

Avaliação dos efeitos dos produtos pós-bióticos utilizados em produtos cosméticos: atividade no crescimento bacteriano e na migração celular

Palavras-Chave: Pós-bióticos; Cosméticos; Microbioma cutâneo; Atividade microbiana; Dinâmica celular.

Autoras:

**KAROLINE DA SILVA FARIAS, FCF – UNICAMP;
Profa. Dra. KARINA COGO MÜLLER (orientadora), FCF - UNICAMP;
Dra. ANA LÚCIA TASCA GOIS RUIZ (colaboradora), FCF-UNICAMP**

INTRODUÇÃO

A pele humana abriga uma comunidade diversa de microrganismos, denominada de microbioma cutâneo, composta por bactérias, fungos e vírus que exercem funções importantes, como proteção contra patógenos, auxílio na reparação da barreira cutânea e regulação da resposta imune (Patra et al., 2020). O desequilíbrio dessa microbiota, conhecido como disbiose, está associado ao desenvolvimento de doenças inflamatórias da pele, como dermatite atópica (DA) e psoríase (PSO) (Barnard & Li, 2016; Lewis et al., 2019; Prajapati et al., 2025). Entre as espécies predominantes da microbiota cutânea destacam-se *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Cuticubacterium acnes*, cuja presença ou desequilíbrio está fortemente associada a condições de saúde ou doença da pele (Barnard & Li, 2016). Por exemplo, na DA, há redução de *S. epidermidis* e aumento de *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes*, enquanto na PSO observa-se aumento de *Staphylococcus* e *Streptococcus spp.*, com redução de *Corynebacterium* e *Burkholderia spp.* (Lewis et al., 2019; Fyhrquist et al., 2019). Além disso, espécies como *Micrococcus luteus* podem intensificar a virulência de microrganismos patogênicos como *S. aureus* (Boldock et al., 2018).

Produtos cosméticos e dermatológicos, amplamente usados no cuidado diário da pele, podem afetar a diversidade e composição do microbioma cutâneo (Fourniere et al., 2020). A crescente valorização de ingredientes que promovem a saúde do microbioma levou à incorporação de probióticos e pós-bióticos nessas formulações, com foco em melhorar a hidratação, fortalecer a barreira cutânea e manter o equilíbrio microbiano (Han et al., 2024; Ciardiello et al., 2020). A Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) define probióticos como microrganismos vivos com benefícios ao hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas, e pós-bióticos como preparações de microrganismos inativados e seus componentes que também promovem benefícios à saúde (Salminen et al., 2021).

Probióticos e pós-bióticos derivados principalmente de bactérias do ácido láctico, como *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus spp.*, *Streptococcus thermophilus*, e da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antienvhecimento e imunomoduladoras (Ciardiello et al., 2020; Berbel et al., 2016; Majeed et al., 2020). Seu uso tópico tem demonstrado potencial terapêutico em condições como DA, PSO, acne vulgar, queimaduras solares e cicatrização de feridas (Barnard & Li, 2016; Patra et al., 2020; Yang et al., 2020).

Apesar dos avanços, a aplicação tópica dessas substâncias ainda enfrenta desafios, como a viabilidade dos microrganismos em formulações contendo conservantes, e o risco de interferência negativa no microbioma cutâneo, podendo provocar disbiose (Fourniere et al., 2020). Neste contexto, o projeto teve como objetivo avaliar *in vitro* o efeito de pós-bióticos presentes em produtos cosméticos e dermatológicos sobre o crescimento e viabilidade bacteriana de espécies que desempenham importantes funções na pele, bem como sobre a proliferação e migração de queratinócitos.

METODOLOGIA

• Determinação da Atividade Antimicrobiana dos pós-bióticos

Para os ensaios de sensibilidade antimicrobiana, foram utilizadas as amostras de pós-bióticos Skinbiotics Bifido® (LEMMA Supply, São Paulo, Brasil), Skinbiotics Lacto B® (LEMMA Supply, São Paulo, Brasil) e Biotilys® (Biotechnologies GREENTECH, São Paulo, Brasil). As cepas bacterianas testadas foram *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 00197, *Micrococcus luteus* ATCC 14452, *Streptococcus pyogenes* ATCC 8668 e *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. As bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis* e *M. luteus* foram cultivadas em caldo Tryptic Soy Broth (TSB, Kasvi) sob condições de aerobiose, incubadas a 37 °C, 37 °C e 30 °C, respectivamente. Já as cepas *S. pyogenes* e *L. plantarum* foram cultivadas em meio BHI (Brain Heart Infusion) e MRS (Man Rogosa Sharpe), respectivamente, sob atmosfera com 5% de CO₂, a 37 °C. O ensaio foi baseado no protocolo do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI – M07-A9, 2012), com adaptações, utilizando diluições seriadas (1:2) das amostras, em concentrações variando de 2,5% a 0,0012%, distribuídas em placas de 96 poços contendo caldo Mueller Hinton Broth (MHB). O inóculo bacteriano foi preparado a partir de culturas em meios seletivos, com densidade óptica ajustada para 0,1 em 660 nm. As placas foram incubadas por 0, 2, 4 e 24 horas, e a leitura do crescimento microbiano foi realizada por espectrofotometria (660 nm e 570 nm), após adição de 30 µL de resazurina. O crescimento nos diferentes tempos foi avaliado por teste ANOVA - 2 fatores seguido de pós-teste de Tukey.

• Ensaios de Viabilidade Celular com HaCaT

Para os ensaios de viabilidade celular, serão utilizados queratinócitos imortalizados da linhagem HaCaT, cultivados em incubadora umidificada com 5% de CO₂ a 37 °C, em meio RPMI 1640 (Nutricell, Campinas, Brasil) suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB, Vitrocell, Campinas, Brasil). As amostras de pós-bióticos serão inicialmente diluídas (1:10 p/v) em DMSO e, em seguida, diluídas no meio de cultivo para obtenção das concentrações finais de 0,15 a 150 µg/mL. As células HaCaT serão dispostas em placas de 96 poços (3 × 10⁴ cel/mL, 100 µL/poço) e expostas a quatro concentrações de cada amostra por 48 horas. Ao final da incubação, as células serão fixadas com ácido tricloroacético (TCA 50%, 50 µL/poço), lavadas, secas, coradas com sulforrodamina B (SRB 0,4% p/v em ácido acético 1%) por 20 minutos, e novamente lavadas. O corante ligado às proteínas celulares será solubilizado com Trizma Base (10 mM, pH 10,5) e a absorbância será lida em espectrofotômetro a 540 nm. A viabilidade celular foi calculada em porcentagem, considerando o controle negativo como 100%. Quando aplicável, a concentração inibitória de 50% (IC₅₀) será determinada por regressão não linear sigmoidal, utilizando o software Origin 8.0.

• Avaliação da Migração Celular (Scratch Assay)

A migração celular será avaliada com base no protocolo descrito por Liang et al. (2007). As células HaCaT (2 × 10⁵ cel/mL) serão distribuídas em placas de 24 poços (1 mL/poço) e incubadas por 24 horas. Após esse período, o meio completo será substituído por meio RPMI 1640 suplementado com 0,2% de SFB, e as células serão incubadas por mais 24 horas. Em seguida, será realizado um risco linear com ponteira estéril de 200 µL no tapete celular de cada compartimento. Após a remoção do meio, as células serão tratadas com as amostras diluídas na concentração final de 1000 µg/mL, em meio RPMI 1640 com 0,2% de SFB, em duplicata (2 mL/poço). Os controles utilizados serão: meio RPMI com 5% de SFB (positivo) e 0,2% de SFB (negativo). As placas foram colocadas em microscópio invertido LSM780 (INFABIC/UNICAMP) no modo time lapse, com controle de temperatura e CO₂, durante 24 horas, com aquisição periódica de imagens (três por compartimento por hora). As imagens serão analisadas no software ImageJ® e a redução da área ferida (WR%) será calculada nos tempos 0, 9, 12, 18 e 24 horas, pela fórmula: $WR = (100 \times Tx \text{ área} / T0 \text{ área}) - 100$. Ao final do experimento, as células serão fixadas com TCA 50% e coradas com SRB.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

• Determinação da Atividade Antimicrobiana do Kefir Artesanal e Industrial

Por meio dos ensaios realizados com a amostra Biotilys®, um pós-biótico composto por extratos bacterianos de *Lactobacillus pentosus*, já reconhecido por seus efeitos na imunomodulação da pele humana (Fournière et al., 2020; Duarte et al., 2022), foram avaliadas as concentrações de 2,5% a

0,625%, testadas em quadruplicata e repetidas em pelo menos dois experimentos independentes, seguidos de uma diluição seriada de 1:2.

Observou-se que a concentração deste pós-biótico que mais interferiu no crescimento bacteriano encontra-se em 2,5%, com base nas leituras realizadas a 660 nm (Figura 1) após 24 horas de incubação para as cepas de *S. aureus*, *L. plantarum*, *M. luteus*, *S. epidermidis* e *S. pyogenes*. Esses resultados estão em concordância com o estudo realizado pela Biotechnologies GREENTECH (2020), que avaliou o efeito do Biotilys® em uma co-cultura das cepas bacterianas *S. aureus* ATCC 25923 e *S. epidermidis* ATCC 12228. No estudo, foi utilizada uma concentração de 2% da amostra por 8 horas, observando-se redução no crescimento de *S. aureus* e um efeito protetor de Biotilys® sobre *S. epidermidis*. Desta forma, os achados demonstram que o *L. pentosus* pode contribuir para a proteção da pele contra a proliferação de patógenos e para o equilíbrio da microbiota cutânea, como por exemplo em casos de DA, onde há redução de *S. epidermidis* e aumento de *S. aureus* e *S. pyogenes*. (Lewis et al., 2019).

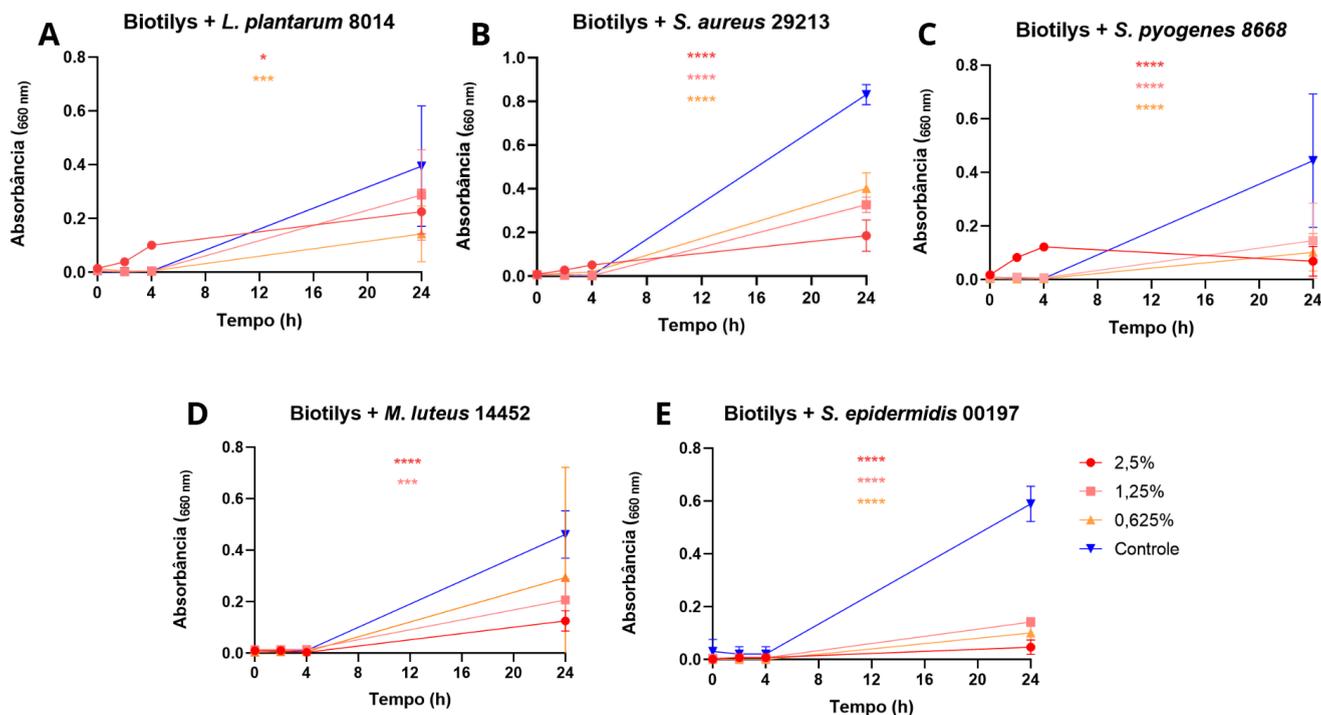


Figura 1 - Curva de crescimento dos microrganismos nas concentrações de 2,5% a 0,625% de Biotilys®. Todas as amostras foram realizadas em quadruplicata e descontado o controle da amostra (sem a presença de bactéria), as concentrações não tiveram diferença significativa nos tempos 0, 2 e 4 hrs em relação ao controle, porém, tiveram diferença estatisticamente significativa entre as leituras realizadas às 24 h e o controle. O controle é a absorbância das cepas bacterianas sem a presença da amostra em relação ao grupo controle (Two-Way ANOVA, pós-teste Tukey). **A)** A concentração de 0,625% foi a que mais inibiu o crescimento bacteriano (2,5% $p = 0.0174$; 1,25% $p = 0.2207$; 0,625% $p = 0.0002$). **B)** A concentração de 2,5% reduziu o crescimento de *S. aureus* ($p < 0.0001$, para todas as concentrações). **C)** A concentração de 2,5% estimulou o crescimento de *S. pyogenes* nas primeiras 4 horas, mas inibiu após 24 horas ($p < 0.0001$, para todas as concentrações). **D)** A concentração de 2,5% interferiu no crescimento de *M. luteus* (2,5% $p < 0.0001$; 1,25% $p = 0.0001$; 0,625% $p = 0.0581$). **E)** Todas as concentrações afetaram o crescimento de *S. epidermidis*, sendo o maior efeito observado com 2,5% ($p < 0.0001$, para todas as concentrações).

Ademais, nos ensaios realizados com as amostras Lacto B® e Bifido® (Figuras 2 e 3), ambos classificados como pós-bióticos com fragmentos lisados de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium longum*, respectivamente, e destinados à aplicação tópica com o objetivo de restaurar o microbioma cutâneo e atenuar a inflamação induzida por *Cutibacterium acnes* (Manual Técnico Skinbiotics LEMMA, 2018), foram avaliadas concentrações de 2,5% a 0,625%, testadas em quadruplicata e reproduzidas em pelo menos dois experimentos independentes, seguidos de uma diluição seriada de 1:2. Observou-se que o lisado de *B. longum* interferiu no crescimento bacteriano das cepas de *S. aureus* e *M. luteus* (Figuras 2B e 2D), porém apresentou efeito estimulante, onde a absorbância do grupo controle foi menor que a dos grupos testes sobre as cepas de *L. plantarum*, *S. pyogenes* e *S. epidermidis* (Figuras 2A, 2C e 2E). Esse fenômeno foi descrito por Alhubail et al. (2023), que observaram um aumento significativo de *S. pyogenes* após 24 h na presença do lisado de *B. longum*, resultando em uma absorbância duas vezes maior nos poços contendo o lisado em comparação aos controles sem o lisado.

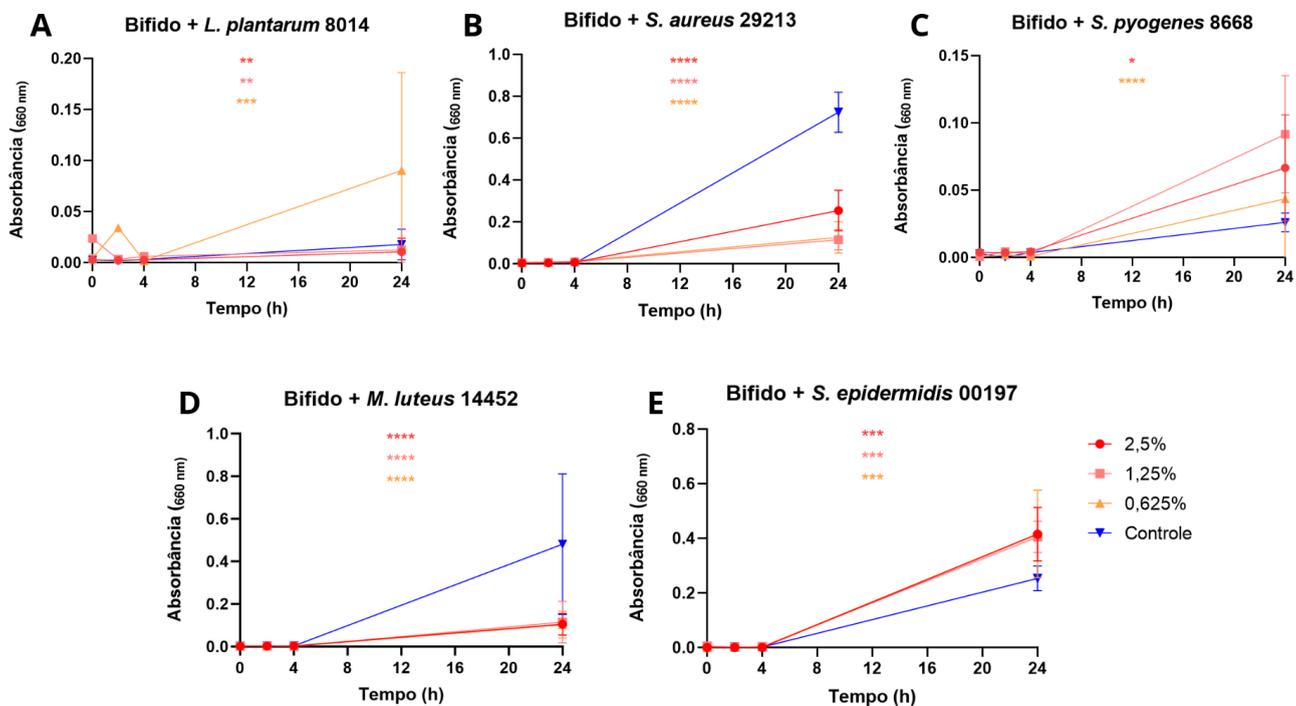


Figura 2 - Curva de crescimento dos microrganismos nas concentrações de 2,5% a 0,625% de BifidO®. Todas as amostras foram realizadas em quadruplicata e descontado o controle da amostra (sem a presença de bactéria). As concentrações não apresentaram diferença significativa nos tempos 0, 2 e 4 horas em relação ao controle. No entanto, observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre as leituras realizadas às 24 horas e o controle, com exceção de *L. plantarum*, e *S. pyogenes*. O controle é a absorbância das cepas bacterianas sem a presença da amostra em relação ao grupo controle (Two-Way ANOVA, pós-teste Tukey). **A)** Todas as concentrações estimularam o crescimento de *L. plantarum*, porém, a concentração de 0,625% teve maior estímulo em comparação com as demais. (2,5% $p = 0.976$; 1,25% $p = 0.9890$; 0,625% $p = 0.0007$). Apresentou diferenças significativas apenas entre as concentrações e entre a concentração de 0,625% e o controle. **B)** A concentração de 1,25% e 0,625% reduziram o crescimento de *S. aureus*. ($p < 0.0001$, para todas as concentrações). **C)** Todas as concentrações estimularam o crescimento de *S. pyogenes*. (2,5% $p = 0.0185$; 1,25% $p = 0.9890$; 0,625% $p = 0.0007$). Apresentou diferença significativa entre as concentrações de 2,5% e 1,25% em relação ao controle e entre a concentração de 1,25% e 0,625%. **D)** A concentração de 2,5% interferiu mais no crescimento de *M. luteus*, em relação às demais concentrações (2,5% $p < 0.0001$; 1,25% $p = 0.0001$; 0,625% $p = 0.0581$) **E)** Todas as concentrações estimularam o crescimento de *S. epidermidis*. (2,5% $p = 0.0002$; 1,25% $p = 0.0005$; 0,625% $p = 0.0002$)

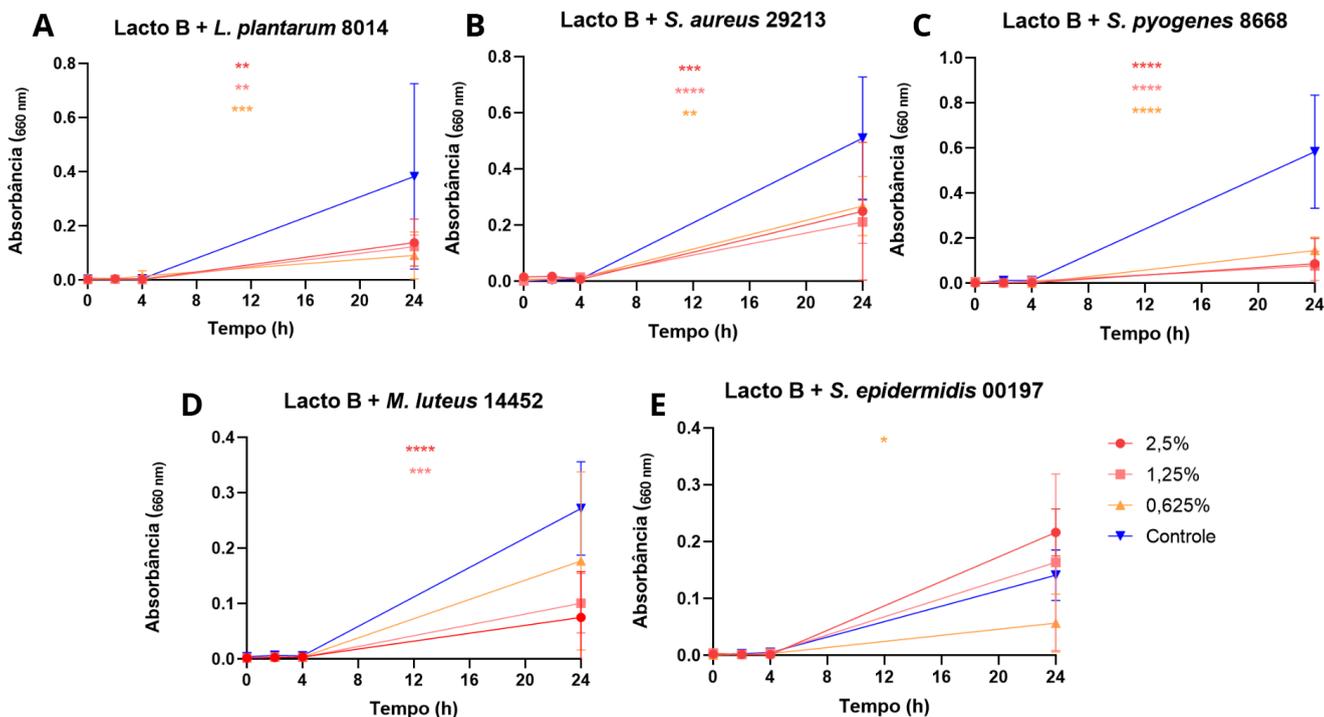


Figura 3 - Curva de crescimento dos microrganismos nas concentrações de 2,5% a 0,625% de LactoB®. Todas as amostras foram realizadas em quadruplicata e descontado o controle da amostra (sem a presença de bactéria). O controle é a absorbância das cepas bacterianas sem a presença da amostra em relação ao grupo controle (Two-Way ANOVA, pós-teste Tukey).

A) Todas as concentrações reduziram o crescimento bacteriano ((2,5% p = 0.0025; 1,25% p = 0.0012; 0,625% p = 0.0003). B) Todas as concentrações reduziram o crescimento bacteriano (2,5% p = 0.0007; 1,25% p < 0.0001; 0,625% p = 0.0018). C) As concentrações de 2,5% e 1,25% apresentaram maior interferência no crescimento bacteriano em comparação à concentração de 0,625% (P < 0,0001, para todas as concentrações). D) A concentração de 2,5% interferiu no crescimento de *M. luteus* (2,5% p < 0.0001; 1,25% p < 0.0001; 0,625% p = 0.0581). E) As concentrações de 2,5% e 1,25% estimularam o crescimento de *S. epidermidis* (2,5% p = 0.0826; 1,25% p = 0.8821; 0,625% p = 0.0437)

Por outro lado, o lisado de *Lactobacillus* spp. apresentou efeito estimulante com a cepa de *S. epidermidis* (Figura 3E) e redução no crescimento de *L. plantarum*, *S. aureus*, *S. pyogenes* e *M. luteus* (Figura 3A, 3B, 3C e 3D). Esse efeito estimulante observado em determinadas cepas patogênicas sugere que os lisados dos pós-bióticos avaliados podem conter metabólitos ativos capazes de atuar como substratos ou fatores de crescimento para esses microrganismos. Diante disso, reforça-se a necessidade de uma seleção criteriosa dos lisados bacterianos utilizados em formulações tópicas, especialmente quando destinadas a peles lesionadas ou suscetíveis a infecções, como em feridas ou condições inflamatórias, para evitar o agravamento da disbiose ou a proliferação de patógenos oportunistas.

CONCLUSÕES

O estudo demonstrou que os pós-bióticos avaliados exercem efeitos distintos sobre o crescimento de bactérias da microbiota cutânea. O pós-biótico Biotilys® (*L. pentosus*) apresentou atividade antimicrobiana significativa contra todas as cepas testadas, indicando potencial para modular o microbioma em contextos de disbiose inflamatória. Por outro lado, BifidO® (*B. longum*) e LactoB® (*Lactobacillus* spp.) mostraram efeitos variáveis, com estímulo ao crescimento de *S. epidermidis*, ressaltando a importância da escolha criteriosa desses ativos e de suas concentrações em formulações tópicas. Os ensaios em andamento com queratinócitos avaliarão os efeitos sobre viabilidade e regeneração celular.

BIBLIOGRAFIA

1. Alhubail, Muna et al. A survey of multiple candidate probiotic bacteria reveals specificity in the ability to modify the effects of key wound pathogens. *Microbiology spectrum* vol. 12,6 (2024): e0034724.
2. Berbel, Camyle Zavatto et al. Probiotics in the treatment of atopic dermatitis and acne. *Visão Acadêmica*, 2016; v. 17, n. 2.
3. Biotechnologies GREENTECH. Manual técnico: Biotilys® - Skin Defense Booster. São Paulo: Biotechnologies GREENTECH, 2020. Disponível para clientes mediante solicitação.
4. Boldock, E., et al. (2018). *Micrococcus luteus* enhances *S. aureus* virulence. *Infect. Immun.*, 86(6), e00952-17.
5. Ciardiello, T., Pinto, D., Marotta, L., Giuliani, G., Rinaldi, F. Effects of fermented oils on the alpha biodiversity and relative abundance of the skin microbiota residing on the cheeks. *Cosmetics*, 2020; 7:34.
6. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*; Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
7. Duarte, M., Oliveira, A.L., Oliveira, C. et al. Current postbiotics in the cosmetic market—an update and development opportunities. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2022; 106, 5879–5891.
8. Fourniere, M., Latire, T., Souak, D., Feuilloley, M. G. J., & Bedoux, G. *Staphylococcus epidermidis* and *Cutibacterium acnes*: Two major sentinels of skin microbiota and the influence of cosmetics. *Microorganisms*, 2020; 8, 1752.
9. Fyhrquist, N., et al. (2019). Microbiota in psoriasis. *Br J Dermatol.*, 181(5), 1129–1137.
10. Han, J.H., Kim, H.S. Skin Deep: The Potential of Microbiome Cosmetics. *Journal of Microbiology*, Jan. 2024.
11. LEMMA Supply. Manual Técnico Skinbiotics. 2018.
12. Lewis, T. A., et al. (2019). Skin microbiome in AD and PSO. *J Invest Dermatol.*, 139(5), 1016–1023.
13. Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Mundkur, L., Rajalakshmi, H.R., Shah, K., Beede, K. Novel topical application of a postbiotic, lactosporin®, in mild to moderate acne: a randomized, comparative clinical study to evaluate its efficacy, tolerability and safety. *Cosmetics*, 2020a; 7(3):1–15.
14. Patra, V., Gallais Sérézal, I., Wolf, P. Potential of skin microbiome, pro- and/or pre-biotics to affect local cutaneous responses to UV exposure. *Nutrients*. 2020 Jun 17;12(6):1795.
15. Prajapati, S., et al. (2025). Dysbiosis in inflammatory dermatoses. *Skin Health J.* (in press).
16. Salminen, S., Collado, M.C., Endo, A., et al. Declaração de consenso da Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) sobre a definição e o escopo dos pós-bióticos. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021; 18(9):649–667.
17. Yang, Y., Dunaway, S., Champer, J., Kim, J., Alikhan, A. Changing our microbiome: probiotics in dermatology. *British Journal of Dermatology*, 1 jan. 2020; 182(1): 39–46.