(2), p. 1-6. 2018; Disponível em: https://www.spedmjournal.com/files/section/e24_s364_ microbiota_intestinal_e_diabetes_mellitus_ associa_es_intr_nsecas_file.pdf. Acesso em 20/09/2020. DOI: 10.1016/j.rpedm.2016.10.0XXX.

MIRAGHAJANI, Maryam, et al. Potential mechanisms linking probiotics to diabetes: a narrative review of the literature. **Revista Médica de São Paulo**, São Paulo, v. 135, n. 2, p. 169-78, 2017. https://doi.org/10.1590/1516-3180.2016.0311271216.

MIRANDA, Brena Lopes *et al.* Efeito dos probióticos na prevenção e tratamento de câncer e Diabetes mellitus. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, e41910514932, 2021. (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14932.

MIRMIRAN, Parvin; BAHADORAN, Zahra; AZIZI, Fereidoun. Functional foods-based diet as a novel dietary approach for management of type 2 diabetes and its complications: A review. **World J Diabetes**, Jun, vol. 15(3), p. 267-81; 2014. DOI: 10.4239/wjd.v5.i3.267.

MOBINI, Reza, et al. Metabolic effects of Lactobacillus reuteri DSM 17938 in Patients with Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. Diabetes, obesity and metabolism. **A journal of pharmacology and therapeutics**. April,v.19 ed.4, p. 579-589, 2017. DOI: 10.1111/dom.12861.

MOROTI, Camila *et al*. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids Health Dis**.; vol. 22, p. 11:29. 2012. DOI: 10.1186/1476-511X-11-29.

MOURA, Cristiane Pauline *et al.* Educação Nutricional no Tratamento do Diabetes na Atenção Primária à Saúde: Vencendo Barreiras. Nutrition education in diabetes treatment in Primary Health Care: overcoming barriers. **Rev. APS**. 2018 abr/jun; 21(2): 226 - 234. DOI: https://doi.org/10.34019/1809-8363.2018.v21.15607.

NOVELLE, M.G. Decoding the Role of Gut-Microbiome in the Food Addiction Paradigm. Int. **J. Environ. Res. Public Health**, V. 18, P. 1-19, 6825. 2021,https://doi.org/10.3390/ ijerph18136825.

OLIVEIRA, Patrícia Pereira et al. Análise comparativa do risco de quedas entre pacientes com e sem diabetes melittus tipo 2. **Rev. Assoc Med Bras** 2012; 58(2):234-239. Disponivel em: https://www.scielo.br/j/ramb/a/pBpzBjyJkYBswbS8j9LHD5s/?format=pdf&lang=pt. Acesso em 20/08/2020.

OSTADRAHIMI, Alireza, et al. Effect of probiotic fermented milk (kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. **Iran J Public Health**. FEv, vol. 44(2), p. 228-37. 2015. PMCID: PMC4401881.

PITITTO, Bianca de Almeida *et al.* Metas no tratamento do diabetes. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022). DOI: 10.29327/557753.2022-3, ISBN: 978-65-5941-622-6.

RAZMPOOSH, Etham, et al. Probiotics as beneficial agents in the management of diabetes mellitus: a systematic review. **Diabetes Metab Res Rev**, Feb, vol. 32(2), p. 143-68. 2016. DOI: 10.1002/dmrr.2665.

RAZMPOOSH, Elham, et al. The effect of probiotic supplementation on glycemic control and lipid profile in patients with type 2 diabetes: A randomized placebo controlled trial. Diabetes & Metabolic Syndrome: **Clinical Research & Reviews**, Jan-Feb vol, 13(1), p. 175-182, 2019. DOI: 10.1016/j.dsx.2018.08.008.

RODACKI, Melanie *et al.* Classificação do diabetes. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022). DOI: 10.29327/557753.2022-1, ISBN: 978-65-5941-622-6.

SABICO, Shaun, et al. Effects of a multi-strain probiotic supplement for 12 weeks in circulating endotoxin levels and cardiometabolic profiles of medication naïve T2DM patients: a randomized clinical trial. **J Transl Med**, vol. 15:249. 2017. doi: 10.1186/s12967-017-1354-x.

SIMON, Marie-Christine, et al. Intake of Lactobacillus reuteri Improves Incretin and Insulin Secretion in Glucose-Tolerant Humans: A Proof of Concept. **Diabetes Care**, v. 38, 38:1827–1834, 2015. DOI: 10.2337/dc14-2690.

Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2019-2020. São Paulo: Clannad editora científica. 489p. https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/DIRETRIZESCOMPLETA-2019-2020.pdf. Acesso: 02/03/2020.

SOLEIMANI, Alireza, et al. Probiotic supplementation in diabetic hemodialysis patients has beneficial metabolic effects. **Kidney International**, v. 91, ed 2, p. 274-276. 2017. DOI: 10.1016/j.kint.2016.09.040.

TAO, Yun-Wen, et al. Effects of probiotics on type II diabetes mellitus: a meta-analysis. **J Transl Med**., Feb, vol.18 (1), p.:1-11, 2020. DOI: 10.1186/s12967-020-02213-2.

TONUCCI, Livia Bordalo, et al. Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double- blind, placebo-controlled study. **Clin Nutr**. Feb, vol. 36(1), p. 85-92. 2017. DOI: 10.1016/j.clnu.2015.11.011.

World Health Organization (WHO). Global report on diabetes. Ginebra; 10/11/2021. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes. Acesso em 02/06/2022.

## Autores

Sueli Essado Pereira, Bruna Marques Cintra

1. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), 2002-2021, GO, Brasil.

* Autor para correspondência: suganutrir@gmail.com

# CAPÍTULO 7

## Doença celíaca: uma revisão sistemática sobre os efeitos da intervenção terapêutica com probióticos

Sueli Essado Pereira, Michelle Metsavaht Salomão.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c7

**Resumo**

A Doença Celíaca (DC) é definida como uma enteropatia crônica do intestino delgado, imunomediada, promovida pela presença da proteína gliadina no trato gastrintestinal do indivíduo geneticamente predisposto, sendo considerada uma das causas mais frequentes de doenças crônicas não transmissíveis. Sabe-se que os probióticos podem contribuir para digerir as proteínas do glúten em pequenos polipeptídios não imunogênicos, diminuindo ou excluindo o gatilho para o desenvolvimento da DC, além de outros benefícios. O objetivo foi analisar a intervenção com probióticos na doença celíaca, a fim de contribuir para um protocolo mais eficiente no tratamento desse transtorno. Foi realizada uma revisão sistemática de artigos publicados entre 2013 e 2021, que resumiu em evidências relacionadas ao impacto da administração de probióticos na doença celíaca. Foram incluídos 10 estudos, sendo que a maior intervenção foi no público feminino (n= 1.281), variando a faixa etária de 3 meses a 74 anos; averiguou o uso do probiótico em crianças geneticamente suscetíveis (n=1); observou o uso do simbiótico em pacientes com DC (n=1); analisou os efeitos do probióticos em pacientes com risco genético para DC (n=1). Os probióticos são benéficos para pacientes celíacos e crianças geneticamente com risco dessa doença, associada a uma dieta sem glúten. Utilizando um mix de cepas, o resultado é mais eficiente, reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e resposta imunológica periférica, e melhora sintomas como inchaço, constipação, diarreia e disturbo intestinal não especificado nos pacientes com DC com sintomas do tipo síndrome do intestino irritável.

**Palavras-chave**: doença celíaca, deficiências nutricionais, dieta livre de glúten, disbiose, probióticos, microbiota.

### 1. Introdução

De acordo com a Portaria 1149 de 11/11/2015 (BRASIL, 2015), que aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Celíaca (DC), assim como o guia americano (RUBIO-TAPA et al., 2013), a DC é definida como uma enteropatia crônica do intestino delgado, imunomediada, promovida pela


Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0

presença da proteína gliadina no trato gastrintestinal do indivíduo geneticamente predisposto, sendo considerada uma das causas mais frequentes de doenças crônicas não transmissíveis. Devido à lesão ocasionada, o intestino delgado tem sua área de absorção reduzida, assim como a produção de enzimas digestivas e complexos transportadores na absorção e carreamento de micronutrientes, com maior ênfase as vitaminas lipossolúveis, ferro, B12 e ácido fólico (GREEN; KRISHNAREDDY; LEBWOHL, 2015).

Sapone e colaboradores (2012), relatam que as doenças relacionadas ao trigo e derivados, principalmente a DC e a alergia ao trigo (WA), são mediadas por ativação das células T na mucosa gastrointestinal. A DC é uma doença autoimune também imunomediada por imunoglobulinas IgG e IgA e células mistas, cujos epítopos causadores dessa reação adversa no intestino delgado, se repetem em proteínas homólogas como gliadina (trigo) ou secalina (cevada) ou hordeína (centeio), sendo que para o público consumidor é conhecido com o termo ‘glúten’, que engloba a presença de qualquer uma dessas prolaminas e respectivos epítopos alergênicos nos ingredientes de alimentos industrializados. Por outro lado, o estudo de Baptista (2017), aponta que a sensibilidade ao glúten não celíaca (SGNC) é uma condição na qual os sintomas clínicos são semelhantes aos da DC, porém não se trata de uma alergia e nem de uma doença autoimune e requer uma avaliação precisa para detectar o diagnóstico decisivo.

Ferreira e Inácio (2018), afirmam que a DC esta ligada a genes de classe II do MHC (*major complex of histocompatibility*), HLA DQ8 e HLA DQ2 (95%), localizados no cromossomo 6p21, contudo a predisposição genética para obter a DC é de 40 a 36%. De acordo com esses autores, essa patologia prevalece em pessoas com doenças autoimunes, síndromes genéticas como de: Down, Turner e William, déficit de IgA, histórico familiar da mesma e principalmente tireoidite e diabetes tipo I (DM1).

Analisando os contextos sobre a prevalência da DC, segundo Mocan e Dumitrașcu (2016), está em cerca de 1% nas populações do EUA e da Europa, e em países da Europa do Norte é de 1,5%. No norte da África, Oriente Médio e na Índia, a DC é comum, porém existem falhas para concluir o diagnóstico e a conscientização da existência da doença. Uma população da África de origem berbere teve a maior prevalência de DC no mundo (5,6%), no entanto a razão

desse índice não é clara, mas as atuais mudanças na dieta por adotarem padrões alimentares ricos em glúten e fatores genéticos, principalmente pela consanguinidade existente nessa população podem ter desencadeado esse alto nível de DC. Ainda de acordo com esses autores, na Argentina, Austrália e Nova Zelândia a prevalência é muito alta, sendo baixa a prevalência de DC na Coréia do Sul, Indonésia, Filipinas e muitas ilhas menores do Pacífico.

Observado por Castilhos e colaboradores (2015), um estudo multicêntrico internacional informou que a prevalência de DC no mundo, com alta variação entre os países é de 1%. Este estudo cita que no Brasil existem pesquisas onde doadores de sangue, revelaram a variação entre: Brasília (1:681), Curitiba (1:417) e Ribeirão Preto (1:214), além da prevalência ser mais alta em mulheres, duas pacientes para cada homen. Por outro lado, os autores Machado e colaboradores (2015), informaram que no Brasil a prevalência de DC é similar aos países desenvolvidos, variando de 0,15 a 1,94%. As regiões Sul e Sudeste têm a maior prevalência, que pode ser explicado pela forte colonização europeia e disponibilidade de exames para diagnóstico.

Considerando o contexto apresentado, fica claro que o consumo de farinha de trigo vem aumentando e, da mesma forma, o crescimento da doença celíaca pelo mundo, muitas vezes de forma silenciosa nas populações em geral. Sendo assim, o objetivo dessa pesquisa foi levantar na literatura os estudos que realizaram a intervenção com probióticos junto aos cuidados nutricionais na doença celíaca, a fim de contribuir para um protocolo mais eficiente no tratamento desse transtorno.

## 2. Métodos

Esse estudo propôs uma revisão sistemática que levantou um resumo das evidências relacionadas ao impacto da administração de probióticos na DC e em pacientes geneticamente com risco de desenvolver DC. A pesquisa foi composta por estudos feitos nos últimos sete anos (2013 – 2020).

Foram utilizadas palavras-chave isoladas e combinadas entre si: doença celíaca, deficiências nutricionais, dieta livre de glúten, disbiose, probióticos, simbióticos, microbiota celiac disease, deficiency diseases, diet, gluten-free, dysbiosis, probiotics e symbiotic. Foi realizada pesquisas nas seguintes bases de dados: Scientific Electronic Library Online (Scielo), U.S. National Library of

Medicine (PubMed) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), mediantes os portais da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Google acadêmico e Periódicos Capes, incluindo artigos do tipo observacional, coorte e ensaio clínico. As revistas selecionadas foram aquelas que abordaram o tema e são classificadas pela plataforma Sucupira com *Qualis* acima de B5.

Os critérios de inclusão dos artigos foram: aqueles realizados em humanos e sem conflitos de interesse, a partir de 2013. Foram excluídos da revisão, os estudos feitos em animais e aqueles que foram publicados antes do período proposto. Assim como artigos que não possuíram textos completos ou declararem conflitos de interesse.

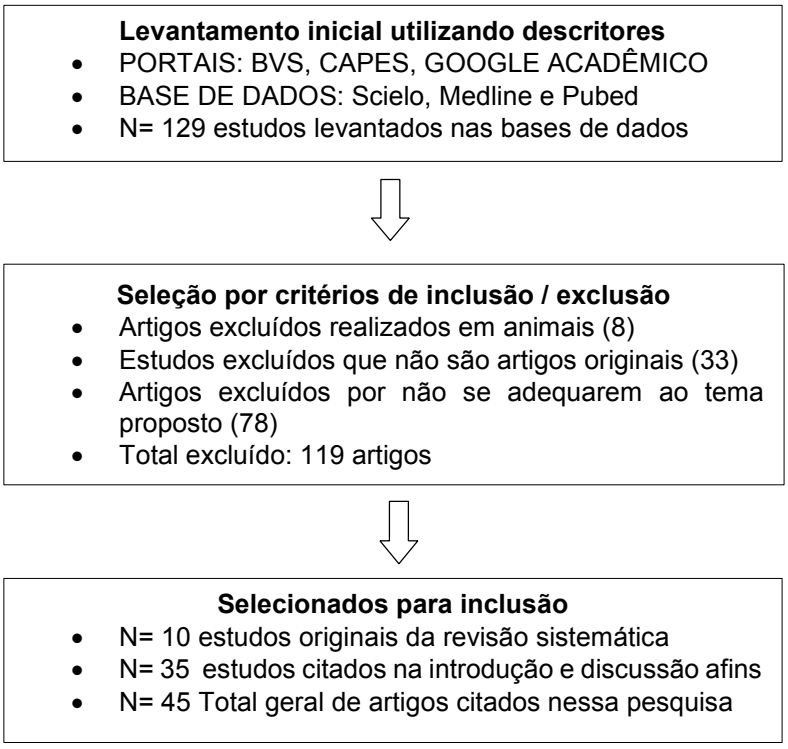



**Figura 1**. Diagrama do processo de seleção de artigos no levantamento realizado entre março a setembro de 2020.

## 3. Resultados

Na busca de pesquisas pelos portais e base de dados referenciados, foi considerado elegível 10 estudos, citados e discriminados no Quadro 1. Nestes inquéritos foram analisados 1.281 público feminino e 892 masculinos, variando a faixa etária de 3 meses a 74 anos. Observou-se que em quatro estudos a

intervenção com probióticos foi realizada em pacientes com DC divididos em grupo probiótico e grupo placebo (SMECUOL et al., 2013; OLIVARES et al. 2014; HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016; FRANCAVILLA et al., 2019). Outros dois estudos (KLEMENAK et al., 2015; QUAGLIARIELLO et al., 2016) analisaram portadores de DC divididos em grupo probiótico e grupo placebo e um grupo de pessoas saudáveis para comparar os resultados obtidos. Enquanto uma pesquisa (MARTINELLO; ROMAN; SOUZA, 2017) comparou os resultados de pacientes celíacos e indivíduos saudáveis antes e após a ingestão diária de 100g de iogurte contendo probiótico. Outro estudo (HAKANSSON et al., 2019) averiguou o uso do probiótico em crianças geneticamente suscetíveis a DC. Apenas um ensaio (DEMIROREN, 2020), observou o uso do simbiótico em pacientes com DC. Os autores Hakansson *et al.* (2019), observaram os efeitos do consumo de probióticos em pacientes com risco genético para DC, antes de uma dieta livre de glúten (GFD).

Para fins de análise comparativa e críticas dos artigos, foi elaborado o Quadro 2, onde evidencia de forma sumária e organizada os resultados apresentados nos estudos de intervenção do Quadro 1.

## 4. Discussão

O conceito da DC vem sendo definido há 100 anos, e atualmente é conhecida como um distúrbio sistêmico imunomediado, desencadeado por prolaminas, a saber gliadina (trigo), secalina (cevada) ou hordeína (centeio), e que envolve manifestações clínicas relacionadas a ingestão dessas proteínas, as quais são denominadas pela indústria alimentícia pelo termo glúten (HUSBY et al., 2012; LUDVIGSSON et al., 2013; RADLOVIĆ, 2013; CERQUEIRA et al., 2020).

Os probióticos são classificados como microrganismos vivos e quando consumidos em quantidades ideais conferem benefícios aos indivíduos, por produzirem substâncias que bloqueiam a ação dos patógenos. Estas propriedades degradam os receptores de toxinas, regula a imunidade e coloniza microrganismos benéficos para a saúde e para a DC (CHIBBAR; DIELEMAN, 2019; HILL et al., 2014). Apenas um estudo apresentado nesta revisão sistemática (UUSITALO et al*.,* 2019) analisou a associação entre a exposição a probióticos por meio de suplementos dietéticos ou fórmula infantil até a idade de

1 ano e o desenvolvimento de autoimunidade para doença celíaca (CDA) e DC, entre uma coorte de 6.520 crianças geneticamente suscetíveis.

Deste grupo analisado (UUSITALO et al., 2019), um número de 1.212 crianças (18,6%) foi identificado como tendo CDA (43% masculino e 57% feminino), sendo que 455 crianças (7,0%) foram diagnosticadas com doença celíaca (37% masculino e 63% feminino). Estes autores concluíram que a suplementação de probióticos nos primeiros anos de vida não foi associada à DC ou CDA, assim como afirmaram que os resultados em relação à exposição aos probióticos durante as primeiras semanas de vida foi associada a um pequeno aumento no risco de doença celíaca e precisa de uma investigação mais profunda.

Nesta revisão, os artigos originais incluíram tanto a faixa infanto-juvenil, assim como adultos e idosos. Parte dos estudos (SMECUOL et al., 2013; HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016; MARTINELLO; ROMAN; SOUZA, 2017; FRANCAVILLA et al., 2019), os participantes tinham entre 18 a 74 anos. Mas a maioria deles (OLIVARES et al., 2014; KLEMENAK et al.,2015; QUAGLIARIELLO et al., 2016; UUSITALO et al., 2019; HAKANSSON et al., 2019; DEMIROREN, 2020), foi analisado um público entre 3 meses a 19 anos. Com o aumento da disponibilidade de métodos para o diagnóstico da DC, como a medição dos níveis de produção de anticorpos anti-endomísio (EMA), gliadina (AGA) e transglutaminase (tTG) nos indivíduos, foi possível desenvolver testes mais sensíveis e específicos que possibilita detectar a presença da DC em pessoas com risco de desenvolvê-la assim como aqueles que se enquadram no grupo de assintomáticos, latentes e indivíduos saudáveis (ESTEVES, 2016; SANTOS et al., 2014; ALMEIDA, 2012).

As manifestações clínicas da DC pode ser classificada em sintomático e assintomático. A primeira pode ser caracterizada com quadros clínicos clássico e atípico. A forma clássica pode se manifestar entre 6 e 18 meses de idade com a introdução do glúten na alimentação, apresentando principalmente sintomas gastrointestinais como desnutrição, diarreia, dor abdominal, síndrome de má absorção, perda de peso, atraso no crescimento e distensão abdominal (TORTORA et al., 2016).

**Quadro 1**. Análise descritiva dos artigos originais (pesquisa em humanos) cujos estudos avaliaram doença celíaca e terapia com probióticos entre 2013 e 2020.

| Autores, ano de Publicação | Título e tipo de pesquisa | Tipo de pesquisa | N / local (cidade/estado (país) | Público-alvo | Conclusões dos estudos |
|---|---|---|---|---|---|
| SMECUOL et al., 2013 | Exploratory, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Study on the Effects of *Bifidobacterium infantis* Natren Life Start Strain Super Strain in Active Celiac Disease | Estudo exploratório, randomizado, duplo-cego | N= 22 Local: Buenos Aires, Argentina | Pacientes com DC não tratada do hospital de Gastroenterologia Dr. Carlos Bondorino Udaondo. | O probiótico analisado melhora alguns sintomas clínicos e alterações imunológicas, mas não altera o processo inflamatório. |
| OLIVARES et al., 2014 | Double-blind, randomised, placebo-controlled intervention trial to evaluate the effects of *Bifidobacterium longum* CECT 7347 in children with newly diagnosed coeliac disease. British Journal of Nutritio | Ensaio duplo cego randomizado | N= 36 Local: Reus, Tarragona e Barcelona. | Crianças do Hospital Universitari Sant Joan (Reus, Tarragona) e do Hospital Universitari Sant Joan de Deu (Barcelona) com diagnóstico recente DC. | Os resultados sugerem que a administração com o probiótico pode melhorar o estado de saúde de pacientes com DC, com uma GFD, promovendo benefícios na redução de bactérias potencialmente pró-inflamatórias, reduziu os linfócitos T ativados e os marcadores inflamatórios (TNF-α). |
| KLEMENAK et al., 2015 | Administration of *Bifidobacterium breve* Decreases the Production of TNF-a in Children with Celiac Disease | Estudo de intervenção duplo-cego | N= 64 Local: Maribor, Eslovênia | Crianças do departamento de Pediatria, Centro Clínico Universitário Maribor em um período de Outubro de 2013 a junho de 2014. | O estudo mostrou que a intervenção probiótica com cepas de *B. breve* teve efeito positivo na redução da produção de citocina pró-inflamatória TNF-α em crianças com DC em GFD. Após 3 meses depois do tratamento os níveis TNF-α aumentaram novamente. |
| HARNETT et al., 2016 . | Probiotics and the Microbiome in Celiac Disease: A Randomised Controlled Trial | Estudo de intervenção duplo-cego | N= 42 Local: Austrália e Nova Zelândia | Pessoas com DC que ainda estavam sofrendo com os sintomas, apesar de relatarem | A pesquisa mostrou que o tratamento não alterou de forma significante as contagens microbianas gastrointestinais nem os resultados dos exames bioquímicos. |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | adesão a uma GFD nos últimos doze meses. | |

**(Continuação) ... Quadro 1 - Análise descritiva dos artigos originais (pesquisa em humanos) cujos estudos avaliaram doença celíaca e terapia com probióticos entre 2013 e 2020.**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| QUAGLIARIELLO et al., 2016 | Effect of *Bifidobacterium breve* on the Intestinal Microbiota of Coeliac Children on a Gluten Free Diet: A Pilot Study | Intervenção duplo cega controlada | N= 56<br><br>Local: Maribor, Eslovênia | Pacientes com DC do Departamento de Pediatria, Centro Clínico Universitário | O estudo demonstrou que a administração de três meses de cepas de *B. breve* pode tornar a microbiota intestinal de celíacos semelhante aos indivíduos saudáveis. |
| MARTINELLO et al., 2017 | Effects of probiotic intake on intestinal bifidobacteria of celiac patients. | Estudo Experimental de intervenção não randomizado | N= 31<br><br>Local: Florianópolis, SC, Brasil | Participantes com DC que fazem parte da Associação dos Celíacos do Brasil (ACELBRA) que foram recrutados durante seus encontros mensais. | A suplementação com probióticos aumentou a contagem de bifidobactérias fecais dos celíacos, mas continuou inferior quando comparados aos pacientes saudáveis. |
| FRANCAVILLA et al., 2019 | Clinical and Microbiological Effect of a Multispecies Probiotic Supplementation in Celiac Patients With Persistent IBS-type Symptoms. | Estudo prospectivo duplo-cego, randomizado e controlado com placebo e multicêntrico. | N= 96<br><br>Local= Bari, Castellana Grotte (BA), Foggia e Taranto | Pacientes voluntários das Unidades de Gastroenterologia da Universidade de Bari, Castellana Grotte (BA), Foggia e Taranto com DC tratados com uma dieta sem glúten a mais de 2 anos. | A mistura de probióticos é eficaz para o tratamento em pacientes com DC com sintomas do tipo síndrome do intestino irritável. Obteve melhora na dor, na modificação da microbiota intestinal e é benéfico em longo prazo, podendo ser favorável também para as manifestações gerais que a doença pode gerar. |
| UUSITALO et al., 2019 | Early Probiotic Supplementation and the Risk of Celiac Disease in Children at Genetic Risk. | Estudo de coorte prospectivo | N= 6.520<br><br>Local: EUA e na Finlândia, Alemanha e Suécia | 6 centros de pesquisa clínica localizados no Colorado, Geórgia e Washington nos EUA e na Finlândia, Alemanha e | A suplementaçãode probióticos nos primeiros anos de vida não foi associada à doença celíaca ou na CDA. Os resultados em relação à exposição aos probióticos durante as primeiras semanas de vida que foi associada a |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Suécia. Recém-nascidos com critérios de inclusão com base na genotipagem HLA. | um pequeno aumento no risco de doença celíaca precisa de uma investigação mais profunda. |

**Continuação) ... Quadro 1 - Análise descritiva dos artigos originais (pesquisa em humanos) cujos estudos avaliaram doença celíaca e terapia com probióticos entre 2013 e 2020.**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| HAKANSSON et al., 2019 | Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* on the Peripheral Immune Response in Children with Celiac Disease Autoimmunity: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. | Ensaio Clínico Randomizado, Duplo-Cego, Controlado por Placebo. | N= 78<br><br>Local: Suécia | Crianças com CDA em uma dieta contendo glúten que foram testadas positivamente para autoanticorpos tTG em um estudo de coorte de nascimento prospectivo. | A administração oral diária do probiótico estudado pode modular a resposta imunológica periférica em crianças com CDA. |
| DEMIROREN, 2020 | Can a Synbiotic Supplementation Contribute to Decreasing Anti-Tissue Transglutaminase Levels in Children with Potential Celiac Disease? | Estudo observacional | N= 82<br><br>Local: Yıldırım, Bursa, Turquia. | Pacientes com níveis elevados de anti-tTG, mas que não foram histopatologicamente diagnosticados com DC. | Os pacientes do grupo simbiótico tiveram uma redução significativa nos níveis de anti-tTG em comparação com o grupo controle. |

Legenda: DC: Doença Celíaca; GFD: Dieta livre de glúten; HLA: Antígeno Leucocitário Humano; CDA: Autoimunidade para Doença Celíaca.

**Quadro 2**. Sumário dos resultados levantados na revisão sistemática sobre estudo da ação dos probióticos na terapia nutricional da doença celíaca entre 2013 e 2020.

| CRITÉRIOS INVESTIGADOS | RESULTADOS ANALISADOS | REFERÊNCIAS |
|---|---|---|
| Número total de artigos da revisão<br><br>N total de indivíduos investigados (F/M) | 10<br><br>N Feminino: 1.281<br><br>N Masculino: 892 | SMECUOL et al., 2013; OLIVARES et al. 2014; ; KLEMENAK et al., 2015; HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016; QUAGLIARIELLO et al., 2016; MARTINELLO; ROMAN; |

| | | |
|---|---|---|
| | | SOUZA, 2017; FRANCAVILLA et al., 2019; UUSITALO et al., 2019; HAKANSSON et al., 2019; DEMIROREN, 2020 |
| Todos com DC divididos em grupo probiótico e placebo | 2013: Total (N=22) todos com DC. Divididos em grupo placebo (N=10) e probiótico (N=12).<br>2014: Total (N=33) todos com DC. Divididos em grupo probiótico (N=17) e grupo que recebeu placebo (N=16).<br>2016: Total (N=42) todos com DC. Divididos em grupo probiótico (N=21) e grupo placebo (N=21).<br>2019: Total (N=96). Divididos em grupo probióticos (N=41) e grupo placebo (N=55). | SMECUOL et al., 2013; OLIVARES et al. 2014; HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016; FRANCAVILLA et al., 2019 |
| Divididos em grupo DC com probiótico e placebo e grupo com pessoas saudáveis para comparar | 2015: Total (N=64). Divididos em 3 grupos= pacientes com DC (N=46). Divididos em 2 grupos probiótico (N=22) e grupo placebo (N=24). E o grupo controle com pessoas saudáveis (N=18) sem consumir probiótico ou placebo.<br>2016: Total (N=56). Divididos em 3 grupos= grupo DC (N=40) divididos em probiótico (N=20) e placebo (N=20) e saudáveis (N=16) grupo controle | KLEMENAK et al., 2015; QUAGLIARIELLO et al., 2016 |
| Divididos em grupo com DC recebendo probiótico e grupo saudável sem placebo | 2017: Total (N= 31). Divididos em 2 grupos: Grupo pacientes com DC e consumo de probiótico (n=14) e grupo pessoas saudáveis com consumo de probióticos ( n=17). | MARTINELLO; ROMAN; SOUZA, 2017 |
| Não foi dividido em grupo placebo nem probiótico | 2019: Estudo de coorte (N=6.520) com crianças geneticamente suscetíveis a DC. Desses (N=1.667) utilizaram probióticos no primeiro ano de vida. | UUSITALO et al., 2019 |
| Pacientes com risco génetico para DC, antes do tratamento com dieta sem glúten | 2019: Divididos em 2 grupos: grupo probiótico (N=40) e grupo placebo (N=38). | HAKANSSON et al., 2019 |
| Todos com DC dividido em grupo que recebeu simbióticos e grupo que não recebeu | 2020: Total (N=82). Grupo simbiótico (N=41) e grupo que não recebeu nada (N=41) | DEMIROREN, 2020 |
| Níveis de anti-tTG (anticorpos anti-transglutaminase tecidual), após a | 2013: Redução das concentrações de anticorpos séricos nos pacientes que | SMECUOL et al., 2013; HAKANSSON et al., 2019; DEMIROREN, 2020 |

| | | |
|---|---|---|
| suplementação com probióticos. | receberam os probióticos em comparação ao grupo placebo.<br><br>2019: Não houve diferença geral nos níveis medianos do autoanticorpo tTG entre os dois grupos (placebo e probióticos).<br><br>2020: O grupo simbiótico teve uma redução significativa nos níveis de anti-tTG em comparação com o grupo controle. | |
| Faixa etária / sexo mais acometida (que participou da pesquisa)? | 2013: 18 a 74 anos – feminino (82%)<br><br>2014: 2 a 7 anos – feminino (58%)<br><br>2015: 1 e 19 anos – feminino (64%)<br><br>2016: 18 e 70 anos – feminino (83%)<br><br>2016: 1 a 19 anos – feminino (62%)<br><br>2017: 18 a 60 anos – feminino (54%)<br><br>2019 : 18 a 63 anos – feminino (84%)<br><br>2019: 0,3 meses a 1 ano de idade – feminino (59%)<br><br>2019: 3 a 7 anos de idade-masculino (92%)<br><br>2020: 4 a 12 anos –feminino (51%) | SMECUOL et al., 2013; OLIVARES et al. 2014; KLEMENAK et al., 2015; HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016; QUAGLIARIELLO et al., 2016; MARTINELLO; ROMAN; SOUZA, 2017; FRANCAVILLA et al., 2019; UUSITALO et al., 2019; HAKANSSON et al., 2019; DEMIROREN, 2020 |
| Estado nutricional | 2014: aumentos do percentil de altura (P = 0,048) no grupo B. longum CECT 7347. Diferenças significativas nos aumentos percentuais de peso não foram detectadas (*P* = 0 · 234).<br><br>2016: IMC não diferiram significativamente após o tratamento.<br><br>2019: Não teve diferença entre grupo placebo e probióticos (dados não apresentados). | OLIVARES et al. 2014; HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016; HAKANSSON et al., 2019 |

Legenda: DC: Doença Celíaca.

Por conseguinte, na forma atípica, os sintomas acontecem nas crianças entre 5 e 7 anos de idade, nos adolescentes e adultos, apresentando distensão abdominal, náuseas, vômitos e constipação. A manifestação assintomática, também conhecida como silenciosa, é caracterizada pela ausência de sinais e sintomas, mas com positividade nos testes sorológicos. Entretanto, a DC é diagnosticada com mais frequência na infância e na adolescência, mas pode se

desenvolver em qualquer idade. Nos últimos anos vários estudos relataram o aumento da taxa de incidência da DC nos idosos, informando em algumas situações a demora no diagnóstico é justificada pela faixa etária com baixo índice de suspeita e os sintomas são relacionados a outros problemas, por exemplo, as doenças autoimunes, neoplasias, síndrome do intestino irritável, anemia, e alterações nos hábitos intestinais (SANTOS; RIBEIRO, 2019; DOMINGUES, 2017).

Quanto ao diagnóstico, apenas três autores (SMECUOL et al., 2013; HAKANSSON et al., 2019; DEMIROREN, 2020), analisaram os níveis de anti-tTG (anticorpos anti-transglutaminase tecidual) na população estudada, após a suplementação com probióticos. O estudo de Smecuol e colaboradores (2013), teve o objetivo de analisar os marcadores imunológicos inflamatórios presentes nos celíacos antes do tratamento com probióticos e uma GFD avaliando se houve alguma alteração após o tratamento de 3 semanas com probióticos. Dessa forma, a análise final concluiu que as concentrações de anticorpos séricos foram reduzidas nos pacientes que receberam os probióticos em comparação ao grupo placebo, mas que é necessário realizar mais testes com um número maior de participantes e verificar se após um período sem utilizar a suplementação os efeitos ainda vão ser positivos. Por outro lado, o estudo de Hakansson et al. (2019), comparou os níveis de autoanticorpos tTG na população estudada após a suplementação de probióticos, concluindo que não houve diferença geral nos níveis medianos do autoanticorpo tTG entre os dois grupos (placebo e probióticos) ao longo do tempo, embora a diminuição nos níveis fosse mais forte para IgA-tTG do que para IgG-tTG. O terceiro estudo (DEMIROREN, 2020), analisou os níveis de anti-tTg após 2 a 6 meses de suplementação, concluindo que os pacientes do grupo simbiótico tiveram uma redução significativa nos níveis de anti-tTG em comparação com o grupo controle, observando que os pacientes que a avaliação histopatológica não confirmou o diagnóstico de DC e apresentam níveis elevados de anti-tTG, podem utilizar simbióticos para diminuir os níveis de anti-tTG que são pró-infamatórias. Nesse sentido, a patogênese da DC envolve fatores genéticos, imunológicos e ambientais. Quando a patogênese da DC é desencadeada pela presença do glúten resulta na defesa do sistema imunológico, que o reconhece como um patógeno. Em condições normais o epitélio intestinal é impermeável a macromoléculas como as proteínas do glúten,

e algumas junções celulares funcionam como barreira para essas moléculas. Nos celíacos a permeabilidade intestinal é aumentada, estimulando o sistema imune inato a gerar uma resposta inflamatória e produção de autoanticorpos destruindo a superfície de absorção das células da mucosa duodenal encurtando as microvilosidades desenvolvendo como consequência a atrofia total ou subtotal da mucosa do intestino delgado proximal. Essa resposta imune adaptativa permite a classificação da DC como doença autoimune pela comunidade científica, contribuindo também para o desenvolvimento dos sintomas da ataxia ao glúten e manifestações de sintomas extraintestinais (ESTEVES, 2016; CAMPOS et al., 2018; SILVA, 2017; KAUKINEN; MÄKI, 2014; LEBWOHL; SANDERS; GREEN, 2018; LEONARD et al., 2017).

Outro aspecto analisado por alguns estudos foi o estado nutricional dos participantes após o tratamento com probióticos. De acordo com Olivares e colaboradores (2014), o grupo que recebeu probiótico teve aumento do percentil de altura (P = 0,048), mas não obteve diferenças significativas nos aumentos percentuais de peso. Assim como o estudo de Harnett e colaboradores (2016), os resultados do índice de massa corporal (IMC) final não diferiram significamente após o tratamento. O estudo de Hakansson e colaboradores (2019), concluíram que os dados antropométricos (peso e altura) não foram diferentes entre o grupo placebo e probíotico, porém os dados não foram apresentados na pesquisa. Os sintomas extraintestinais na DC podem variar em gravidade, podendo estar entre estes sintomas clínicos à perda de peso e o déficit no crescimento. Entretanto, alguns estudos revelou o aumento do número de crianças, adolescentes e adultos com sobrepeso e obesidade no momento de diagnóstico da DC. Indicando que esses dados coincidem com as características da população em geral dos países subdesenvolvidos. Por outro lado, a baixa estatura é a manifestação extraintestinal mais comum em crianças por apresentar um grau de atrofia das vilosidades mais grave em comparação aos pacientes com manifestações gastrointestinais ou assintomáticos. Em geral, dentro de 24 meses após o início de uma GFD as crianças celíacas com baixa estatura devem recuperar a altura adequada, quando a baixa estatura é persistente mesmo após a GFD, provavelmente essas crianças possuem outras morbidades associadas, como doença infamatória intestinal, aversão alimentar, deficiência do hormônio do crescimento e síndrome de Turner. No entanto, se o

diagnóstico da DC for após a puberdade a chance de recuperação do crescimento é menor, sendo necessário tratamentos alternativos (SHAHRAKI; SHAHRAKI; HILL, 2018; SIQUEIRA et al., 2014; JERICHO; GUANDALINI, 2018).

Atualmente o principal tratamento para a DC é a exclusão das proteínas gliadina, secalina e a hordeína da dieta, e em pouco mais da metade dos estudos analisados (KLEMENAK et al., 2015; HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016; QUAGLIARIELLO et al., 2016; MARTINELLO; ROMAN; SOUZA, 2017; FRANCAVILLA et al., 2019), citados nos Quadros 1 e 2, todos os participantes com DC eram tratados com uma GFD, antes da suplementação de probióticos. A pesquisa do Smecuol et al. (2013), os participantes tinham uma dieta contendo glúten com consumo de pelo menos 12g por dia, com o objetivo de averiguar se os probióticos utilizados pelos participantes na pesquisa iriam tratar ou melhorar os problemas ocasionados pela DC. Os estudos analisados por Hakansson et al. (2019) e Demiroren (2020), os participantes da pesquisa não estavam em tratamento com uma GFD, com o objetivo de avaliar o efeito do suplemento com probiótico em pacientes geneticamente com risco de desenvolver DC.

**Tabela 3**. Tipos de probióticos utilizados nos estudos da revisão sistemática com principais características analisadas.

| PROBIÓTICOS: TIPOS | QUANTIDADE/ DURAÇÃO | REFERÊNCIAS |
|---|---|---|
| *Bifidobacterium infantis* natren life start strain super strain (Lifestart 2), ($2 \times 10^9$ unidades formadoras de colônia por cápsula) | 2 cápsulas 3 vezes ao dia antes das refeições (café da manhã, almoço e jantar) por 3 semanas | SMECUOL et al. 2013 |
| *Bifidobacterium longum* CECT 7347 ($10^9$ unidades formadoras de colônia/ cápsula por dia). | 1 cápsula por dia por 3 meses | OLIVARES et al. 2014 |
| Mistura de 50% *Bifidobacterium breve* BR03 e 50% *B. breve* B632 (2 x $10^9$ unidades formadoras de colônias). | 2g de pó contendo os probióticos, ingeridos antes do café da manhã por 3 meses. | KLEMENAK et al., 2015 |
| Mistura de bactérias probióticas contendo 450 mil milhões de bactérias liofilizadas viáveis de *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus* | 1 sachê por via oral com água ou suco nas refeições da manhã e da noite por 3 meses. | HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016 |

| | | |
|---|---|---|
| *plantarum, Lactobacillus paracasei*, e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. | | |
| *Mistura de 2 cepas, B. breve* BR03 (DSM 16604) e *B. breve* B632 (DSM 24706) (1:1), administrada como pó liofilizado em uma dosagem diária de $10^9$ Unidades formadoras de colônias (UFC) de cada cepa. | 2 g de pó ingeridas no café da manhã durante três meses. | QUAGLIARIELLO et al., 2016 |
| *Concentração de $10^8$ UFC de Lactobacillus acidophilus e Bifidobacterium lactis.* | Ingestão diária de 100g do iogurte com os porbióticos por 30 dias. | MARTINELLO; ROMAN; SOUZA, 2017 |
| Mistura de 5 cepas de bactérias de ácido láctico e bifidobactérias: *Lactobacillus casei* LMG 101/37 P-17504 ($5 \times 10^9$ UFC/sachê), *Lactobacillus plantarum* CECT 4528 ($5 \times 10^9$ UFC/sachê) , *Bifidobacterium animalis* subsp*. lactis* Bi1 LMG P-17502 ($10 \times 10^9$ UFC/sachê), *Bifidobacterium breve* Bbr8 LMG P-17501 ($10 \times 10^9$ UFC/ sachê*), B.breve* Bl10 LMG P-17500 ($10 \times 10^9$ UFC/ sachê). | 1 sachê com probióticos uma vez por dia por 6 semanas. | FRANCAVILLA et al., 2019 |
| *Lactobacillus reuteri* e *L. rhamnosus*, embora 17% das famílias não conseguiram identificar a marca dos probióticos que usaram. | Primeiro ano de vida. | UUSITALO et al., 2019 |
| *$10^{10}$ UFC / dia de bactérias liofilizadas L. plantarum HEAL9 (DSM 15312) e L. paracasei 8700: 2 (DSM 13434).* | 1,0g do sachê com os probióticos uma vez ao dia por 6 meses. | HAKANSSON et al., 2019 |
| *Incluiu probióticos multi-cepas (NBL Probiotic Gold cachet; Nobel, Istanbul, Turkey; incluindo $2,5 \times 10^9$ UFC de bactérias vivas: Enterococcus faecium , Lactobacillus acidophilus , L. rhamnosus , Bifidobacterium bifidum , B. longum , 625 mg de frutooligossacarídeo e vitaminas A, B1, B2 e B6.* | Dose diária do simbiótico por 20 dias. | DEMIROREN, 2020 |

A GFD deve ser definitiva e permanente, com a possibilidade de reverter as manifestações clínicas e as patologias associadas prevenindo complicações a longo prazo nos celíacos, mas pode desencadear deficiências em cálcio, vitamina B12, vitamina C, folato, magnésio, zinco, selênio, ferro, folato, proteínas e fibras e maior ingesta de gordura, açúcares, sódio e carboidratos. Dito isso, o tratamento para DC deve ser individualizada e monitorada considerando as necessidades nutricionais, idade, sexo, situação fisiopatológica, etapa evolutiva

da doença e o estado de gravidade do paciente (CUNHA; CARNEIRO; AMIL, 2013). Deve-se observar se os sintomas estão sendo persistentes ou evoluindo para uma doença celíaca refratária (DCR) tipo 1 ou tipo 2, quando o paciente não responde ao tratamento direcionado para a DC (RUBIO-TAPIA et al., 2013; SANTOS; RIBEIRO, 2019; TEIXEIRA, 2012; ALCANTARA et al., 2018; LERNER; O'BRYAN; MATTHIAS, 2019; MELINI; MELINI, 2019).

Atualmente além da suplementação das possíveis deficiências nutricionais nos celíacos, vem sendo pesquisado a suplementação de probióticos nessa população. Nos pacientes celíacos a microbiota intestinal está envolvida na progressão, patogênese e apresentação clínica da doença. Nesse sentido, os probióticos podem contribuir para digerir as proteínas do glúten em pequenos polipeptídeos não imunogênicos, diminuindo ou excluindo o gatilho para o desenvolvimento da DC. Além de manter a barreira intestinal impedindo a passagem de polipeptídeos imunogênicos à lâmina própria intestinal e contribui para a homeostase da microbiota intestinal e regular a resposta imune inata e adaptativa do organismo (CHIBBAR; DIELEMAN, 2019; CRISTOFORI et al., 2018). Nesta revisão os estudos analisados utilizaram diferentes tipos de cepas bacterianas, apresentados de forma sumária no Quadro 3. O estudo Smecuol et al. (2013) utilizou o probiótico *Bifidobacterium infantis* natren life start strain super strain (Lifestart 2), ($2\times10^9$ unidades formadoras de colônia por cápsula). Os pacientes receberam 2 cápsulas da suplementação 3 vezes ao dia, por 3 semanas, com uma dieta contendo pelo menos 12g de glúten por dia, demonstrou melhora alguns sintomas da DC não tratada, como a constipação, indigestão e refluxo gastroesofágico. Produz algumas alterações imunológicas, mas não modificam o processo inflamatório sendo necessário maior investigação. O estudo Olivares et al. (2014), verificou os efeitos do probiótico *Bifidobacterium longum* CECT 7347 ($10^9$ unidades formadoras de colônia) diariamente por 3 meses juntamente com uma GFD, em crianças com DC diagnosticadas recentemente. Concluindo que houve benefícios na redução de bactérias potencialmente pró-inflamatórias, reduziu os linfócitos T ativados além de diminuir os marcadores inflamatórios (TNF-α) que podem contribuir para a melhora da homeostase imunológica em pacientes celíacos. A pesquisa de Klemenak et al. (2015), teve como base de estudo duas cepas probióticas *Bifidobacterium breve* BR03 e *B.breve* B632 ($2\times10^9$ unidades formadoras de

colônias) testado por 3 meses em crianças que diariamente ingeriam as culturas probióticas uma vez ao dia, concluindo que a intervenção probiótica com cepas de *B. breve* teve efeito positivo na redução da produção de citocina pró-inflamatória TNF-α na população analisada, mas após um período sem o tratamento do probiótico a citocina aumentou novamente.

Outra pesquisa (HARNETT; MYERS; ROLFE, 2016), misturou bactérias probióticas contendo 450 mil milhões de bactérias liofilizadas viáveis de *Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei*, e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* em um sachê para os participantes diagnosticados com DC tomarem duas vezes ao dia por 12 semanas, concluindo que não houve alterações significantes na microbiota medida nesta população. Em contraste, Quagliariello et al. (2016), utilizou uma formulação contendo B. breve BR03 (DSM 16604) e B. breve B632 (DSM 24706) (1: 1), administrado na forma de pó liofilizado em uma dosagem diária de $10^9$ UFC de cada cepa em pacientes celíacos diariamente por 3 meses. Concluindo que a administração dos probióticos analisados pode tornar a microbiota intestinal de celíacos semelhante aos indivíduos saudáveis, restaurando a quantidade de algumas comunidades microbianas que são importantes para as condições fisiológica normais. Outro ensaio (MARTINELLO et al., 2017), analisou a suplementação de probióticos em celíacos após o consumo diário de 100g de iogurte contendo $10^8$ UFC de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* por 30 dias. Concluindo que a suplementação aumentou significativamente o número de bifidobactérias nas fezes dos celíacos, mas não foi suficiente para atingir a concentração encontrada em indivíduos saudáveis, o resultado do ph fecal de ambos os grupos não foram significativamente diferentes. Enquanto que outro estudo (FRANCAVILLA et al., 2019), avaliou os efeitos da misturara de 5 cepas de bactérias de ácido láctico e bifidobactérias: *Lactobacillus casei* LMG 101/37 P-17504 ($5\times10^9$ UFC/sachê), *Lactobacillus plantarum* CECT 4528 ($5\times10^9$ UFC/sachê) , *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bi1 LMG P-17502 ($10\times10^9$ UFC/sachê), *Bifidobacterium breve* Bbr8 LMG P-17501 ($10\times10^9$ UFC/ sachê), B. breve BI10 LMG P-17500 ($10\times10^9$ UFC/sachê) por 6 semanas em pacientes diagnosticados com DC com adesão a uma dieta GFD com manifestações clínicas do tipo síndrome do

intestino irritável (SII). A análise final do estudo concluiu que o tratamento pode ser benéfico caracterizado pelo aumento de bifidobácteiras na microbiota intestinal, melhorando a gravidade dos sintomas (inchaço funcional, constipação funcional, diarreia funcional e distúrbio intestinal não especificado).

Os autores da pesquisa Uusitalo et al. (2019), analisaram crianças geneticamente suscetíveis à DC e DM1 que utilizaram *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus rhamnosus* no primeiro ano de vida. Concluindo que a suplementação de probióticos no primeiro ano de vida não possui associação protetora para desenvolver autoimunidade para DC ou doença celíaca em crianças com risco aumentado de DM1 e DC. Em um estudo também citado na tabela 1 (HAKANSSON et al*.,* 2019), avaliou os efeitos do suplemento alimentar probiótico contendo cepas selecionadas de *Lactobacillus* de duas espécies diferentes, *L. plantarum* (cepa HEAL9) e *L. paracasei* (cepa 8700: 2) por seis meses, em crianças geneticamente com risco de desenvolver DC que foram testadas positivamente para autoanticorpos de transglutaminase tecidual (tTG), sem uma dieta GFD. Esse estudo concluiu que a administração dos probióticos analisados pode modular a resposta imunológica periférica em crianças com CDA. Por último, outro estudo mais atual (DEMIROREN, 2019), avaliou pacientes com níveis elevados de anti-tTG, mas que não foram histopatologicamente diagnosticados com DC, sem terapia nutricional com GFD. O tratamento com grupo simbiótico foi com multi-cepas NBL Probiotic Gold cachet; Nobel, Istanbul, Turkey; incluindo $2{,}5\times10^{9}$ UFC de bactérias vivas incluindo: *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, L*. rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, 625mg de frutooligossacarídeo e vitaminas A, B1, B2 e B6 por 20 dias. Os resultados desse estudo mostraram que os níveis de anti-tTG diminuíram significativamente no grupo simbiótico em comparação com o grupo controle.

Os estudos analisados apresentaram limitações quanto ao pequeno tamanho da população estudada, os efeitos em longo prazo, duração de tratamento relativamente curta para detectar efeitos clínicos, além de não avaliarem os fatores responsáveis, quando os resultados não foram positivos, deixando questões que precisam ser consideradas para análise em estudos de acompanhamento mais longos.

## 5. Conclusão

Os resultados apresentados nesta revisão podem concluir que a suplementação de probióticos possui efeitos benéficos tanto em pacientes com DC como em crianças geneticamente com risco de desenvolver DC, principalmente associada com uma GFD. Foi observado que ao utilizar mix de cepas com probióticos o resultado é mais eficiente reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e a resposta imunológica periférica, podendo tornar a microbiota intestinal dos celíacos semelhantes aos indivíduos saudáveis, aumentando a contagem de bifidobactérias fecais nos celíacos e melhorando sintomas como inchaço, constipação, diarreia e disturbo intestinal não especificado nos pacientes com DC com sintomas do tipo síndrome do intestino irritável. As cepas mais utilizadas foram *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *Lactobacillus plantarum*, *L. paracasei* e *L. acidophilus*. Entretanto, mais pesquisas são necessárias para desenvolver recomendações dietéticas específicas para pacientes celíacos, quais cepas de probióticos utilizar e avaliar o equilíbrio de outras bactérias.

## Referências

ALCANTARA, Guilherme Correia, et al. Complicações da doença celíaca associada ao transgresso à dieta isenta de glúten. **Rev. e-ciência**. Vol. 6(1), p. 42-48. 2018. Disponível em: http://www.revistafjn.com.br /revista/index.php/eciencia/article/view/10/PDF%20362.
DOI: http://dx.doi.org/10.19095/rec.v6i1.362.g136. Acesso em 22-10-2020.

ALMEIDA, Lucas Malta. Prevalência de Doença Celíaca entre usuários idosos do laboratório de Patologia Clínica do Hospital Universitário de Brasília [dissertação]. Brasília (DF): Universidade de Brasília, 2012. 78p. Disponível em: https://repositorio.unb.br/handle/10482/13301. Acesso em 20-10-2020.

BAPTISTA, Carlos Guilherme. Diagnóstico diferencial entre doença celíaca e sensibilidade ao glúten não-celíaca: uma revisão. **International Journal of Nutrology**. Abr, vol. 10(2), p. 46-57. 2017. Disponível em: https://docplayer.com.br/48721794-Diagnostico-diferencial-entre-doenca-celiaca-e-sensibilidade-ao-gluten-nao-celiaca-uma-revisao.html. DOI: 10.1055 /s-0040-1705288. Acesso em 30-08-2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria nº 1149, de 11 de novembro de 2015. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas doença celíaca. nov 11 [acesso em 30-08-2020]; Seção 1. 2015. Disponível em: http://ress.iec.gov.br/ress/home/carregarPagina?lang=pt&p=instrucoesAutores

CAMPOS, Caroline G. Pustiglione, *et al.* Doença celíaca e o conhecimento dos profissionais de saúde da atenção primária. **R. Saúde Públ**. Dez., vol 2, p. 54-62. 2018 Disponível em: http://revista.escoladesaude.pr.gov.br/index.php/rspp/article/view/90. DOI: https://doi.org/10.32811/25954482-2018v1n2p54 . Acesso em 22-10-2020.

CASTILHOS, Amélia C., et al. Quality of life evaluation in celiac patients from southern brazil. **Arq Gastroenterol**. Sep., vol. 52(3), p. 1678-4219. 2015. Disponivel em: https://www.scielo.br/pdf/ag/v52n3/0004-2803-ag-52-03-171.pdf. DOI: 10.1590/S0004-28032015000300003. Acesso em 08-09-2020.

CERQUEIRA, Juliana X. de Miranda, et al. Doença Celíaca e outros distúrbios associados ao glúten. In: COMINETTI, Cristiane; COZZOLINO, Silvia M. Franciscato. Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. 2 th ed. Barueri: Manole; 2020. p. 1378.

CHIBBAR, Richa; DIELEMAN, Levinus A. The gut microbiota in celiac disease and probiotic. **Nutrients**. Oct. vol. 11(10), p. 2375. 2019. Disponível em: https://www.mdpi.com/2072-6643/11/10/2375/htm. DOI: 10.3390/nu11102375. Acesso em 07-10-2020.

CRISTOFORI, Fernanda, et al. Probiotics in Celiac Disease. **Nutrients**. Nov. vol. 10(12):1824, p. 01-13. 2018. Disponível em: https://www.mdpi.com/2072-6643/10/12/1824. DOI: 10.3390/nu10121824. Acesso em 07-10-2020.

CUNHA, Mariana; CARNEIRO, Fatima; AMIL, Jorge. Doença celíaca refratária. **Arquivos de Medicina**. Fev. vol. 27(1), p. 19-26. 2013. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-34132013000100003. Acesso em 10-10-2020.

DEMIROREN, Kaan. Can a Synbiotic Supplementation Contribute to Decreasing Anti-Tissue Transglutaminase Levels in Children with Potential Celiac Disease? **Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr**. Jul., vol. 23(4), p. 397-404. 2020. Disponivel em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32704500. DOI: 10.5223/pghn.2020.23.4.397. Acesso em 01-09-2020.

DOMINGUES, Alessandra dos Santos. Prevalência de doença celíaca em pacientes pediátricos com doença de kawasaki de Brasília [dissertação]. Brasília (DF): Universidade de Brasília, 103p. 2017. Disponível em: https://repositorio.unb.br/handle/10482/24583

ESTEVES, Helena M. P. Damas. Doença celíaca: da patofisiologia e manifestações [dissertação]. Porto: Universidade do Porto, 2016. 35 p. Disponível em: https://repositorio aberto.up.pt/bitstream/10216/87434/2/167001.pdf. Acesso em: 20-10-2020.

FERREIRA, Fatima; INÁCIO, Felipe. Patologia associada ao trigo: Alergia IgE e não IgE mediada, doença celíaca, hipersensibilidade não celíaca, FODMAP. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**. Set, vol. 26(3), p. 171-187. 2018. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/pdf/imu/v26n3/v26n3a02.pdf. Acesso em 30-08-2020.

FRANCAVILLA, Ruggiero, et al. Clinical and Microbiological Effect of a Multispecies Probiotic Supplementation in Celiac Patients With Persistent IBS-type Symptoms. **J Clin Gastroenterol**. Mar., vol. 53(3), p. 117-125. 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29688915. DOI: 10.1097/MCG.0000000000001023. Acesso em 01-09-2020.

GREEN, Peter H, R.; KRISHNAREDDY, Suneeta; LEBWOHL, Benjamin. Clinical Manifestations of Celiac Disease. Digestive Diseases. **J Dig Dis**, Apr vol. 33(2), p. 137-140. 2015 Disponível em: https://europepmc.org/article /med/25925914. DOI: 10.1159/000370204.

HAKANSSON, Asa, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* on the Peripheral Immune Response in Children with Celiac Disease Autoimmunity: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. **Nutrientes**. Aug vol.11(8):1925, p. 01-12. 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31426299/. DOI: 10.3390/nu11081925. Aceso em 11-10-2020.

HARNETT, Joanna; MYERS, Stephen P.; ROLFE, Margaret. Probiotics and the Microbiome in Celiac Disease: A Randomised Controlled Trial. Hindawi Publishing Corporation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. Jun. vol. 16, p. 1-17. 2016. Disponível em: https://www.hindawi.com /journals/ecam/2016/9048574/. DOI: 10.1155/2016/9048574. Acesso em 23-09-2020.

HILL, Colin, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. Jun., vol. 11, p. 506–514. 2014. Disponível em: https://4cau4jsaler1zglkq3wnmje1-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/uploads/2018/11/hill-ISAPP-consensus-panel-probiotic-definition-141.pdf. DOI:10.1038/nrgastro.2014.66. Acesso em 23-09-2020.

HUSBY, S., et al. Guidelines for Diagnosis of Coeliac Disease. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**. Jan., vol 54, p. 136-160. 2012. Disponível em: https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/2012/01000/European_Society_for_Pediatric_Gastroenterology,.28.aspx. DOI: 10.1097/MPG.0b013e31821a23d0. Acesso em: 23-09-2020.

JERICHO, Hilary; GUANDALINI, Stefano. Extra-Intestinal Manifestation of Celiac Disease in Children. **Nutrients**. Jun. Vol. 10(6), p. 755. 2018. Disponível em: https://www.mdpi.com/2072-6643/10/6/755/htm. DOI: 10.3390/nu10060755. Acesso em 07-10-2020.

KAUKINEN, Katri; MÄKI, Markku. Celiac disease in 2013: new insights in dietary-gluten-induced autoimmunity. **Nat Rev Gastrornterol Hepatol**. 2014. Vol. Feb. 11(2), p. 80-82. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24322900/. DOI: 10.1038 / nrgastro.2013.232. Acesso em 07-10-2020.

KLEMENAK, Martina, et al. Administration of Bifidobacterium breve Decreases the Production of TNF-a in Children with Celiac Disease. **Dig Dis Sci**. Nov., vol. 60(11), p. 3386-92. 2015. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26134988/. DOI: 10.1007 / s10620-015-3769-7. Acesso em 15-09-2020.

LEBWOHL, Benjamin; SANDERS, David S.; GREEN, Peter H. R. Celiac disease. **Lancet**. Jul. vol. 391(10115), p. 70-81. 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28760445/. DOI:10.1016/S0140-6736(17)317968. Acesso em 22-09-2020.

LEONARD, Maureen M., et al. Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity: a review. **JAMA**. Aug. vol. 318(7), p. 647-56. 2017. Disponível em: https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2648637. DOI: 10.1001/jama.2017.9730. Aceso em 22-09-2020.

LERNER, Aaron; O'BRYAN, Tomas; MATTHIAS, Torsten. Navigating the Gluten-Free Boom: The Dark Side of Gluten Free Diet. **Frontiers in Pediatrics**. Oct. vol. 7:414, p 1-8. 2019. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2019.00414/full. DOI:10.3389/fped.2019.00414. Acesso em 22-09-2020.

LUDVIGSSON, Jonas F., et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. **Gut**. Jan. vol. 62(1), p. 43–52. 2013. Disponivel em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3440559/. DOI: 10.1136 / gutjnl-2011-301346. Acesso em 25-09-2020.

MACHADO, Maria Estre Pereira da Conceição, et al. Triagem sorológica para doença celíaca em adolescentes. **Rev bras epidemiol**. Mar. Vol. 18(1), p. 149-56. 2015. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/rbepid/v18n1/1415-790X-rbepid-18-01-00149.pdf. DOI: 10.1590/1980-5497201500010012. Acesso em 22-10-2020.

MARTINELLO, Flávia; ROMAN, Camila Fontana; SOUZA, Paula Alves de. Effects of probiotic intake on intestinal bifidobacteria of celiac patients. **Arq Gastroenterol**. Apr-jun, vol. 54(2), p. 85-90. 2017. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000428032017000200085. DOI: 10.1590/s0004-2803.201700000-07. Acesso em 11-09-2020.

MOCAN, Oana; DUMITRAŞCU, Dan L. The broad spectrum of celiac disease and gluten sensitive enteropathy. **Clujul Med**. Jul, vol. 89(3), p. 335-42. 2016. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4990427/. DOI: 10.15386 / cjmed-698. Acesso em 10-10-2020.

MELINI, Valentina; MELINI, Francesca. Gluten-Free Diet: Gaps and Needs for a Healthier Diet. Nutrients. Jan. vol. 11(1):170, p. 01-21. 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30650530/. DOI: 10.3390 / nu11010170. Acesso em 11-09-2020.

OLIVARES M, et al. Double-blind, randomised, placebo-controlled intervention trial to evaluate the effects of Bifidobacterium longum CECT 7347 in children with newly diagnosed coeliac disease. British Journal of Nutrition. Jul. Vol. 1120(1), p.

30-40. 2014. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24774670/. DOI: 10.1017 / S0007114514000609. Acesso em 04-09-2020.

QUAGLIARIELLO, Andrea, et al. Effect of Bifidobacterium breve on the Intestinal Microbiota of Coeliac Children on a Gluten Free Diet: A Pilot Study. **Nutrientes** Oct. vol. 8(660), p. 1-16. 2016. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov /pmc/articles/PMC5084046/#app1-nutrients-08-00660. DOI: 10.3390 / nu 8100660. Acesso em 03-09-2020.

RADLOVIĆ, Nedeljko. Celiac Disease. **Srp Arh Celok Lek**. Feb. vol. 141(1-2), p. 122-126. 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/ publication/236091315 _Celiac_Disease. DOI: 10.2298/ SARH1302122. Acesso em 15-10-2020.

RUBIO-TAPIA, Alberto, et al. American college of gastroenterology clinical Guideline: diagnosis and management of celiac disease. **Am J Gastroenterol**. May, vol. 108(5), p. 656–677. 2013. Disponíve em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles /PMC3706994/. DOI: 10.1038 / ajg.2013.79

SANTOS, Ana Paula Alves, et al. Doença Celíaca: caminhos para o diagnóstico. **Rev Med Minas Gerais**. Out., vol. 24(3), p. 381-387. 2014. Disponível em: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/v24n3a14.pdf. DOI: 10.5935/2238-3182.20140106. Acesso em 15-10-2020.

SANTOS, Andressa Singolani; RIBEIRO, Cilene S. Gomes. Percepções de doentes celíacos sobre as consequências clínicas e sociais de um possivel diagnóstico tardio na doença celíaca. **Demetra: Alimentação, Nutrição e Saúde**. Mar, vol. 14, p.1-17. 2019. Disponível em: https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/demetra/article/view/33310/29088. DOI: 10.12957/demetra.2019.33310. Acesso em 15-10-2020.

SAPONE, Anna, et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. **BMC Med**. Feb, vol. 10:13. 2012 Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3292448/pdf/1741-7015-1013. pdf. DOI: 10.1186 / 1741-7015-10-13. Acesso em 30-08-20.

SHAHRAKI, Touran; SHAHRAKI, Mansour; HILL, Ivor D. Frequency of overweight/obesity among a groupof children with celiac disease in Iran. **Gastroenterology Review**. Feb. Vol. 13(2), p. 127–131. 2018. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6040095/. DOI: 10.5114/pg. 2018.73347. Acesso em 02-10-2020.

SILVA, Juliana C. Carvalho da. Fragilidades no cuidado em saúde às pessoas com Desordens Relacionadas ao Glúten (DRG) [dissertação]. 104p. Rio de Janeiro (RJ): Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: http://www.bdtd.uerj.br/handle/1/7249. Acesso em 22-10-2020.

SIQUEIRA, Adliz da Rocha, et al. Doença celíaca: um diagnóstico diferencial a ser lembrado. **Braz J Allergy Immunol**. Out. Vol. 2(6) p. 241-7. 2014. Disponível

em: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/v2n6a05%20(1).pdf. Acesso em: 02-10-2020.

SMECUOL, Edgardo, et al. Exploratory, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Study on the Effects of Bifidobacterium infantis Natren Life Start Strain Super Strain in Active Celiac Disease. **J Clin Gastroenterol**. Feb, vol. 47, p. 139–147. 2013. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23314670/. DOI: 10.1097 / MCG.0b013e31827759ac. Acesso 11-10-2020.

TEIXEIRA, Nelson F. GAvina. Doença celíaca atualizada [dissertação]. Covilhã: FCS-DCM, Universidade da Beira Interior, 2012. 56p. Disponível em: http://hdl.handle.net/10400.6/1077. Acesso em 22-10-2020.

TORTORA, Rafaella, et al. Coeliac disease in the elderly in a tertiary centre. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**. Jun. Vol. 51:1179-1183. 2016. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365521.2016.1186222. Acesso em 02-10-2020.

UUSITALO, Ulla, et al. Early Probiotic Supplementation and the Risk of Celiac Disease in Children at Genetic Risk. **Nutrientes**. Aug. vol. 11(8):1790, p. 01-14. 2019. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6722940/. DOI: 10.3390 / nu11081790. Acesso em 17-09-2020.

## Autores

Sueli Essado Pereira, Michelle Metsavaht Salomão

1. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), 2002-2021, GO, Brasil.

* Autor para correspondência: suganutrir@gmail.com

# CAPÍTULO 8

## Probióticos na terapia da candidíase vulvovaginal recorrente

Sueli Essado Pereira, Heloisa Vieira Portilho Garcia.

https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c8

**Resumo**

A candidíase vulvovaginal (CVV) é caracterizada por um processo infeccioso causado pelo crescimento desordenado e excessivo de fungos de diferentes espécies do gênero Cândida no trato geniturinário inferior feminino que acomete principalmente a vulva e a vagina. A patogenicidade da *C. albicans* é medida por vários fatores de virulência e pela interação com o sistema imunológico do hospedeiro, sendo fundamental serem identificados para ter sucesso no tratamento. Tem-se observado um grande interesse na utilização de lactobacilos em relação a manutenção da saúde vaginal, visto que os probióticos podem apresentar efeito indireto no tratamento e na prevenção da candidíase recorrente. O objetivo desse trabalho foi identificar na literatura os efeitos benéficos de probióticos específicos que tratam a CVV e nos casos recorrentes. Foi realizada uma revisão sistemática utilizando as principais bases de dados disponíveis: Scientific Electronic Library Online (Scielo), U.S. National Library of Medicine (PubMed) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), mediantes os portais da Biblioteca virtual em Saúde (BVS) e Periódicos Capes, com artigos em humanos, de 2009 a 2020. Em diversos estudos levantados o tratamento da CVV com probióticos teve resultados positivos, cujo mix de cepas aplicado foi eficiente tanto nos aspectos de cura da sintomatologia da doença quanto evitar a recorrência da mesma. Concluiu-se por meio deste estudo que os probióticos apresentam efeitos coadjuvantes no tratamento para candidíase vaginal e também de repetição, cujos estudos foram realizados com cepas específicas do gênero *Lactobacilos*, auxiliando ainda no tratamento medicamento a base de antifúngico.

**Palavras-chave**: candidíase vulvovaginal; leveduras; probióticos; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*.

### 1. Introdução

A candidíase vulvovaginal (CVV) é caracterizada por um processo infeccioso causado pelo crescimento desordenado e excessivo de fungos de diferentes espécies do gênero Cândida no trato geniturinário inferior feminino que acomete principalmente a vulva e a vagina. O gênero Candida pertence à


Thaiane Marques da Silva, Cassandra de Deus (Orgs.) © 2022 Mérida Publishers CC-BY 4.0

classe Ascomycetes e à família *Saccharomycetaceae*, ou seja, um fungo diploide assexual e dimórfico. Dependendo das condições ambientais pode existir como levedura unicelular em forma oval com brotamento (blastosporo e clamidósporo), bem como em diferentes formas filamentosas denominadas hifas e pseudohifas (THOMPSON; CARLISLE; KADOSH, 2011). Clinicamente há um maior interesse nas subespécies de *Cândida albicans, C. glabrata, C. krusei, C. parapsilosis* e *C. tropicalis,* visto que são as responsáveis pela maioria dos casos diagnosticados em ginecologia, apresentando preocupação entre os profissionais de saúde diante do grande número de casos de recorrentes (MATEO, 2017; SALAZAR *et al.,* 2020).

A sintomatologia entre as espécies citadas é muito semelhante, sendo caraterizada pela ocorrência de prurido vulvar intenso, ardência, eritema, fissuras vulvares, edema, dispareunia de introito vaginal, disúria externa. A presença de corrimento vaginal branca que se assemelha a leite coalhado espesso e inodor também e bastante frequente podendo aparecer pontos branco-amarelados na parede vaginal e do colo uterino (FEUERSCHUETTE *et al.,* 2010; FEBRASGO, 2010; RODRIGUES *et al.,* 2013; SOARES *et al.,* 2019).

A patogenicidade da *C. albicans* é medida por vários fatores de virulência e pela interação com o sistema imunológico do hospedeiro. Estes fatores de virulência são essenciais para determinar o papel de patógenos oportunistas nas infeções. *C. albicans* interage com as células epiteliais em termos de adesão, invasão e dano celular (WEINDL; WAGENER; SCHALLER, 2010; SALAZAR *et al.,* 2020).

Alguns fatores de risco potenciais para a CVV têm sido descritos na literatura, incluindo o uso de antibióticos sistêmicos ou tópicos, contraceptivos orais de altas doses, terapias de reposição hormonal, presença de diabetes mellitus, gravidez, uso de roupas justas e/ou sintéticas, absorventes internos, além de deficiências imunológicas específicas. Especula-se também que hábitos higiênicos inadequados podem ser possíveis fatores da contaminação vaginal causada pela cândida (FIRINU *et al.,* 2011; SOUZA, 2017).

De acordo Andrés (2014), a *Candida albicans* representa 80 a 92% dos casos clínicos relatados, podendo o restante ser devido às espécies *não albicans* (C. *glabrata, tropicalis, Krusei, parapsilosis e Saccharomyces cerevisae*). Durante a vida reprodutiva, 10 a 20% das mulheres podem ser diagnosticadas

com *Candida sp*, assintomáticas. Outro estudo do mesmo autor (ANDRÉS, 2015) mostra que a candidíase invasiva representa 10% dos casos de infecções adquirida nos hospitais sendo que essa porcentagem representa infecção invasiva nosocomial, dessas, 30 a 35% representam *C. albicans* como agente etiológico predominante isolados de amostrar clínicas encontrados em 45 a 70% das amostras clínicas e hemoculturas.

Quanto ao tratamento, tem-se observado um grande interesse na utilização de lactobacilos em relação a manutenção da saúde vaginal, visto que os probióticos podem apresentar efeito indireto no tratamento e na prevenção da candidíase recorrente (ETGETON *et al.,* 2011). A palavra probiótico é derivada de duas palavras gregas Pro e Bio que tem como significado “para a vida”. Define-se a palavra probiótico como “microrganismos vivos” que possuem efeitos positivos no hospedeiro e resulta em saúde quando administrado em quantidades ideais (DAVAR *et al.,* 2016).

Nos últimos anos, houve significativos avanços científicos no mercado alimentício com o desenvolvimento de alimentos funcionais, dentre os quais se destacam os probióticos e prebióticos (FONSECA; COSTA, 2010; FIRMIANO *et al.,* 2020). Com intuito de aderir a uma vida melhor e saudável, as pessoas encontram disponíveis os alimentos funcionais que promovem vários benefícios à saúde, fornecendo os nutrientes necessários para prevenção de doenças. Esses alimentos aprimoram a missão dos processos fisiológicos, e conservam o equilíbrio da microbiota intestinal (PEDRO, 2019).

Define-se os prebióticos como substâncias fermentáveis, não digeríveis que promovem o desenvolvimento seletivo e ativa o metabolismo de bactérias benéficas no trato intestinal, especialmente as bifidobactérias. A agregação entre prebióticos e probióticos constituem os simbióticos, sendo indicados por favorecer o desenvolvimento de microrganismos benéficos (TSUTSUMI *et al.,* 2011). No entanto, o desequilíbrio da microbiota intestinal é conhecido como disbiose, podendo afetar o estado de saúde do ser humano, englobando tanto o sistema imunológico quanto o trato urogenital feminino visto que a microbiota intestinal é constituída por bactérias, fungos, vírus e elementos genéticos indispensáveis à saúde pois, desenvolve o sistema imunológico exercendo funções metabólicas e atuando quando em equilíbrio como barreira protetora contra a invasão de patógenos (PALUDO; MARIN, 2018).

Já a microbiota vaginal em seu estado normal é composta em sua grande parte por lactobacilos produtores de peróxido (bacilos de Döderlein) que possui a função de formar ácido lático a partir do glicogênio. Lactobacilos são incluídos na manutenção da microbiota vaginal em equilíbrio prevenindo o crescimento de organismos patogênicos e oportunistas. Para que os lactobacilos predominem na flora, é fundamental manter ácido o pH da região entre 3,5 e 4,5 (ETGETON et al., 2011).

Considerando este contexto, o objetivo desta pesquisa foi identificar na literatura os efeitos benéficos de probióticos específicos que tratam a candidíase vulvovaginal (CVV) recorrente.

## 2. Métodos

Esse estudo propôs uma revisão sistemática integrativa, que teve como objetivo levantar um resumo das evidências relacionadas ao uso de probióticos relacionados a disbiose intestinal associada a candidíase considerando seus efeitos na prevenção e no tratamento de doenças oportunistas, de acordo com os objetivos propostos. A pesquisa foi composta por estudos realizados em humanos entre os anos de 2009 a 2020.

Foram utilizadas palavras-chave isoladas e combinadas entre si: Candidíase, cândida albicans, disbiose, microbiota, probióticos, suplementação de probióticos, probióticos e sua relação na prevenção e no tratamento de patologias bem como seus benefícios ao seres humanos. As seguintes bases de dados foram utilizadas: Scientific Electronic Library Online (Scielo), U.S. National Library of Medicine (PubMed) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), mediantes os portais da Biblioteca virtual em Saúde (BVS) e Periódicos Capes.

Os artigos científicos encontrados nas revistas foram: Revista Iberoamericana de Micologia, Micología clínica, Revista brasileira Ginecologia e Obstetrícia, Jornal de micologia médica, Revista Brasileira de Medicina, Revista Brasileira de Ciência, Revista Brasileira de Nutrição entre outras com classificação Qualis acima de B5. Sendo realizadas leituras do conteúdo de texto dos artigos selecionados na íntegra presentes na (Figura 1).

Os critérios de inclusão dos artigos utilizados foram: aqueles realizados em humanos e sem conflitos de interesse, a partir de 2009. Foram excluídos da

revisão, os estudos feitos em animais e aqueles que foram publicados antes do período proposto. Assim como artigos que não possuírem textos completos ou declararem conflitos de interesse.

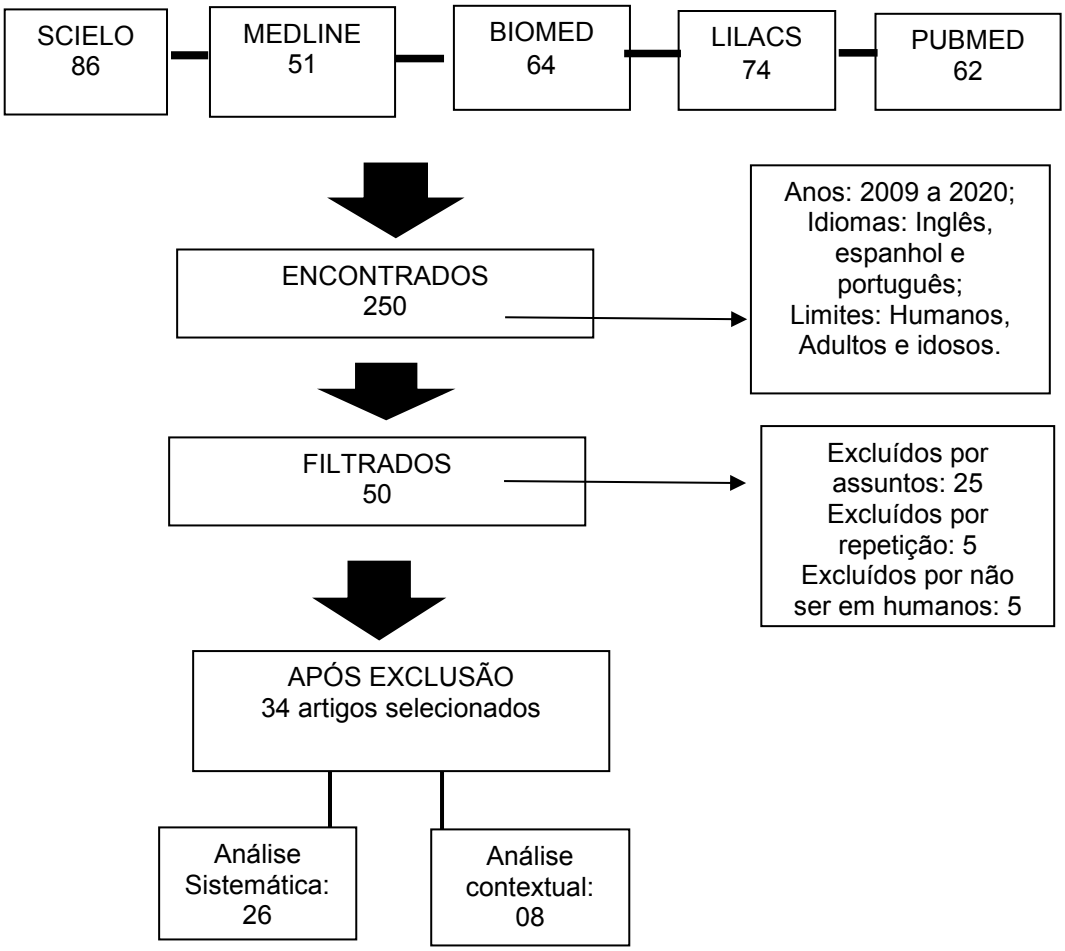



**Figura 1**. Fluxograma do detalhamento da busca de artigos para revisão sistemática integrativa.

## 3. Resultados

Os principais estudos encontrados constam no Quadro 1, onde variou de pesquisas randomizadas, estudos epidemiológicos, transversais, ensaios clínicos, estudo quantitativo. Para se chegar nestes resultados, essa pesquisa seguiu um fluxograma de busca nas bases de dados já relatadas, como mostra a Figura 1.

De acordo com a pesquisa de revisão de Paludo & Marin (2018), ficou caracterizado que os probióticos podem promover efeitos benéficos no equilíbrio da flora intestinal, melhorando a imunidade, e realizando de forma integrada

resultados positivos no tratamento para candidíase vaginal e de repetição. Em nossa pesquisa, os artigos relacionados no quadro 1 evidenciam os seguintes efeitos: redução da sintomatologia da doença como inflamação, virulência, secreção, prurido, ardor (MARTINEZ *et al.*, 2009a; SETA *et al.*, 2014; JANG *et al.,* 2019) além de outro grupo comprovar a eficácia na redução da recorrência por inibição da levedura (MARTINEZ *et al.,* 2009b; BALDIM *et al.,* 2012; DAVAR *et al*., 2016; EHRSTROM *et al*., 2010; VICARIOTTO *et al*., 2012).

**Quadro 1**. Análise descritiva dos artigos cujos estudos avaliaram os efeitos de probióticos no tratamento da candidíase vulvovaginal recorrente – artigos originais de 2009 a 2019.

| AUTOR /ANO | Título e TIPO DE PESQUISA | PUBLICO-ALVO (+N)<br><br>LOCAL | PRINCIPAIS CONCLUSÕES |
|---|---|---|---|
| 1- BALDIM *et al.,* 2012 | Teste de sensibilidade ao **quefir** de cepas de *Candida sp*. isoladas de vulvovaginites<br><br>Tipo de Pesquisa:<br><br>Estudo quantitativo empírico | N / sexo = Feminino<br><br>Idade (ou faixa etária): Mulheres adultas<br><br>Amostras coletadas: 44<br><br>LOCAL: Alfenas/MG | Quanto à sensibilidade das cepas isoladas ao quefir, todas as *C. albicans* foram resistentes à associação quefir + base não iônica, o quefir apresentou uma eficácia de 68,48% na inibição das leveduras analisadas |
| 2- MARTINEZ *et al.,* 2009[a] | Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 on the ability of *Candida albicans* to infect cells and induce inflammation<br>Tipo de pesquisa: Estudo clínico, randomizado. | N / sexo = Feminino<br><br>Idade (ou faixa etária): Três grupos de mulheres adultas<br><br>LOCAL: Ribeirão Preto, São Paulo | O presente estudo demonstra que *C. Albicans* estimula a produção pelas células VK2 / E6E7 das citocinas pró-inflamatórias IL-8 e IL-1α.<br><br>L. reuteri RC - 14 (sozinho) e em combinação com *L. rhamnosus* GR - 1 foi capaz de inibir o crescimento de C. albicans conforme determinado em 24 horas de incubação a 37 ° C. |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 3- DAVAR *et al.,* 2016 | Comparing the Recurrence of Vulvovaginal Candidiasis in Patients Undergoing Prophylactic Treatment with Probiotic and Placebo During the 6 Months<br>Tipo de pesquisa: Estudo clínico randomizado, duplo-cego | N / sexo = 76 mulheres / Feminino<br>Idade (ou faixa etária): Adultas<br>LOCAL: Yazd, Iran | Os resultados demonstraram que tomar probióticos com azol<br>medicamentos antifúngicos podem ser altamente eficazes no tratamento de CVV, resultando em uma menor taxa de recorrência também. Pensando que mais estudos são necessários para determinar o tipo apropriado<br>e dose e via de administração de probióticos. (Oral ou<br>vaginal). |
| 4- EHRSTROM *et al*., 2010 | Lactic acid bacteria colonization and clinical outcome after probiotic supplementation in conventionally treated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis.<br>Tipo de estudo: Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. | N / sexo = 95 Mulheres / Feminino<br>Idade (ou faixa etária): Adultas<br>LOCAL: Stockholm, Pennsylvania | Cápsulas vaginais contendo *Lactobacillus gasseri* LN40, *L. fermentum* LN99, *L. casei subsp. rhamnosus* LN113 e *P. acidilactici* LN23. 93% das mulheres que receberam cepas de LN foram curadas 2-3 dias após a administração (placebo: 83%), e 78% após uma menstruação (placebo: 71%). Em resumo, cinco dias de administração vaginal de cepas de LN após tratamento convencional de vaginose bacteriana e/ou candidíase vulvovaginal levam à colonização vaginal, um pouco menos recorrências e menos corrimento. |
| 5- DE SETA *et al.,* 2014 | *Lactobacillus plantarum* P17630 for preventing Candida vaginitis recurrence: a retrospective comparative study<br>Tipo de estudo: Estudo comparativo retrospectivo. | N / sexo = 89 Mulheres/ Feminino<br>Idade (ou faixa etária): Adultas<br>LOCAL: Trieste, Italy | No final do estudo, as mulheres tratadas com probióticos (*Lactobacillus plantarum* P17630) mostraram um aumento estatisticamente significativo nos valores de *Lactobacillus*, e uma melhor resolução subjetiva dos sintomas, como desconforto vaginal descrito como ardor ou prurido, e nenhum efeito adverso foi relatado. |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 6- VICARIOTTO *et al.,* 2012 | Effectiveness of the Association of 2 Probiotic Strains Formulated in a Slow Release Vaginal Product, in Women Affected by Vulvovaginal Candidiasis<br>Tipo de estudo: Ensaio clínico estudo piloto | N / sexo = 30 Mulheres/ Feminino<br>Idade (ou faixa etária): Adultas<br>LOCAL: Milan, italy | A administração do produto *ActiCand 30* foi capaz de resolver significativamente os sintomas de levedura Candida após 28 dias em 26 pacientes de 30 (correspondendo a 86,6%). |
| 7- JANG *et al.,* 2019 | Vaginal lactobacilli inhibit growth and hyphae formation of Candida albicans<br>Tipo de estudo: Estudo epidemiológico | N / sexo = 9 Mulheres/ Feminino<br>Idade (ou faixa etária): Adultas (25 a 79 anos)<br>LOCAL: Coreia do Sul | Isolaram 51 linhagens de lactobacilos vaginais, compreendendo quatro espécies de *Lactobacillus* (*L. fermentum, L. crispatus, L. jensenii e L. gass*eri). Os LCS das estirpes de *L. fermentum* exibiram uma potente atividade anti-Candida quando ajustados ao pH neural e ao seu pH levemente ácido, sugerindo que essas linhagens produzem atividades antifúngicas. |
| 8- MARTINEZ *et al.,* 2009b | Improved treatment of vulvovaginal candidiasis with fluconazole plus probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14<br>Tipo de estudo: Método aleatório, duplo-cego e<br>Estudo controlado com placebo. | N / sexo = 55 mulheres / Feminino<br>Idade (ou faixa etária): Adultas<br>LOCAL: Ribeirão Preto, São Paulo | Além da dose única do medicamento fluconazol, grupo recebeu duas cápsulas probióticas (com *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 e *L. reuteri* RC-14). Após 30 dias, o grupo tratado mostrou significativamente menos corrimento vaginal associado a qualquer um dos sintomas acima mencionados. Este estudo mostrou que os lactobacilos probióticos podem aumentar a eficácia de um agente farmacêutico antifúngico na cura de doenças. |

Na compilação dos resultados, observou-se que os seguintes estudos: Martinez *et al* (2009a,b), De Seta *et al.* (2014), Jang *et al.* (2019), Baldim *et al.* (2012), Davar *et al.* (2016), Ehrstrom *et al*. (2010), Vicariotto *et al.,* (2012), todos foram positivos no tratamento da CVV com probióticos em 354 mulheres analisadas no total. Os probióticos *Lactobacillus reuteri RC-14, Lactobacillus*

*rhamnosus GR-1, Lactobacillus fermentum LN99,* assim como as cepas presentes na cultura do Quefir, foram aplicados isolados e tiveram efeitos positivos ou em conjunto com outros gêneros como L. *fermentum, L. crispatus, L. Jensenii, L gasseri LN40 L. casei subsp. rhamnosus LN113 e P. acidilactici LN23.* Todas eles promoveram resultados ainda mais eficientes tanto nos aspectos de cura da sintomatologia da doença quanto evitar a recorrência da mesma. Dos estudos analisados, Davar e colaboradores (2016), relatam que são necessários mais estudos para determinar o tipo apropriado de dose e via de administração de probióticos (oral ou vaginal).

## 4. Discussão

A CVV é caracterizada por uma infecção oportunista da mucosa do trato genital feminino, que atingi cerca de 75% das mulheres em alguma fase da vida (MATSUBARA *et al.,* 2016; SOUZA, 2017; LIMA, 2022).

De acordo com as pesquisas realizadas no estudo de Foxman *et al.* (2013), onde foram avaliadas 6 mil mulheres em países ocidentais e dessas, entre 29% e 49% das mulheres participantes relataram ter sido diagnosticada com infecção por fungos vaginais durante a vida. Mais de um quinto das mulheres que relataram uma infecção vaginal por levedura também relatou um período de 12 meses com 4 ou mais infecções (RCVV) (9% no total). A probabilidade cumulativa de RCVV após uma infecção vaginal inicial era muito alta. Aos 25 anos, a probabilidade era de 10% para as mulheres que tiveram 1 infecção inicial por fungos. Aos 50 anos, era de 25%.

Analisando os artigos do quadro 1, observa-se que existe uma prevalência significativa de mulheres diagnosticadas com CVV, variando entre 40 a 80% (BALDIM *et al.,* 2012; DAVAR *et al.,* 2016) quando foi levantado o índice de mulheres contaminadas, e no caso de analisadas apenas mulheres já com o diagnóstico desse transtorno (MARTINEZ *et al*., 2009a; EHRSTROM *et al.,* 2010; DE SETA *et al.,* 2014; JANG *et al*., 2019; MARTINEZ *et al.,* 2009b).

Atualmente, mais de 40 das 200 espécies conhecidas de *Candida* tem sido associada às infecções humanas. As leveduras do gênero *Candida* existem como comensais no organismo, encontram-se na microbiota humana desde o nascimento, a princípio sem causar infecções, se estiverem em quantidades adequadas e em condições imunológicas apropriadas, vivendo assim, com o

hospedeiro durante toda a sua vida. Podem colonizar principalmente o trato gastrointestinal, a cavidade bucal, a vagina, os aparelhos respiratório e urinário, entre outras localizações (RAZZAGHI-ABYANEH; SHAMS-GHAHFAROKHI; RAI, 2016). Nesta revisão presente, todos os estudos foram analisados considerando a *Candida sp*. (MARTINEZ *et al.,* 2009a; EHRSTROM *et al.,* 2010; DE SETA *et al.,* 2014; JANG *et al.,* 2019; MARTINEZ *et al.,* 2009b; BALDIM *et al.,* 2012; DAVAR *et al.,* 2016; VICARIOTO *et al.,* 2012).

Os probióticos são classificados como alimentos funcionais, compostos por microrganismos vivos, que atuam na melhora do quadro de disbiose intestinal quando consumidos de forma regular e em quantidades adequadas (FONSECA; COSTA, 2010). Para que um probiótico possa ser utilizado na alimentação ou como componente de uma medicação ele precisa sobreviver à passagem do trato gastrointestinal e se proliferar no intestino (VANDENPLAS; HUYS; DAUBE, 2015). Em um intestino adulto saudável, o microbioma se compõe de microorganismos promotores da saúde, em sua maioria pertencente aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus.* Esses gêneros estão presentes em iogurtes, produtos lácteos fermentados e suplementos alimentares (FERREIRA, 2014; FIRMIANO, 2020).

Segundo Paludo & Marin (2018), os probióticos apresentam efeitos benéficos no equilíbrio da flora intestinal aumentando assim o sistema imune e são coadjuvantes no tratamento para candidíase vaginal e de repetição. Neste presente estudo, foram encontrados 8 artigos que analisaram o efeito de probióticos na CVV, chegando a conclusões positivas, mas com tipos de cepas específicas, conforme já descritas nos resultados (MARTINEZ *et al*., 2009a; EHRSTROM *et al*., 2010; DE SETA *et al*., 2014; JANG *et al*., 2019; MARTINEZ *et al*., 2009b; BALDIM *et al*., 2012; DAVAR *et al.,* 2016; VICARIOTO *et al*., 2012).

Quanto ao *quefir*, é uma mistura constituída por levedura fermentadora de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus, Saccharomyces cerevisae* e *Saccharomyces exiguus*), além de bactérias (*Lactobacillus casei, Bifidobaterium sp* e *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus*) definida pela Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007).

De acordo com Romanin e colaboradores (2010), o *quefir* é definido por um composto de probióticos que se originou na montanha Caucasianas

localizada na Rússia, decorrente da ação da microbiota natural presente nos “grãos” ou biomassa de *quefir*. Também conhecido como *kefir, tibicos, cogumelos tibetanos*, e quando cultivado no leite a bebida é denominada como plantas de iogurte, cogumelos do iogurte que é um leite fermentado produzido a partir dos grãos e/ou da biomassa de quefir. A biomassa de *quefir* é definida como uma associação simbiótica de leveduras, bactérias ácido-láticas, bactérias ácido-acéticas e fungos, e são envolvidas por polissacarídeos denominado kefirana. A biomassa de quefir pode ser considerada como uma fonte adequada de potenciais micro-organismos probióticos. Sendo assim, verifica-se a sua atuação eficiente no tratamento da CVV visto que vários estudos analisados no quadro 1 comprovam a eficácia da utilização dos probióticos na intervenção à candidíase.

Num estudo de revisão realizado por Salazar e colaboradores (2020), foi compilado os principais resultados positivos sobre as ações de cepas isoladas ou em conjunto, antagônicas a diversos tipos de espécies de *Candida*, com maior propriedade visível contra *Candida albicans*, apesar de delimitar outras espécies. São as seguintes: *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), *L. rhamnosus* LC705, *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* JS, *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus, L. fermentum, L. reuteri, Bifidobacterium breve, B. bifidum, B. longum, B. lactis, L. delbrueckii subsp. bulgaricus and Saccharomyces thermophiles, S. boulardii.*

Pode-se observar que poucos estudos não obtiveram benefícios com a suplementação de probióticos para reduzir a sintomatologia da candidíase vulvaginal.

Conclui-se, portanto, que os probióticos apresentam efeitos coadjuvantes no tratamento para candidíase vaginal e de repetição. No entanto, fazem-se necessários mais estudos a fim de definir melhor a dosagem correta e os melhores efeitos apresentados a depender da via de administração (oral ou vaginal) com o uso de probióticos na CVV.

## 5. Referências

ANDRÉS, Guillermo Quindós. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. **Rev Iberoam Micol**. v.31, p. 42-48. 2014.

Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.10.001. Acesso em 24/09/2019.

ANDRÉS. Guillermo Quindós. Micología clínica. Espanha: Elsevier; 2015. 302p. ISBN: 849022594X.

BALDIM, I. Mendes et al. Teste de sensibilidade ao quefir de cepas de Candida sp. isoladas de vulvovaginites. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 33 n. 3, p. 379-383, 2012. Disponível em: https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/274. Acesso em 24/05/2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução n° 46, de 23 de outubro de 2007. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados.
Disponívelem:https://www2.ufrb.edu.br/kefirdoreconcavo/images/22_03_12_artigo01. pdf. Acesso em 17/10/2019.

DAVAR, Robab et al. Comparing the recurrence of vulvovaginal candidiasis in patients undergoing prophylactic treatment with probiotic and placebo during the 6 months. **Prob Anti Prot Set**; v. 8 n. 3, p.130-133. 2016. Doi: 10.1007/s12602-016-9218-x.

DE SETA, F. et al. Lactobacillus plantarum P17630 for preventing Candida vaginitis recurrence: a retrospective comparative study. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. 2014; 182(1): 136-139.

EHRSTRÖM, Sophia et al. Lactic acid bacteria colonization and clinical outcome after probiotic supplementation in conventionally treated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. **Microbes and infection**. 2010; 12(10): 691-699.

ETGETON, S. Americo et al. Influência da co-agregação entre Candida albicans e Lactobacillus acidophilus na capacidade de adesão destes microrganismos as células epiteliais vaginais humanas (CEVH). **Acta Scientiarum, Heath Sciences**, Jan-Jun; v. 33, n. 1, p. 1-8. 2011. DOI: 10.4025/actascihealthsci.v33i1.7218

FEBRASGO. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (Brasil). Manual de Orientação em Trato Genital Inferior. São Paulo: FEBRASGO; 2010.

FERREIRA, Geysa Souza. Disbiose intestinal: aplicabilidade dos prebióticos e dos probióticos na recuperação e manutenção da microbiota intestinal. [Monografia], Palmas: Centro Universitário Luterano de Palmas - ULBRA; 2014.

FEUERSCHUETTE, Otto R. May et al. Candidíase vaginal recorrente: manejo clínico. **FEMINA**. v. 38, n. 2, p. 31-36. 2010; Disponível em: http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2010/v38n1/a005.pdf

FIRINU, Davide et al. Successful treatment of chronic mucocutaneous candidiasis caused by azole-resistant Candida albicans with posaconazole. **Clin Dev Immunol**; v. 2011, p. 1-4. 2011. Doi:10.1155/2011/283239. Disponível em:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3003968/pdf/CDI2011-283239.pdf. Acesso em 24/09/2019.

FIRMIANO, Letícia et al. Benefício dos Alimentos Usados como Terapia Complementar para Candidíase Vulvovaginal Recorrente. **Id on Line Rev.Mult. Psic**., Dezembro, v.14, n.53, p. 913-925. 2020. ISSN: 1981-1179

FONSECA, Fernanda Carrilho Pinto; COSTA, Célia Lopes da. Influência da nutrição sobre o sistema imune intestinal. **Rev Ceres: Nutrição & Saúde**; v. 5, n. 3, p. 163-174, 2010. Disponível em: https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/ceres/article/view/1946/1508. Acesso em 24/09/2019.

FOXMAN, Betsy et al. Prevalence of Recurrent Vulvovaginal Candidiasis in 5 European Countries and the United States: Results From an Internet Panel Survey. **Journal of Lower Genital Tract Disease**; v. 17, n. 3, p. 340–345. 2013. DOI: 10.1097/LGT.0b013e318273e8cf.

JANG, Sung Jae et al. Vaginal lactobacilli inhibit growth and hyphae formation of Candida albicans. **Scientific reports**, v. 9, n.1, p. 1-9, 2019. https://doi.org/10.1038/s41598-019-44579-4.

LIMA, Maria Beatriz. O papel dos probióticos nas vulvovaginites em mulheres em idade reprodutiva: protocolo revisão de escopo. [Monografia], Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2022.

MATEO, Oihane Garrido. Complejo de especies de Candida parapsilosis: revisión de su epidemiología, patogenia, identificación, tipado y sensibilidad antifúngica [monografia]. Leioa: Universidad del País Vasco; 2017.

MARTINEZ, Rafael Chacon Ruiz et al. Effect of Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus reuteri RC-14 on the ability of Candida albicans to infect cells and induce inflammation. **Microbiology and immunology**; v. 53, n. 9, p. 487-495, 2009a. https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2009.00154.x

MARTINEZ, Rafael Chacon Ruiz et al. Improved treatment of vulvovaginal candidiasis with fluconazole plus probiotic Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus reuteri RC-14. **Letters in applied microbiology**; v. 48, n. 3, p. 269-274. 2009b. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2008.02477.x

MATSUBARA, V. H.; BANDARA, H. M. H. N.; MAYER, P. A.; SAMARANAYAKE, L. P.; Probiotics as Antifungals in Mucosal Candidiasis. **Clinical Practice**; v. 62 (1 May) 2016. Disponível em: https://academic.oup.com/cid/article/62/9/1143/1745140. Acesso em 20/05/2022.

PALUDO, Rafaela Mulinari; MARIN, Débora. Relação entre candidíase de repetição, disbiose intestinal e suplementação com probióticos: uma revisão. **Rev Destaques Acadêmicos, Lajeado**, v. 10, n. 3, 2018. ISSN 2176-3070 DOI: http://dx.doi.org/10.22410/issn.2176-3070.v10i3a2018.1745.

PEDRO, Laice Rafaela Costa. Efeitos da suplementação de kefir em mulheres com queixas gastrointestinais [monografia]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 2019.

RAZZAGHI-ABYANEH, Mehdi; SHAMS-GHAHFAROKHI, Masoomeh; RAI, Mahendra. (Eds.). Medical mycology: Current trends and future prospects. CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016. ISBN: 9780429088940 0429088949.

RODRIGUES, Marcio Tavares et al. Associação entre cultura de secreção vaginal, características sociodemográficas e manifestação clínicas de pacientes com diagnóstico de candidíase vulvovaginal. **R Br Ginecol Obstet**; v. 35, n.12, p. 554-61, 2013.

ROMANIN, David et al. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. **International Journal of Food Microbioly**. Vol. 140, n. 3, p. 102 -108. 2010. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.014.

SALAZAR, S. B.; SIMÕES, R. S.; PEDRO, N. A.; PINHEIRO, M. J.; CARVALHO, M. F. N. N.; MIRA, N. P. An Overview on Conventional and Non-Conventional Therapeutic Approaches for the Treatment of Candidiasis and Underlying Resistance Mechanisms in Clinical Strains. **J. Fungi**, 6, 23, 2020. Disponível em: https://www.mdpi.com/search?q=An+Overview+on+Conventional+and+Non-Conventional+Therapeutic+Approaches+for+the+Treatment+of+Candidiasis+and+Underlying+Resistance+Mechanisms+in+Clinical+Strains&journal=jof&article_type=review-article. Acesso em 18/05/2022.

SOARES, Dagmar Mercado et al. Candidíase vulvovaginal: uma revisão de Literatura com abordagem para Candida albicans. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR** (ISSN online: 2317-4404) Vol.25, n.1, pp.28-34 (Dez 2018 – Fev 2019). Disponível em http://www.mastereditora.com.br/bjscr. Acesso em 18/05/22.

SOUZA, Maria Aparecida Feliciano de. Patogenia e diagnóstico da candidíase vaginal [Monografia] Recife: Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e Centro de Capacitação Educacional, 2017. Disponível em: https://www.ccecursos.com.br/img/resumos/04-patogenia-e-diagn-stico-da-candid-ase-vaginal.pdf. Acesso em 24/05/2022.

THOMPSON, Delma S.; CARLISLE, Patricia L.; KADOSH, David. Coevolution of morphology and virulence in Candida species. **R Euk Cell**, vol. 10, n. 9, p.: 1173-1182. 2011; Doi: 10.1128/EC.05085-11

TSUTSUMI, Silvia Haruka et al. Uso de simbiótico em idosos politraumatizados com obstipação crônica. **Rev Ger Gerontologia**, v. 5, n. 1, p. 8-13. 2011. Disponível em: https://cdn.publisher.gn1.link/ggaging.com/pdf/v5n1a03.pdf. Acesso em 24/05/2022.

VANDENPLAS, Yvan; HUYS, Geert; DAUBE, Georges. Probiotics: na update. **J Pediatr (Rio J)**; v. 91, n. 1, p. 6-21. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jped.2014.08.005. Acesso em 17/10/2019.

VICARIOTTO, Franco et al. Effectiveness of the association of 2 probiotic strains formulated in a slow release vaginal product, in women affected by vulvovaginal candidiasis: a pilot study. **Journal of clinical gastroenterology**; v. 46, n. 1, p. 73-80. 2012. doi: 10.1097/MCG.0b013e3182684d71.

WEINDL, Gunther; WAGENER, J; SCHALLER, Martin. Epithelial cells and innate antifungal defense. **J Dent Res**; v. 89, n. 7, p. 666-75; 2010. Doi: 10.1177/0022034510368784

## Autores

Sueli Essado Pereira, Heloisa Vieira Portilho Garcia.

1. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), 2002-2021, GO, Brasil.

* Autor para correspondência: suganutrir@gmail.com

MÉRIDA
PUBLISHERS

www.meridapublishers.com