

## ATIVIDADE ANTAGONISTA DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS ISOLADAS DE QUEIJOS ARTESANAIS EM RELAÇÃO À *Staphylococcus aureus*

JULIANA DE LIMA MARQUES<sup>1</sup>; SIMONE MUNIZ PACHECO<sup>2</sup>; ALEXANDRA MACIEL PEREIRA<sup>2</sup>; WLADIMIR PADILHA DA SILVA<sup>2</sup>; ÂNGELA MARIA FIORENTINI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – ju\_marques@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – simonemunizpacheco@gmail.com  
xanda.vet@hotmail.com

wladimir.padilha2011@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – angefiore@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O consumo de derivados lácteos aumentou de forma expressiva nas últimas décadas, sendo o queijo o mais consumido nas dietas (FERNANDEZ, 2010), que além de agregar valor, também se destaca por seu maior tempo de conservação (LOPES et al., 2006).

No Brasil, existem vários tipos de queijos frescos elaborados de forma artesanal por pequenos produtores, porém, quando fabricados em condições inadequadas, apresentam risco para os consumidores, pois além de micro-organismos deteriorantes podem ser considerados veículos para micro-organismos patogênicos, como *Staphylococcus aureus* que é comumente encontrado em queijos (FUNCK, 2012; GUEDES NETO, 2005; SALOTTI et al., 2006).

Pesquisas desenvolvidas por Poppi (2008) e Bello et al. (2010) sobre a microbiota nativa de produtos lácteos demonstram que existe um paradoxo que remete às bactérias ácido lácticas como responsáveis pelo antagonismo a patógenos (ORTOLANI, 2009; OLIVER et al., 2005), indicando que a microbiota natural influencia no desenvolvimento de patógenos, pois estes são sensíveis às variações do meio, como a acidificação provocada pela ação das BAL nativas e ainda, de outros fatores, como compostos antimicrobianos produzidos por elas mesmas (ORTOLANI, 2009). Essas propriedades das BAL conferem aspectos interessantes aos alimentos. Por um lado, auxiliam na qualidade sanitária e por outro, conferem características sensoriais desejáveis ao produto (BRUNO; CARVALHO, 2009).

Com base no exposto, o objetivo do presente estudo foi isolar BAL de queijos artesanais e avaliar a atividade antagonista dessas bactérias em relação à *Staphylococcus aureus*.

### 2. METODOLOGIA

Foram coletadas duas amostras de queijo artesanal provenientes de São Martinho/RS, que foram conduzidas em sua própria embalagem até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos, pertencente ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), onde foi realizado todo o estudo. A partir das amostras de queijo, foi realizada a análise microbiológica de acordo com APHA (2002) para isolamento de Bactérias Ácido Lácticas (BAL).

Para identificação de BAL, os isolados foram submetidos a testes de coloração de Gram, produção de catalase, crescimento em diferentes concentrações de NaCl

(2,5% e 5%) e resistência em diferentes pH (4,7 e 5,5), de acordo com Drosinos et al. (2005).

A determinação da atividade antagonista dos isolados de BAL foi a partir da técnica *spot-on-the-lawn* (FLEMING et al., 1975), a qual foi realizada frente a *S. aureus* ATCC 25923. Como controle positivo e negativo foram utilizados *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Dy13 e água destilada estéril, respectivamente. A presença de atividade antagonista foi avaliada pela formação de halos inibitórios, independente do tamanho, ao redor das colônias dos isolados. O tamanho do diâmetro dos halos foi medido com o auxílio de um paquímetro, sendo a medida de inibição de crescimento a diferença entre os diâmetros de inibição menos o de crescimento.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos (Tab.1), verificou-se que das duas amostras de queijo analisadas, 10 isolados (100%) apresentaram catalase negativa e 8 (80%) foram positivos para coloração de GRAM, sendo cocos a morfologia predominante. Quando submetidos às diferentes concentrações de NaCl (2,5% e 5%) e diferentes pH (4,7 e 5,5), os 10 (100%) isolados apresentaram crescimento em todas as faixas estabelecidas.

Esses resultados corroboram com os encontrados por Moraes et al. (2010), que ao isolar bactérias de queijos elaborados a partir de leite cru, obtiveram colônias características de BAL, com predomínio de cocos GRAM positivos e catalase negativa. Andrade (2009) ao analisar queijo da Serra da Canastra, obteve 181 isolados, que destes 81,2% apresentaram coloração Gram-positiva, catalase negativa, crescimento em pH 9,6 e em temperatura 45°C e 10°C e crescimento na presença de bile com hidrólise de esculina. Essas características são indicativas de BAL.

Dos isolados, 8 (80%) foram submetidos ao teste de antagonismo. Destes, todos apresentaram halos de inibição, variando de 20 a 32 mm, frente a *S. aureus*, podendo-se inferir que a presença de BAL como microbiota natural nesses produtos, interfere na sobrevivência e multiplicação de patógenos.

Em uma pesquisa desenvolvida por Guedes Neto et al. (2005), foi detectada atividade antagonista de BAL isoladas de queijo coalho artesanal e industrial frente ao *S. aureus*, tendo o *Lactobacillus* spp. melhor potencial de inibição, uma vez que apresentou maiores diâmetros dos halos de inibição. Isso reforça a importância da presença dessas bactérias em queijos para melhorar a qualidade sanitária do alimento. Nesse trabalho também não foi avaliada o tipo de substância inibidora produzida.

Os resultados encontrados por Alexandre et al. (2002) não foram ao encontro dos destacados em nosso trabalho, visto que ao isolar BAL de queijos artesanais frente a *S. aureus*, apenas 15,6% dos isolados apresentaram halos de inibição.

Tabela 1 – Resultados dos testes de coloração de GRAM, catalase, tolerância em diferentes pH, concentrações de NaCl e teste de antagonismo frente a *S. aureus* de bactérias isoladas de amostras de queijo artesanal, produzidos na região Noroeste do RS.

Isolado	GRAM	Catalase	pH (4,7)	pH (5,5)	NaCl (2,5%)	NaCl (5%)	Halos de inibição (mm)
1 A	+	-	+	+	+	+	22
2 A	+	-	+	+	+	+	28

3 A	+	-	+	+	+	+	20
4 A	-	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5 A	-	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1 B	+	-	+	+	+	+	30
2 B	+	-	+	+	+	+	28
3 B	+	-	+	+	+	+	27
4 B	+	-	+	+	+	+	24
5 B	+	-	+	+	+	+	32

A - Amostra 1; B - Amostra 2  
 n.d. - Análises não determinadas.

#### 4. CONCLUSÕES

O estudo de produtos regionais permite o isolamento de BAL com potencial para serem aplicadas como culturas iniciadoras em produtos derivados lácteos, porém com utilização de leite pasteurizado e adequado aos parâmetros de qualidade, conforme a legislação vigente. Isso permite a manutenção das características de aroma e sabor locais, não descaracterizando o produto e garantindo a segurança do alimento.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, D. P. et al. 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.

ANDRADE, C. R. **Diagnóstico da qualidade microbiológica de queijo Serra da Canastra e caracterização de bactérias do gênero *Enterococcus***. 2009. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

APHA. Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. 4<sup>th</sup> Edition. **American Public Health Association**. Washington D.C., 2002.

BELLO, B. D.; RANTSIOUA, K.; BELLIO, A.; ZEPPAA, G.; AMBROSOLIA, R.; CIVERAB, T.; COCOLINA, L. Microbial ecology of artisanal products from North West of Italy and antimicrobial activity of autochthonous populations. **LWT. Food Science and Technology**, v.43, p.1151-1159, 2010.

BRUNO, L. M.; CARVALHO, J. D. G. Microbiota láctica de queijos artesanais. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2009.

DROSINOS, E.H.; MATARAGAS, M.; XIRAPHI, N.; GAITIS, G.; MOSCHONAS, F.; METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. **Meat Science**, v. 69, p.307-317, 2005.

FERNANDEZ, V. N. V. **Avaliação da qualidade do leite e de queijos produzidos pela agricultura familiar, em sistemas de produção ecológicos e convencionais, no leste do Rio Grande do Sul**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FLEMING, H.P.; ETCHELLS, J.L.; COSTILOW, R.N. Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. **Applied Microbiology**, v.30, n.6, p.1040-1042, 1975.

FUNCK, G. D. **Atividade antagonista de bactérias ácido lácticas frente a patógenos e caracterização microbiológica e físico-química de amostras de leite in natura e queijos coloniais da região fronteira noroeste do estado do Rio Grande do Sul**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

GUEDES NETO, L.G. et al. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijo de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 57(2): 245-250, 2005.

LOPES, M.A.; CARMO, E.A.; LIMA, A.L.R.; CARVALHO, F.M. Análise de rentabilidade de uma empresa com opção de comercialização de queijo ou leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.642-647, 2006.

MORAES, P. M.; VIÇOSA, G. N.; YAMAZI, A. K.; ORTOLANI, M. B. T.; NERO, L. A. Foodborne pathogens and microbiological characteristics of raw milk soft cheese produced and on retail sale in Brazil. **Foodborne pathogens and disease**, v. 6, n. 2, 2009.

OLIVER, S.P; JAYARAO, B. M.; ALMEIDA, R. A. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 2, n. 2, p. 115-129, 2005.

ORTOLANI, M. B. T. **Bactérias ácido-lácticas autóctones de leite cru e queijo minas frescal: Isolamento de culturas bactericínogênicas, caracterização da atividade antagonista e identificação molecular**. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

POPPI, L.B; MANCILHA, I.M; Ferreira, A.J.P.; LEAL, D.D.M. Nota prévia: Avaliação do efeito antagônico de espécies de *Lactobacillus* sobre *Listeria monocytogenes* in vitro. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.11, p.113-119, 2008.

SALOTTI, B, M.; Carvalho, A.C.F.B.; Amaral, L.A.; Vidal-Martins, A.M.C.; Cortez, A.L. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, 2006.