REVISTA
DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES
v. 77, n. 1, jan-mar 2022

*Revisão* DOI: 10.14295/2238-6416.v77i1.869

# POTENCIAL PROBIÓTICO DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO MINAS ARTESANAL

**Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from artisanal Minas cheese**

*Ana Carolina Alves Vieira[1*], Elisa Helena Paz Andrade[1], Carla Ferreira Soares[1], Leonardo Borges Acurcio[2], Thamiris Carolina Souza Mello[3], Marcelo Resende de Souza[1]*

---

**RESUMO**

Alimentos funcionais são aqueles que, além de oferecerem nutrientes, promovem um ou mais benefícios ao corpo humano. Entre eles, se destacam aqueles que veiculam microrganismos probióticos. O Queijo Minas Artesanal (QMA), tradicionalmente feito com leite cru em propriedades rurais do Estado de Minas Gerais, Brasil, apresenta uma grande diversidade microbiana, incluindo microrganismos com potencial probiótico. As bactérias do ácido-lático (BAL), encontradas nesse queijo, são de grande relevância e se caracterizam pela fermentação da lactose para a produção de ácido lático, portanto, sendo amplamente utilizadas no processamento de alimentos. O desenvolvimento de pesquisas com o objetivo de aumentar o conhecimento sobre a microbiota presente no QMA e seus potenciais efeitos probióticos proporciona novas perspectivas para a melhoria da qualidade e segurança alimentar, ajudando também a preservar os microrganismos desejáveis. Devido à grande importância econômica e cultural do QMA e aos efeitos benéficos à saúde associados aos probióticos, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre potencial probiótico de BAL isoladas dessa variedade de queijo. A análise de estudos, de acordo com resultados de testes

---

1 Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Belo Horizonte, MG, Brasil. E-mail: anacarolina.alves876@gmail.com
2 Centro Universitário de Formiga, Formiga, MG, Brasil.
3 Universidade Federal de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*Autor para correspondência

***Recebido / Received: 10/05/2021***
***Aprovado / Approved: 10/08/2021***

*in vitro* e *in vivo*, revelou que microrganismos isolados de QMA apresentaram resultados desejáveis quanto aos potenciais efeitos probióticos, porém, alguns deles apresentaram resistência aos antimicrobianos. O QMA representa uma importante fonte de microrganismos desejáveis e novos estudos devem ser realizados a fim de identificar candidatos para uso como probióticos.

**Palavras-chave:** alimento funcional; derivado lácteo; microrganismos probióticos; resistência a antimicrobianos.

**ABSTRACT**

The present study aimed to evaluate the safety, antimicrobial and technological properties of lactic acid bacteria from artisanal Colonial-type cheese marketed at streets fair in Pelotas, RS. A total of 73 isolates were characterized as BAL after Gram's method and catalase test. All strains were gelatinase and DNase negative, regarding hemolytic activity, seven were detected as α and two as β-hemolytic, exerting 63 BAL that demonstrated sensitivity to the chloramphenicol and tetracycline antibiotics. The antagonistic activity was verified by the spot-on-the-lawn method and the evaluation of the production of bacteriocins by the diffusion technique in wells. Four BAL (C1BAL10, C2BAL2, C4BAL1, and C4BAL5) were able to produce BLIS anti-*Listeria*, extracellular proteinases, and of these C2BAL2 and C4BAL1 were characterized as rapid acidifying cultures. After molecular testes were identified as *Lactobacillus acidophilus* and *Lactococcus lactis.* The results suggest two strains as potential candidates in the biopreservation of dairy products.

**Keywords:** antagonism, pathogenicity, bacteriocinogenic.

## INTRODUÇÃO

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 1999), alimentos funcionais são aqueles que, além de possuírem funções nutricionais básicas, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos no consumidor, devendo ser seguros para consumo sem supervisão médica (CROWE; FRANCIS, 2013). Dentre esses alimentos, destacam-se aqueles que veiculam microrganismos probióticos.

O Queijo Minas Artesanal (QMA), alimento de produção antiga e tradicional, elaborado no estado de Minas Gerais, de forma artesanal, com o uso de leite cru e soro fermento (pingo), possui naturalmente uma diversidade microbiana, composta, principalmente, por bactérias ácido-láticas (BAL) e leveduras (LIMA *et al*., 2009; DORES; FERREIRA, 2012). As BAL se caracterizam por fermentar a lactose para produção de ácido-lático, sendo bastante utilizadas pela indústria alimentícia. Algumas BAL são consideradas probióticas, por exercerem efeito benéficos em seus consumidores (HERMANNS *et al.,* 2014). Com isso, as pesquisas que se dedicam a identificar e caracterizar potenciais propriedades probióticas desses microrganismos, se intensificaram nos últimos anos (COSTA *et al*., 2013; SILVA, 2016; OLIVEIRA, 2016; SANT'ANNA *et al*., 2017; OLIVEIRA *et al.,* 2018; CUNHA, 2018), com perspectiva de associar o conhecimento técnico-científico à aplicabilidade industrial.

Devido à grande importância econômica e cultural do QMA e dos efeitos benéficos à saúde que são associados aos probióticos, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre potencial probiótico de BAL isoladas de queijos Minas artesanais.

## METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho foram pesquisados e avaliados artigos de âmbito nacional e internacional, utilizando-se bases de dados como PubMed, Periódicos CAPES e Scielo, empregando-

se como palavras-chave: bactérias ácido-láticas, queijos Minas artesanais, bactérias ácido-láticas em queijos artesanais e probióticos. Também foram inclusas dissertações e teses, nas quais foram realizadas pesquisas relacionadas com o tema em questão. Não houve recorte temporal, sendo incluídos artigos científicos publicados ou indexados nas referidas bases de dados que apresentavam essas palavras-chave no título ou resumo.

## PROBIÓTICOS

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidade suficiente, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Amostras de espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais utilizadas em alimentos com essa finalidade. Porém, a levedura *Saccharomyces boulardii* e algumas amostras de bactérias do gênero *Bacillus* e da espécie *Escherichia coli* também são utilizadas. Os mecanismos de ação dos microrganismos probióticos consistem especialmente em: reforço da barreira epitelial intestinal, a partir do estímulo da produção de substâncias como mucinas e defensinas; aumento da adesão à mucosa intestinal; competição por nutrientes e sítios de adesão contra microrganismos patogênicos; síntese de substâncias antimicrobianas e modulação do sistema imunológico do hospedeiro (O' TOOLE; COONEY, 2008). Vários estudos comprovam os efeitos benéficos dos probióticos à saúde do consumidor, como os apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1 –** Efeitos benéficos dos probióticos

| Efeito na saúde | Mecanismo | Autores |
|---|---|---|
| Diminuição da intolerância à lactose | Ação da enzima β-galactosidase | De Vrese *et al.* (2014) |
| Tratamento e prevenção de alergia | Pré-hidrólise da β-lactoglobulina | Pescuma *et al*. (2015) |
| Menor risco para o desenvolvimento de tumores malignos | Diminuição dos níveis de enzimas: β-glucuronidase, azoredutase, nitroredutase | Vasiljevic; Shah (2008) |
| Efeito hipocolesterolêmico | Desconjugação de sais biliares pela enzima hidrolase de sais biliares (BSH) | Peres *et al.* (2014) |
| Efeito imunomodulador intestinal | β-Supra-regulação de Interleucina 6 (IL-6) no ceco | Lahteinen *et al.* (2014) |
| Psicobióticos | Redução de estresse, ansiedade e depressão | Anderson *et al.* (2017) |

Fonte: Dados compilados pelos autores.

## BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS (BAL)

BAL são um grupo de microrganismos com características morfológicas, metabólicas e fisiológicas em comum. Elas podem se apresentar no formato de bacilos ou cocos e podem estar organizadas em cadeia ou individualmente. São bactérias gram-positivas, catalase negativas, não esporuladas, anaeróbicas facultativas. Essas bactérias produzem ácido-lático como o principal produto final da fermentação de açúcares, como a lactose (TAMANG *et al.,* 2016). Além disso, elas fazem parte da microbiota natural do leite cru, utilizado na fabricação de QMA (PARENTE *et al*., 2020). Os principais gêneros de BAL, originalmente descritos, incluem *Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus* e

*Streptococcus.* Porém, novas revisões taxonômicas têm proposto outros gêneros pertencentes a esse grupo, sendo: *Aecococcus, Alloiococcus, Carnobacterium, Dolosigranulum, Enterococcus, Globicatella, Lactococcus, Oenococcus, Tetragenococcus, Vangococcus* e *Weisella* (MOZZI, 2016).

Embora sejam normalmente reconhecidas como seguras, a capacidade das BAL de produzir compostos tóxicos ou seu potencial de transferir genes de resistência a antimicrobianos às bactérias patogênicas deve ser avaliado, quando o objetivo for utilizá-las como probióticas. O gênero *Enterococcus*, por exemplo, apesar de pertencer ao grupo das BAL, tem sua utilização como probiótico ainda questionável, devido à presença de genes que codificam fatores de virulência em algumas espécies. Com isso, é necessário avaliar a toxicidade e a possível patogenicidade de potenciais probióticos (LANDETA *et al.,* 2013).

As BAL têm a capacidade de fermentar uma diversidade de alimentos, como produtos lácteos, cárneos, vegetais e cereais, sendo que esses microrganismos contribuem para o desenvolvimento de características sensoriais desejáveis e para a segurança do produto fermentado. O metabolismo das BAL resulta na produção de ácido-lático e consequente redução do pH do meio. Essa acidificação possibilita a inativação de microrganismos indesejáveis, como os patogênicos, prolongando, então, a vida útil desse alimento. Em relação a elaboração de queijos, como o QMA, as ações das BAL influenciam no sabor, aroma e textura característicos do produto final (MOZZI, 2016). São diversas as BAL isoladas e identificadas em alimentos fermentados (Tabela 2).

**Tabela 2 –** Bactérias ácido-láticas (BAL) isoladas de diversos alimentos fermentados e seus benefícios

| Culturas autóctones | Produto | Benefício | Autores |
|---|---|---|---|
| *Lactobacillus plantarum,* *L. fermentum,* *L. paracasei* subsp. *paracasei* | Bebida turca fermentada com bactérias ácido-láticas | Produção de ácidos orgânicos | Tanguler; Erten (2013) |
| *Lactobacillus* sp. | Linguiça de sardinha | Acidificação rápida, redução do número de microrganismos deteriorantes | Mangia *et al*. (2013) |
| *Lactococcus lactis* subsp. *lactis,* *L. plantarum,* *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* | Queijos | Aumento de atributos sensoriais, especialmente aroma | Gonzales; Zarate (2012) |
| *Pediococcus acidilactici* | Salchichón e chouriço | Redução da proliferação de Enterobacteriaceae no início do processo de maturação | Casquete *et al.* (2012) |

Fonte: Dados compilados pelos autores.

**QUEIJO MINAS ARTESANAL (QMA)**

O QMA é um produto de grande importância social, cultural e econômica no Brasil (DORES, 2013). As características sensoriais desse alimento variam de acordo com a composição da microbiota presente no pingo (soro fermento utilizado para a elaboração do QMA); leite cru; água; ambiente e equipamentos de produção. Outros fatores que também contribuem com essa variação são o clima e altitude de cada região; alimentação e raça do rebanho leiteiro, entre outros. Esses elementos

são responsáveis por gerar as peculiaridades do queijo de cada região (MONTEIRO; MATTA, 2018).

Na atualidade, são reconhecidas pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) dez microrregiões queijeiras produtoras de QMA no estado de Minas Gerais, sendo elas: Araxá (IMA, 2003a), Campo das Vertentes (IMA, 2009), Cerrado (IMA, 2007), Serra da Canastra (IMA, 2004), Serras da Ibitipoca (IMA, 2020), Serra do Salitre (IMA, 2014b), Serro (IMA, 2003a), Triângulo Mineiro (IMA, 2014a), Diamantina (IMA, 2022a) e Entre Serras da Piedade ao Caraça (IMA, 2022b). Sendo as únicas regiões que podem produzir e comercializar o QMA fora do estado, se autorizadas (MONTEIRO; MATTA, 2018).

Devido ao fato do leite utilizado na elaboração do QMA não ser submetido a nenhum tratamento térmico e não ser armazenado sob refrigeração, não são necessários investimentos em caldeiras, pasteurizadores e estruturas de cadeia do frio, no sistema de produção desse queijo. Portanto, os custos de implantação das queijarias, nesse contexto, são menores, abrindo maiores oportunidades para pequenos produtores e, principalmente, para estabelecimentos rurais de agricultura familiar. No entanto, em razão do uso de leite cru, deve ser realizado um rigoroso controle de sanidade do rebanho, da higiene no decorrer da ordenha e do processamento do queijo (EMBRAPA, 2018) (MONTEIRO; MATTA, 2018).

A qualidade da matéria-prima utilizada na produção do QMA é essencial para a qualidade final do produto e a sua qualidade microbiológica está associada, especialmente, à sanidade do rebanho, o qual deve ser submetido a um controle rigoroso, assistido por um médico veterinário. Também é importante a adoção de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e o treinamento dos manipuladores (DORES; FERREIRA, 2012). Outro fator relevante é o controle da qualidade do soro fermento que auxilia na inibição de microrganismos patogênicos, quando manipulado adequadamente (MARTINS, 2006).

## BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS EM QMA

As BAL representam de 20 a 30% das bactérias encontradas no leite cru. As espécies variam de acordo com a estação do ano, das condições de produção, da raça do animal e do tipo de manejo. Essa diversidade microbiana promove diferenças sensoriais encontradas nos diferentes produtos lácteos artesanais (DELAVENNE *et al.,* 2012).

Além de ser elaborado a partir do leite cru, o QMA é muito manipulado durante o seu processo de produção, podendo veicular bactérias potencialmente patogênicas e/ou suas toxinas, representando risco à saúde dos consumidores se os cuidados quanto à sanidade animal e boas práticas de produção não forem rigorosamente cumpridos. Associado a isso, é um alimento que passa pelo processo de fermentação e apresenta microrganismos desejáveis, como as BAL, as quais possuem grande importância tecnológica na maturação e na segurança do alimento. A maturação é uma importante etapa da produção do QMA, uma vez que durante esse processo, a umidade e o pH reduzem e a concentração de cloreto de sódio aumenta, além de ocorrer a produção de compostos antimicrobianos – como bacteriocinas e ácidos orgânicos - pelas BAL. Esses fatores favorecem a inibição de microrganismos indesejáveis e a permanência dos desejáveis, que são responsáveis, em grande parte, pela inocuidade, sabor, cor, aroma e textura desses queijos (SALES, 2015). Não se usam culturas iniciadoras comerciais na produção do QMA, sendo esse papel exercido pela microbiota lática oriunda do ambiente, do leite cru e do fermento endógeno (pingo ou soro fermento) (DORES; FERREIRA, 2012).

## AVALIAÇÃO DE PROBIÓTICOS PARA USO EM ALIMENTOS

O desenvolvimento de pesquisas com o propósito de ampliar o conhecimento sobre o potencial probiótico de BAL, proporciona novas perspectivas para melhorar a qualidade e a inocuidade dos alimentos, preservando assim sua microbiota desejável (COSTA *et al.,* 2013). Com isso, a identificação, a caraterização e o estudo dos mecanismos de ação dos microrganismos usados como probióticos são necessários (ROCHA, 2015).

Segundo a FAO/WHO (2002), para ser classificado como probiótico, um microrganismo deve ser avaliado e apresentar determinadas caraterísticas, como: ter uma identificação internacionalmente co-

nhecida (espécie e subespécie); resistir à acidez gástrica e aos sais biliares; apresentar efeitos benéficos para o hospedeiro (demonstrados *in vitro* e *in vivo,* por meio de uma dose conhecida); apresentar segurança comprovada e estar viável até ao momento da administração. No Brasil, a utilização de probióticos em alimentos necessita de prévia avaliação pela ANVISA, segundo requisitos da Resolução RDC nº 241, de 27 de julho de 2018. Essa avaliação abrange três fundamentos essenciais: comprovação explícita da identidade da linhagem do microrganismo, de sua segurança e de seu efeito benéfico (BRASIL, 2018).

Para auxiliar nas pesquisas de potencias probióticos, principalmente por indústrias que necessitam obter autorização para a comercialização de produtos com uma linhagem de microrganismos probióticos, foi criado, em 2019, um dossiê técnico-científico. Esse dossiê, intitulado 'Guia para Instrução Processual de Petição de Avaliação de Probióticos para uso em Alimentos', constitui um guia orientativo em que são demonstradas as melhores práticas com relação a procedimentos, rotinas e métodos considerados adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos exigidos pela legislação para a utilização de novos microrganismos como probióticos (Tabela 3). Segundo esse guia, para avaliação de um potencial probiótico, devem ser realizadas a classificação, a identificação (por meio de testes fenotípicos e genotípicos) e a nomenclatura dos mesmos. Também, é importante a realização de testes *in vitro* e *in vivo* (em modelos animais e humanos), para se comprovar a segurança e os benefícios dos potenciais probióticos (BRASIL, 2021).

Dentre esses testes, estão inclusos a avaliação de características indesejáveis, como a resistência a antimicrobianos de importância clínica e a presença de genes de resistência aos mesmos; fatores de virulência; estudos de genotoxicidade/mutagenicidade; de toxicidades aguda, subcrônica e em longo prazo; de alergenicidade e agregação plaquetária. Além da avaliação de características desejáveis, como sobrevivência ao longo do trato gastrintestinal e antagonismo contra microrganismos indesejáveis (BRASIL, 2021).

Em relação aos testes de comprovação de segurança do microrganismo, o teste de resistência a antimicrobianos de importância clínica é obrigatório para a avaliação de qualquer potencial probiótico, pelo fato do desenvolvimento de resistência a antimicrobianos entre bactérias ser uma grande preocupação de saúde pública. Supondo que o probiótico em questão não apresente características patogênicas, a principal preocupação com a presença de genes de resistência ocorre devido a possibilidade de transferência desses genes de potenciais probióticos para outros microrganismos, incluindo patogênicos. Com isso, todos os microrganismos candidatos a probióticos devem ser testados quanto à susceptibilidade a um número relevante de antimicrobianos de importância humana e veterinária. Essa avaliação é um componente importante do dossiê técnico-científico (BRASIL, 2021).

## PESQUISAS SOBRE O POTENCIAL PROBIÓTICO DE BACTÉRIAS ISOLADOS DE QMA

Na literatura, existem diversos estudos sobre a avaliação do potencial probiótico de bactérias isoladas de QMA. Dentre eles, Costa *et al.* (2013), avaliaram o potencial probiótico de *Weissella paramesenteroides* (C10), *Lactobacillus casei* (amostras B5, A21 e C7), *L. rhamnosus* (A23, B4 e D1), *L. plantarum* (A17, B7, B19 e D13) e *L. hilgardii* (D8), isoladas de QMA da Serra da Canastra. Esses pesquisadores realizam testes *in vitro* de antagonismo contra bactérias patogênicas de referência e bactérias não patogênicas (isoladas do mesmo queijo); sensibilidade a antimicrobianos e tolerância ao pH gástrico e sais biliares, sendo constatado que o QMA da Serra da Canastra pode veicular potenciais probióticos. Os resultados obtidos pelos autores demonstraram que as amostras *L. rhamnosus* (B4), *W. paramesenteroides* (C10) e *L. rhamnosus* (D1) foram as melhores candidatas à produção de novas culturas láticas probióticas, pois essas apresentaram resistência a menor número de antimicrobianos; eficiente antagonismo contra microrganismos indesejáveis, sem inibirem microrganismos desejáveis; além de serem tolerantes ao ácido gástrico.

Oliveira (2016) avaliou o potencial efeito antagonista, *in vitro,* da amostra *L. plantarum* (B7) e *L. rhamnosus* (D1) contra os microrganismos pato-

gênicos *E. coli* enterohemorrágica 0157:H7 (EHEC) e *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), além do potencial efeito protetor dessas amostras isoladas (*L. plantarum* B7 e *L. rhamnosus* D1) contra os patógenos EHEC e EIEC inoculados em camundongos. Os microrganismos potenciais probióticos utilizados foram isolados de QMA da Serra da Canastra e previamente avaliados quanto ao seu potencial probiótico *in vitro,* a partir de testes de antagonismo contra microrganismos patogênicos e não patogênicos; sensibilidade a antimicrobianos e tolerância ao suco gástrico e sais biliares. As amostras de BAL avaliadas (*L. plantarum* -B7 e *L. rhamnosus* – D1) demonstraram potencial probiótico nos testes *in vitro,* uma vez que inibiram eficientemente os microrganismos patogênicos (com maior inibição da EIEC). Em relação aos testes *in vivo*, não se constatou translocação dos patógenos *E. coli* EHEC e EIC para o baço e o fígado. Os animais do grupo tratado com *L. plantarum* (B7) e *L. rhamnosus* (D1) inoculados com EIEC obtiveram melhores resultados na preservação do íleo, com melhor resultado naqueles que receberam somente *L. rhamnosus* (D1). Portanto, *L. rhamnosus* se mostrou um melhor candidato a probiótico.

**Tabela 3 –** Resumo do dossiê técnico-científico para avaliação de microrganismo com potencial probiótico

**Objetivo**: Identificar linhagem do microrganismo e alegação pretendida, informar o produto em que será utilizado, o público-alvo, a dose recomendada, as condições e restrições de uso, advertências e potenciais efeitos adversos

| **Comprovação de identidade** | **Comprovação da segurança** | **Comprovação do benefício** |
|---|---|---|
| Nomenclatura | Identidade da classe de risco | Alegações de propriedades funcionais ou de saúde |
| Depósito em coleção de cultura | Histórico de uso | Estudos para caracterização da linhagem probiótica |
| Origem da linhagem | Revisão de literatura | Estudos para comprovação do benefício da alegação |
| Identificação | Ensaios *in vitro* | Busca da totalidade de evidências |
| | Ensaios em animais | Avaliação da qualidade dos estudos |
| | Ensaio em humanos | Avaliação da totalidade das evidências |
| | Vigilância pós-mercado | Comprovação de uma alegação em mistura de probióticos |

Fonte: BRASIL (2021).

Silva (2016) avaliou o potencial probiótico de *L. rhamnosus (*A1 e C5), *L. brevis* (A6, B16 e E35), *L. casei* (B5) e *L. plantarum* (B206, C0, D4 e E5), isolados de QMA da região de Araxá, em diferentes períodos de maturação e épocas do ano, por meio de testes *in vitro* de susceptibilidade a antimicrobianos; resistência ao suco gástrico e aos sais biliares; produção de peróxido de hidrogênio e antagonismo contra microrganismos patogênicos e não patogênicos.

De acordo com Silva (2016), entre as amostras de BAL avaliadas, *L. brevis* (A6) demonstrou melhor potencial probiótico *in vitro*, pois apresentou resistência a menor variedade de antimicrobia-

nos; tolerância ao suco gástrico artificial e sais biliares e eficiente antagonismo contra patógenos.

Sant'anna *et al.* (2017) avaliaram o potencial probiótico de amostras de *Lactobacillus brevis, L. plantarum, L. rhamnosus, L. paracasei* e *Pediococcus acidilactici* isolados de QMA de Campo das Vertentes, com diferentes dias de maturação, por meio de testes *in vitro* de tolerâncias aos sais biliares e suco gástrico artificial. Dentre as BAL testadas, oito amostras, sendo elas representantes das espécies *L. plantarum, L. paracasei* e *P. acidilactici*, apresentaram os melhores resultados nos testes de tolerância aos sais biliares e suco gástrico artificial e foram selecionadas para os demais testes: susceptibilidade a antimicrobianos; produção de peróxido de hidrogênio e antagonismo contra microrganismos patogênicos e não patogênicos. Também foi avaliado, *in vivo,* o potencial efeito protetor dessas oito amostras contra infecção causada por *Salmonella* Typhimurium*,* em camundongos. Em relação aos testes *in vitro,* os autores descreveram que as amostras de *L. plantarum* apresentaram melhor tolerância aos sais biliares e ácido gástrico, além de um eficiente antagonismo contra *S.* Typhimurium*,* sendo, por isso, o melhor candidato a probiótico. Em relação aos testes *in vivo,* os autores relataram que não houve diferença estatística entre o ganho de peso dos animais do grupo que recebeu amostras de *L. casei* (probiótico comercial) e *L. plantarum*, sendo que os animais desse último grupo apresentaram maior ganho de peso ($p<0,05$) que os animais do grupo controle (que receberam apenas leite estéril).

Oliveira *et al.* (2018) avaliaram o potencial efeito antagonista *in vitro* de *L. paracasei* (A1C e B7C), *L. rhamnosus* (D1C, A1A e A6A), *L. plantarum* (1CV e 56CV), *P. acidilactici* (26CV) e *L. brevis* (E35A), isolados de QMA provenientes da Serra da Canastra, Campo das Vertentes e Araxá contra o microrganismo patogênico *Mycobacterium bovis* BCG, a partir dos testes de antagonismo *spot on the law*, antagonismos de BAL em leite fermentado, antagonismo em caldo 7H9 e antagonismo de sobrenadante de BAL. Essas amostras de BAL foram avaliadas anteriormente, *in vitro,* a partir dos testes de tolerância aos sais biliares e suco gástrico artificial; susceptibilidade a antimicrobianos; antagonismo e produção de peróxido de hidrogênio. Os microrganismos potenciais probióticos avaliados foram capazes de diminuir, ou suprimir totalmente, o crescimento *in vitro* de *Mycobacterium bovis* BCG em todos os testes de antagonismo realizados.

Cunha (2018) avaliou o potencial probiótico *in vitro* de *Lactobacillus paracasei* (C1 e C2), *Lactobacillus plantarum* (L1 e L2) e *Lactobacillus rhamnosus* (R1 e R2) - isolados do QMA da Serra do Salitre, com 21 e 28 dias de maturação, por meio dos testes de antagonismo contra microrganismos patogênicos e não patogênicos, susceptibilidade a antimicrobianos e tolerância ao ácido gástrico e sais biliares. Todas as amostras avaliadas apresentaram antagonismo contra microrganismos indesejáveis e *L. plantarum* (L1) demonstrou melhor tolerância ao ácido gástrico e sais biliares, sendo a amostra descrita com o melhor potencial probiótico. A resistência a antimicrobianos manifestada por todas as BAL testadas foi descrita pelo autor como preocupante, devido à possibilidade de transmissão de genes de resistência à microrganismos patogênicos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As diversas pesquisas que avaliaram o potencial probiótico de BAL isoladas de QMA demonstraram resultados desejáveis quanto aos potenciais efeitos probióticos avaliados, como tolerância a acidez gástrica e sais biliares e efeito antagonista *in vitro* e *in vivo* contra microrganismos indesejáveis. No entanto, ressalta-se que muitos desses microrganismos também apresentaram resistência aos antimicrobianos testados, fato preocupante, uma vez que a resistência pode ser transmitida aos microrganismos patogênicos e potencialmente vir a comprometer a eficiência desses compostos na terapia humana. Portanto, mais estudos *in vitro* e *in vivo* devem ser conduzidos no sentido de identificar microrganismos candidatos ao uso como probióticos isolados de QMA, já que a versatilidade e o potencial biotecnológico são inerentes às linhagens probióticas.

**REFERÊNCIAS**

ANDERSON, S. C.; CRYAN, J. F.; DINAN, M. D. T. **The psychobiotic revolution – Mood, food, and the new science of the gut-brain connection**. Washington: National Geographic**,** 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos**. Guia nº 21, versão 1, de 21 de fevereiro de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 241, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 144, p. 97, 27 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**: seção 1, Brasília, DF, n. 82, p. 11, 03 maio, 1999.

CASQUETE, R. *et al*. Microbiological Quality of salchichón and chorizo, traditional Iberian dry-fermented sausages from two different industries, inoculated with autochthonous starter cultures. **Food Control,** v. 24, n. 1-2, p. 191-198, 2012. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.09.026

COSTA, H. H. S. *et al.* Potencial probiótico *in vitro* de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo-de-minas artesanal da Serra da Canastra, MG. ***Arquivo* Brasileiro de *Medicina* Veterinária e *Zootecnia***, v. 65, n. 6, p. 1858-1866, 2013. DOI: 10.1590/S0102-09352013000600038

CROWE, K. M.; FRANCIS, C. Position of the academy of nutrition and dietetics: functional foods. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 113, n. 8, p. 1096-1103, 2013. DOI: 10.1016/j.jand.2013.06.002

CUNHA, A. L. F. S. **Potencial probiótico in vitro de Lactobacillus spp. isolados de queijo Minas artesanal da Serra do Salitre – MG**. 2018. Dissertação (Mestre em Produção Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

DE VRESE, M. *et al.* A combination of acid lactase from *Aspergillus oryzae* and yogurt bacteria improves lactose digestion in lactose maldigesters synergistically: A randomized, controlled, double-blind crossover trial. ***Clinical Nutrition,*** v. 34, n. 3, p. 394-399, 2014. DOI: 10.1016/j.clnu.2014.06.0-12

DELAVENNE, *et al.* Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period. **International Journal of Food Microbiology,** v. 155, n. 3, p. 185-190, 2012. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.02.003

DORES, M. T. **Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus aureus* isolados de queijo Minas artesanal da Canastra**. 2013. 66f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo Minas Artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável,** v. 2, n. 2, p. 26-34, 2012. DOI: 10.21206/rbas.v2i2.163

FAO/WHO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**: Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations. Cordoba: FAO, 2001.

FAO/WHO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the eva-luation of probiotics in food**. Londres: FAO, 2002.

GONZÁLEZ, L.; ZÁRATE, V. Influence of an autochthonous starter culture and a commercial starter on the characteristics of Tenerife pasteurised goats milk cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v. 65, n. 4, p. 542-547, 2012. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2012.00862.x

HERMANNS, G. *et al.* Evaluation of probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from artisan cheese. **Journal of Food Safety**, v. 34, n. 4, p. 380-387, 2014. DOI: 10.1111/jfs.12138

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 591, de 26 de maio de 2003. **Identifica a microrregião do Serro como produtora do Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte, 2003a.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 594, de 10 de junho de 2003. **Identifica a microrregião de Araxá como produtora do Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte, 2003b.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 694, de 17 de novembro de 2004. **Identifica a microrregião da Canastra como produtora do Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte, 2004.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 874, de 2 de outubro de 2007. **Altera a Denominação da Microrregião do Alto Paranaíba como Produtora do Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte, 2007.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n.º 1022, de 03 de novembro de 2009. **Identifica a microrregião do Campo das Vertentes como produtora do queijo Minas artesanal**. Belo Horizonte, 2009.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n.º 1397, de 13 de fevereiro de 2014. **Identifica a microrregião Triângulo Mineiro como produtora do queijo Minas artesanal**. Belo Horizonte, 2014a.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria n.º 1428, de 29 de agosto de 2014. **Identifica a microrregião da Serra do Salitre como produtora do queijo Minas artesanal**. Belo Horizonte, 2014b.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 2016, de 26 de novembro de 2020. **Identifica a região Serras da Ibitipoca como produtora de Queijo Minas Artesanal**. Belo Horizonte, 2020.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 2.129, de 22 de março de 2022**. Identifica a região de Diamantina como produtora de Queijo Minas Artesanal.** Belo Horizonte, 2022a.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Portaria nº 2.141, de 19 de abril de 2022**. Identifica a região de Entre Serras da Piedade ao Caraça como produtora de Queijo Minas Artesanal.** Belo Horizonte, 2022b.

LÄHTEINEN, T. *et al*. Effect of *Lactobacillus brevis* ATCC 8287 as a feeding supplement on the performance and immune function of piglets. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 158, n. 1-2, p. 14-25, 2014. DOI: 10.1016/j.vetimm.2013.09.002

LANDETA, G. *et al.* Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish dry-cured sausages. **Meat Science,** v. 95, n. 2, p. 272-280, 2013. DOI: 10.1016/j.meatsci.2013.05.019

LIMA, C. D. L. C. *et al.* Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 61, n. 1, p. 266-272, 2009. DOI: 10.1590/S0102-09352009000100037

MANGIA, N. P.*et al.* Effect of the use of autochthonous *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* strains on microbiological and biochemical properties of the Sardinian fermented sausage. **European Food Research and Technology**, v. 236, n. 3, p. 557-566, 2013. DOI: 10.1007/s00217-013-1915-z

MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da região do Serro**. 2006. 158 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

MONTEIRO, R. P.; MATTA, V. M. **Queijo Minas Artesanal** - Valorizando a agroindústria familiar. Brasília: EMBRAPA, 2018.

MOZZI, F. Lactic acid bacteria. **Encyclopedia of Food and Health,** v. 1, p. 501-508, 2016. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00414-1

OLIVEIRA, G. L. *et al.* Lactic acid bacteria isolated from Brazilian Minas artisanal cheeses and their in vitro antagonisms against Mycobacterium bovis BCG. **International Journal of Dairy Technology**, v. 71, n. 4, p. 879-886, 2018. DOI: 10.1111/1471-0307.12540

OLIVEIRA, P. P. C. M. **Efeito protetor de *Lactobacillus plantarum* (B7) e *L. rhamnosus* (D1) de queijo Minas artesanal na infecção experimental por *Escherichia coli* EHEC e EIEC e o desenvolvimento de leite de búfala fermentado**. 2016. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 2016.

O'TOOLE, P. W.; COONEY, J. C. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, n. 175285, 2008. DOI: 10.-1155/2008/175285

PARENTE, E.; RICCIARDI, A.; ZOTTA, T. The microbiota of dairy milk: a review. **International Dairy Journal,** v. 107, n. 104714, 2020. DOI: 10.1016/j.idairyj.2020.104714

PERES, C. M. *et al.* Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 234-246, 2014. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.03.003

PESCUMA, M. *et al. Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 454 cleaves allergenic peptides of b-lactoglobulin. ***Food Chemistry***, v. 170, n. 1, p. 407-414, 2015. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.08.086

ROCHA, R. P. J. **Probióticos:** aplicações farmacêuticas. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

SALES, G. A. **Caracterização microbiológica e físico-química de queijo Minas artesanal da microrregião de Araxá - MG durante a maturação em diferentes épocas do ano.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

SANT'ANNA, F. M. *et al.* Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Minas artisanal cheese produced in the Campo das Vertentes region, Brazil. **International Journal of Dairy Technology**, v. 70, n. 4, p. 592-601, 2017. DOI: 10.1111/1471-0307.12422

SILVA, G. J. **Identificação molecular de bactérias ácido láticas e propriedades probióticas *in vitro* de *Lactobacillus* spp. isolados de queijo minas artesanal de Araxá, Minas Gerais.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

TAMANG J. P. *et al.* Functional properties of microorganisms in fermented foods. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 578, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00578

TANGÜLER, H.; ERTEN, H. Selection of potential autochthonous starter cultures from shalgam, a traditional Turkish lactic acid fermented beverage. **Turkish Journal of Agricultural Forestry**, v. 37, n. 2, p. 212-220, 2013. DOI: 10.3906/tar-1205-37

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics – from Metchnikoff to bioactives. ***International Dairy* Journal,** v. 18, n. 7, p. 714-728, 2008. DOI: 0.1016/j.idairyj.2008.03.004