

## ATIVIDADE ANTAGONISTA DE BACTÉRIAS LÁCTICAS DE LEITES FERMENTADOS COMERCIALIZADOS EM VIÇOSA, MG

Natália Parma Augusto de Castilho<sup>1</sup>, Adriano França da Cunha<sup>2</sup>,  
Felício Alves Motta<sup>1</sup>, Gilmara Cláudia Bordoni Silva<sup>1</sup>

**Resumo:** *A atividade antagonista de bactérias ácido lácticas contra microrganismos indesejáveis permite importante perspectiva tecnológica para conservação de alimentos e controle de patógenos. O objetivo deste trabalho foi testar a atividade antagonista in vitro de bactérias ácido lácticas frente a microrganismos desejáveis e patogênicos de leites fermentados comercializados em Viçosa, MG. Após isolamento das bactérias ácido lácticas de cinco lotes de cinco leites fermentados de marcas diferentes (A, B, C, D e E) obtidos em pontos de vendas de Viçosa (MG), o teste de antagonismo in vitro foi realizado de acordo com a técnica descrita por TAGG et al., utilizando Salmonella enterica, Escherichia coli, Staphylococcus aureus e bactéria ácido láctica de um lote da marca C como indicadores. Após medição dos halos de inibição com paquímetro digital, os resultados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, em nível de 5% de significância. Observou-se que não houve diferença estatística ( $p>0,05$ ) entre as marcas, tanto na inibição de bactérias patogênicas quanto na inibição de Lactobacillus spp. Além disso, não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os diâmetros médios dos halos de inibição apresentados por cada marca frente aos microrganismos indicadores, exceto marca B. As bactérias ácido lácticas da marca B apresentaram maior poder de inibição ante a bactéria ácido láctica indicadora ante as bactérias patogênicas. Portanto, concluiu-se que as bactérias ácido lácticas dos leites fermentados não apresentaram atividade antagonista satisfatória patógenos, não podendo ser utilizadas como bioconservadoras do produto e como controle de patógenos.*

**Palavras-chave:** *leite fermentado, bactéria ácido láctica, antagonismo.*

---

<sup>1</sup>Graduados em Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA – Viçosa, MG, e-mail: [nataliaparma@hotmail.com](mailto:nataliaparma@hotmail.com), [feliciomotta@gmail.com](mailto:feliciomotta@gmail.com)

<sup>2</sup>Professor do curso de Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA – Viçosa, MG, e-mail: [adrianofcunha@yahoo.com.br](mailto:adrianofcunha@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Estudante do Curso de Medicina Veterinária – UNIVIÇOSA – Viçosa, MG, e-mail: [gilbordoni@hotmail.com](mailto:gilbordoni@hotmail.com)

## Introdução

A atividade antagonista de espécies de bactérias ácido lácticas contra microrganismos indesejáveis permite uma importante perspectiva tecnológica de utilização desses microrganismos para a conservação de alimentos e o controle de patógenos. Essa atividade inibitória se deve à fermentação da lactose do leite em ácido láctico e às outras substâncias, as quais determinam diferentes atividades bactericidas e bacteriostáticas (ALM, 1991).

O objetivo deste trabalho foi testar a atividade inibitória *in vitro* de bactérias ácido lácticas isoladas de leites fermentados comercializados em Viçosa, MG, ante a microrganismos indicadores (desejáveis e patogênicos), durante o prazo de validade recomendado pelos fabricantes.

## Material e Métodos

Cinco lotes de cinco leites fermentados de marcas diferentes foram obtidos em pontos de vendas na cidade de Viçosa, MG, e levados, rapidamente, acondicionados em caixas isotérmicas para o laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FACISA/UNIVIÇOSA-MG).

Após isolamento das bactérias ácido lácticas (produtoras), foram realizadas duas ativações dessas bactérias em caldo Mann, Roggosa e Sharpe (MRS - Difco, Detroit, United States) a 37 °C, por 48 h, e sob aerobiose. O teste de antagonismo *in vitro* foi realizado de acordo com a técnica descrita por TAGG et al. (1976). Para isto, 10 µL dos cultivos foram inoculados no centro de placas de Petri (*spot*) contendo ágar MRS (Difco) e incubados a 37 °C, sob aerobiose, por 48 h. O clorofórmio foi adicionado nas tampas das placas, deixando-se agir por 5 h a fim de eliminar os microrganismos cultivados, mas mantendo as possíveis substâncias inibidoras.

Para testar a atividade antagonista, as bactérias indicadoras *Salmonella enterica* e *Escherichia coli* foram adquiridas da Universidade Federal de Viçosa (UFV-MG) e *Staphylococcus aureus* foi adquirida na FACISA/UNIVIÇOSA-MG. Uma bactéria produtora de um leite fermentado também foi utilizada como bactéria indicadora (bactéria do produto C), depois de caracterização morfológica. Todas as bactérias indicadoras foram ativadas duas vezes a 37 °C, por 24 h, sob aerobiose.

Em seguida, 10 $\mu$ L dos cultivos de bactérias indicadoras foram transferidos para 5 mL de ágar Brain Heart Infusion (BHI - *Oxoid, Basingstoke, England*) e MRS (*Difco*) semissólidos (5,5% de meio/0,75% de ágar) em tubos de ensaio e vertidos, depois de agitação, sobre as placas de ágar MRS (*Difco*) contendo as amostras de bactérias ácido lácticas (*spot*), após ação do clorofórmio. As placas foram incubadas a 37 °C, durante 24 h, sob aerobiose. A medida dos halos de inibição foi realizada com paquímetro digital (*Mitutoyo Digimatic Caliper, Mitutoyo Sul Americana Ltda*).

Os resultados desta pesquisa foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre as médias dos halos de inibição, em nível de 5% de significância (SAMPAIO, 2002).

### Resultados e Discussão

Os resultados médios, em milímetros, dos halos de inibição encontrados no teste de antagonismo *in vitro* de bactérias ácido lácticas isoladas de leites fermentados comercializados em Viçosa, MG, ante a microrganismos indicadores, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados médios (milímetros) do teste de antagonismo *in vitro* de bactérias ácido lácticas isoladas de leites fermentados comercializados em Viçosa, MG, ante a microrganismos indicadores.

Microrganismo Indicador	Marca				
	A	B	C	D	E
Bactéria ácido láctica	2,09 <sup>Aa</sup>	3,13 <sup>Aa</sup>	0,70 <sup>Aa</sup>	0,62 <sup>Aa</sup>	0 <sup>Aa</sup>
Salmonella entérica	1,60 <sup>Aa</sup>	1,00 <sup>ABa</sup>	0,41 <sup>Aa</sup>	0,19 <sup>Aa</sup>	0,19 <sup>Aa</sup>
Staphylococcus aureus	2,88 <sup>Aa</sup>	0 <sup>Ba</sup>	1,47 <sup>Aa</sup>	0,95 <sup>Aa</sup>	0,53 <sup>Aa</sup>
Escherichia coli	1,60 <sup>Aa</sup>	0 <sup>Ba</sup>	0,42 <sup>Aa</sup>	0,61 <sup>Aa</sup>	0,27 <sup>Aa</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma linha ou maiúsculas distintas na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Observou-se que não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre as marcas, tanto na inibição de bactérias patogênicas quanto na inibição de *Lactobacillus* spp. Além disso, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os diâmetros médios dos halos de inibição apresentados por cada marca

diante dos microrganismos indicadores, exceto quando se analisa o produto B. Inesperadamente, as bactérias ácido lácticas isoladas dos lotes da marca B apresentaram maior poder de inibição ante a *Lactobacillus* spp. que diante de bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* ( $p > 0,05$ ).

A baixa atividade inibitória de bactérias produtoras analisadas era esperada ante a outras bactérias ácido lácticas, o que é demonstrado na literatura científica (ALM, 1991; BRASHEARS & DURRE, 1999; ALEXANDRE, 2002; CUNHA et al., 2009). Isto possibilitou a tais autores indicarem a utilização das bactérias analisadas na fabricação de produtos, juntamente com outras bactérias ácido lácticas, e, assim, aumentarem a ação inibitória contra outros microrganismos patogênicos. Neste trabalho, as bactérias avaliadas não poderiam ser indicadas para atuar como bioconservadores, pois elas apresentaram alta atividade inibitória contra as próprias bactérias ácido lácticas.

Os resultados da atividade antagonista de bactérias ácido lácticas diante dos microrganismos indicadores encontrados neste estudo não foram condizentes com os relatos da literatura científica, os quais demonstraram satisfatória inibição de microrganismos indicadores. Muitos desses microrganismos eram patogênicos, como *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp., *Salmonella* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. e bactérias do grupo coliforme (ALM, 1991; BRASHEARS & DURRE, 1999; ALEXANDRE, 2002; CUNHA et al., 2009).

### Conclusão

As bactérias ácido lácticas dos leites fermentados não apresentaram atividade antagonista satisfatória diante dos microrganismos patogênicos, não podendo ser utilizadas como bioconservadoras do produto e como controle de patógenos.

### Referências Bibliográficas

ALM, L. **The therapeutic effects of various cultures: an overview.** In: ROBINSON, R. K. Therapeutic properties of fermented milks. London: Elsevier, 1991. p.45-64. ALEXANDRE, D. P.; SILVA, M. R.; SOUZA, M. R.;

SANTOS, W. L. M. Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijo de minas artesanal do Serro (MG) frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.4, 2002.

BRASHEARS, M. M.; DURRE, W. A. Antagonistic action of *Lactobacillus lactis* toward *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 during growth and refrigerated storage. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 11, p. 1336-1340, 1999.

CUNHA, A. F.; COSTA, H. H. S.; ASSIS, B. S.; NARDI, R. M. D. ; NICOLI, J. R.; SOUZA, M. R. Atividade antagonista de bactérias lácticas isoladas de leites fermentados comerciais frente a microrganismos indicadores. **Higiene Alimentar**, v.23, p.80-81, 2009.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002, 265p. TAGG, J. R.; DAJANI, A. S.; WANNAMAKER, L. W. Bacteriocins of gram-positive bacteria. **Bacterial Reviews**, v.40, p.722-756, 1976.

