

## POTENCIAL DE INIBIÇÃO DE *Lacticaseibacillus casei* CSL3 CONTRA PATÓGENOS DE ORIGEM ALIMENTAR

JOICE DA SILVA RAMSON<sup>1</sup>; PATRICIA RADAZT THIEL<sup>2</sup>; GABRIELA SOARES MARTIN<sup>3</sup>; JÚLIA SILVA PERES<sup>4</sup>; KHADIJA BEZERRA MASSAUT<sup>5</sup>; ÂNGELA MARIA FIORENTINI<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – joice.zootecniaufpel@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – patiradatz@gmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – gabrielaamartim@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas - juliasperes@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas - khadijamassaut@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas - angefiore@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

As bactérias ácido-láticas (BAL) fazem parte de um grupo de bactérias que estão amplamente distribuídas na natureza, têm como características serem Gram-positivas, catalase negativa, morfologia de cocos e bacilos e não esporuladas. Produzem ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático, por meio da fermentação de carboidratos. Os principais gêneros de BAL com aplicação em alimentos são: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Lactococcus*; (POFFO; SILVA, 2011).

Em muitos alimentos fermentados naturalmente, de forma espontânea, as BAL estão presentes na microbiota autóctone, o que torna esses alimentos uma fonte de bactérias com propriedades funcionais e tecnológicas importantes (GIAZZI *et al.*, 2020). No entanto, na indústria de alimentos há um controle do processo fermentativo e a aplicação de BAL está associada ao aumento da vida útil dos produtos, além de contribuir para as características sensoriais diferenciadas, devido aos metabólitos gerados durante a fermentação (AGAGUNDUZ *et al.*, 2022), além disso, algumas cepas de BAL possuem propriedades probióticas (LOPES; BASTOS; REBELLO, 2023).

Probióticos são microrganismos que quando ingeridos em quantidades adequadas fornecem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2001; HILL *et al.*, 2014), como controle de infecções intestinais, alívio da constipação intestinal através do aumento da motilidade do intestino, melhora na absorção de alguns nutrientes, melhor utilização da lactose, diminuição dos níveis de colesterol, estimulação do sistema imunológico e ser competitiva por fatores antimicrobianos (FREIRE *et al.*, 2021).

Dentre as propriedades probióticas, o potencial de inibir microrganismos patogênicos se dá pela exclusão competitiva, onde as BAL produzem substâncias antimicrobianas como ácidos orgânicos, bacteriocinas e peróxido de hidrogênio (ALMEIDA *et al.*, 2024). Estes metabólitos atuam como um agente biológico, com isso há uma eliminação das bactérias patogênicas que podem causar doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), bem como aumento da vida útil do produto quando da inibição de microrganismos deteriorantes (DARKO; MILLS-ROBERTSON, 2025).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana da bactéria ácido-lática *Lacticaseibacillus casei* CSL3 contra microrganismos patogênicos de origem alimentar.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Microrganismo

*Lacticaseibacillus casei* CSL3 (anteriormente denominado *Lactobacillus casei* CSL3) foi isolado de silagem de colostro bovino (VITOLA *et al.*, 2018) e pertence a Coleção de Culturas iniciadoras e probióticas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos/UFPel.

### 2.2 Atividade antimicrobiana

Para verificar a atividade de inibição de CSL3 contra patógenos, foi utilizado o teste *spot-on-the-lawn* (FLEMING; ETCHELLS & COSTILOW, 1975). A bactéria CSL3 foi cultivada em caldo MRS (*De Man Rogosa e Sharpe*) e incubada a 37 °C por 24 horas. Uma alíquota de 2 µL do cultivo ( $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>) foi inoculada em placas contendo ágar MRS e incubadas em anaerobiose a 37 °C por 24 horas. Após o período de incubação as placas foram recobertas com uma sobrecamada de ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) semi-sólido contendo  $10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup> de cada patógeno, com incubação a 37 °C por 24 horas. As bactérias patogênicas testadas foram: duas Gram-positivas (*Listeria monocytogenes* ATCC 7644 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e duas Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 8739 e *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028). A atividade inibitória foi avaliada pela formação de zonas de inibição, independentemente do tamanho, ao redor da colônia de CSL3. O tamanho do diâmetro das zonas de inibição foi medido com o auxílio de paquímetro e expresso em milímetros (mm).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 podemos observar os resultados das zonas de inibição formadas pelo antagonismo de *Lacticaseibacillus casei* CSL3 contra os patógenos testados.

Tabela 1: Zonas de inibição (mm) da atividade antimicrobiana de *Lacticaseibacillus casei* CSL3 contra patógenos de origem alimentar

Patógenos	Zona de inibição (mm)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	$23,33 \pm 1,53$
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	$14 \pm 2$
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	$26,67 \pm 2,31$
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	$26 \pm 4$

Resultados expressos como média (n = 3) ± desvio padrão

ATCC: American Type Culture Collection

*Lacticaseibacillus casei* CSL3 apresentou inibição contra todos os patógenos testados. Esta inibição está relacionada a capacidade de esta produzir compostos bioativos com propriedades antimicrobianas como as bacteriocinas, ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio e diacetil, que possuem a capacidade de impedir a multiplicação de microrganismos patogênicos (DARKO; MILLS-ROBERTSON, 2025).

Almeida *et al.* (2024) testaram isolados de BAL provenientes de leite de vaca pertencentes aos gêneros *Lactococcus* e *Lactobacillus*, onde ambos apresentaram inibição com halos de até 20 mm para *S. Typhimurium*, contra *E. coli* de 16 mm, e

para *L. monocytogenes* e *S. aureus* os valores encontrados foram de 20 e 18 mm, respectivamente. No presente estudo, a inibição de *Lacticaseibacillus casei* CSL3 apresentou resultados superiores contra os patógenos Gram-negativos e Gram-positivos testados, com exceção da zona de inibição formada contra *S. aureus* (14 mm), que foi a menor obtida.

Enquanto no estudo desenvolvido por Motta, Quadros e Lermen (2023), avaliaram cepas de *Leuconostoc mesenteroides* LB 10.4 e *Lactococcus lactis* L4A8, contra bactérias Gram-negativas (*Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* ATCC 43861, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ATCC 10536), onde não observaram zonas de inibição ao redor das colônias. Esta resistência à atividade antimicrobiana pode ser explicada pelo fato das bactérias Gram-negativas, apresentarem a membrana externa na parede celular, o que poderá dificultar a permeabilidade de compostos antimicrobianos produzidos por BAL contra determinados patógenos (TRENTIN *et al.*, 2020).

O estudo em questão revelou que as (BAL) possuem atividade antagonista contra um amplo espectro de patógenos alimentares, incluindo tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Resultados considerados promissores, pois a maioria das pesquisas apresentam antagonismo de BAL somente contra bactérias Gram-positivas.

#### 4. CONCLUSÃO

Conclui-se que *Lacticaseibacillus casei* CSL3 possui relevante atividade inibitória contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos, e sua utilização na produção de alimentos fermentados pode contribuir para produção de alimentos seguros e funcionais. A continuidade das pesquisas poderá identificar qual metabólito foi responsável pela capacidade inibitória da bactéria ácido-lática.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGAGÜNDÜZ, D.; SAHIN, T. O.; AYTEN, S.; YILMAZ, B.; GÜNESLIOL, B. E.; RUSSO, P.; SPANO, G.; ÖZOGUL, F. Lactic acid bacteria as pro-technological, bioprotective and health-promoting cultures in the dairy food industry. **Food Bioscience**. 47, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101617>.

ALMEIDA, J.M.; MAFFEI, J.T.; GABARA, C.; MINAFRA, C.; TOLEDO-SILVA, B.; GONÇALVES, M.C.; LANGONI, H.; NETO, A. T.; SOUZA, F.N.; SILVA, N. C. C. Exploring probiotic potential and antimicrobial properties of lactic acid bacteria from cow's milk. **Applied Food Research**. v.4, dezembro 2024.

DARKO, N. K. O.; MILLS-ROBERTSON, F. C. Probiotic potential and antimicrobial effects of lactic acid bacteria isolated from palm wine against foodborne pathogens in Ghana. **Food Chemistry Advances**. v.7, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2025.101002>

FLEMING, H. P., ETCHELLS, J. L., & COSTILOW, R. N. Microbial inhibition by an 733 isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. **Applied Microbiology**, 30(6), 1040–734 1042, 1975.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2001.34p.

FREIRE, T. T., SILVA, A. L. T., FERREIRA, B. K. O., SANTOS, T. M., Lactic acid bacteria its characteristics and importance: review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e513101119964, 2021.

GIAZZI, A.; TOSONI, N. F.; MORAES, M.L.; MAIA, L. F. KATSUDA, M.S Propriedades tecnológicas das bactérias ácido lácticas isoladas na região norte do Paraná / Technological properties of lactic acid bacteria isolated in northern Paraná. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 18861–18877, 2020.

HILL, C.; GUARNER, F; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology e Hepatology**, v. 11, p. 506- 514, 2014.

LOPES, D. S.; BASTOS, P. A. M. B.; REBELLO, L. P. G. Avances en la aplicación de bacterias lácticas con funciones probióticas en la producción de fermentos lácticos: una revisión. **Revista Vértices**, v. 25, n. 1, p. e25118217, 14 fev. 2023.

MOTTA, A. S., QUADROS, D. S., LERMEN, A. M. Cultivo associado de *Leuconostoc mesenteroides* LB10.4 e *Lactococcus lactis* L4A8: Propriedades antimicrobianas e potencial aplicação. **Veterinária e Zootecnia**, v.30, 2023.

POFFO, F.; SILVA, M. A. C. DA. Caracterização taxonômica e fisiológica de bactérias ácido-lácticas isoladas de pescado marinho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 303–307, jun. 2011.

TRENTIN, M. M.; MALFATTI, L.H.; BECKER, A. F.; MONTEIRO, L. K., CANONICA, L.R. The essential oil of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) and peptide synthesized by *Lactococcus lactis* as antimicrobial agents against *Salmonella Enteritidis* and *Listeria monocytogenes*. **Brazilian Journal of health Review**, v. 3, n. 3, p. 5381-5391 may/jun. 2020.

VITOLA, H. R. S.; DANNENBERG, D.; MARQUES, J.L.; LOPES, G. V.; SILVA, W. P. S.; FIORENTINI, A. M. 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, dez. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.09.011>.