


Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922

*Antagonism of autochthonous lactic acid bacteria from raw milk against *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 and *Escherichia coli* ATCC 25922*


*Antagonismo de bacterias ácido lácticas autóctonas de la leche cruda contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 y *Escherichia coli* ATCC 25922*

Lohany Pedrosa Mateini Silveira  <https://orcid.org/0000-0003-4661-3411>

Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense *Campus* Bom Jesus do Itabapoana – Bom Jesus do Itabapoana/RJ – Brasil. E-mail: lohany.lidere@gmail.com.

Nykolde de Oliveira Salazar Dias  <https://orcid.org/0000-0002-1393-2806>

Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense *Campus* Bom Jesus do Itabapoana – Bom Jesus do Itabapoana/RJ – Brasil. E-mail: nyckdias12@gmail.com

Priscila Siqueira de Almeida  <https://orcid.org/0000-0002-4418-5583>

Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense *Campus* Bom Jesus do Itabapoana – Bom Jesus do Itabapoana/RJ – Brasil. E-mail: pri_dealmeida@hotmail.com.

Paula Aparecida Martins Borges Bastos  <https://orcid.org/0000-0002-3563-4682>

Doutora em Medicina Veterinária (UFF). Médica Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense *Campus* Bom Jesus do Itabapoana – Bom Jesus do Itabapoana/RJ – Brasil. E-mail: pabastos@ifff.edu.br.

Resumo

O objetivo da pesquisa foi isolar e detectar o efeito antimicrobiano *in vitro* de bactérias ácido lácticas (BAL) autóctones isoladas de leite cru, proveniente de Bom Jesus do Itabapoana/RJ-Brasil, contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922. As amostras de leite cru foram submetidas a contagem e isolamento, através da técnica de profundidade, em ágar MRS e M17. Os isolados de BAL foram confirmados após a realização da prova da catalase e coloração de Gram. A etapa de atividade antimicrobiana consistiu no teste de sobrecamada a partir do plaqueamento de superfície em ágar MRS e M17 e, por cima, o meio TSA com o patógeno inoculado. Foram analisadas 10 amostras, nas quais 55% dos resultados da contagem prevaleceram no 4 log UFC/mL. Das 95 cepas isoladas, 74 apresentaram características de BAL, e destes, 37 foram avaliados quanto à sua atividade antagonista sobre *S. aureus* e *E. coli*. Aproximadamente 76% dos isolados utilizados para teste de atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli* apresentaram ação inibitória contra pelo menos um dos patógenos testados. Ao que se tem conhecimento, esse é o primeiro estudo envolvendo cepas de BAL autóctones oriundas de leite da região Noroeste Fluminense.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. BAL. Ação inibitória. Microorganismos patogênicos.

Abstract

The objective of this research was to isolate and detect the *in vitro* antimicrobial effect of autochthonous lactic acid bacteria (LAB) isolated from raw milk from Bom Jesus do Itabapoana (Brazil) against *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 and *Escherichia coli* ATCC 25922. The raw milk samples were counted and isolated by pour plate technique on MRS and M17 agar. LAB isolates were confirmed after catalase test and Gram staining. The antimicrobial activity step consisted of the overlaid test by spread plate on MRS and M17 agar and, above, the TSA medium with the inoculated pathogen. Ten samples were analyzed, in which 55% of the counting results prevailed at 4 log CFU/mL of the 95 isolated strains, 74 presented LAB characteristics, and of these, 37 were evaluated for their antagonistic activities on *S. aureus* and *E. coli*. Approximately 76% of the isolates used for antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli* showed inhibitory action against at least one of the pathogens tested. As far as it is known, this is the first study involving autochthonous LAB strains from milk in northwestern Rio de Janeiro.

Keywords: Antimicrobial activity. LAB. Inhibitory action. Pathogenic microorganisms.

Resumen

El objetivo de este estudio fue aislar y detectar el efecto antimicrobiano *in vitro* de las bacterias ácido lácticas autóctonas (BAL) aisladas de la leche cruda de Bom Jesus do Itabapoana (Brasil) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Las muestras de leche cruda se contaron y aislaron por técnica de profundidad en agar MRS y M17. Los aislados de BAL se confirmaron después de la prueba de catalasa y la tinción de Gram. El paso de la actividad antimicrobiana consistió en la prueba de superposición de la superficie de placas en agar MRS y M17 y, arriba, el medio TSA con el patógeno inoculado. Se analizaron diez muestras, en las que el 55% de los resultados del recuento prevalecieron a 4 log UFC / mL. De las 95 colonias aisladas, 74 tenían características BAL, siendo que 37 de ellas fueron testadas cuanto a actividad antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*. Aproximadamente el 76% de los aislamientos utilizados para la actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y *E. coli* mostraron acción inhibitoria contra al menos uno de los patógenos probados. Según nuestro conocimiento, ese es el primer estudio acerca de aislados que involucra cepas de BAL autóctonas de leche del noroeste de Rio de Janeiro.

Palabras clave: Actividad antimicrobiana. BAL. Acción inhibitoria. Microorganismos patogênicos.

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922

Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

1 Introdução

Bactérias Ácido Lácticas (BAL) são bactérias caracterizadas como cocos ou bastonetes Gram-positivas, não formadoras de esporos, tolerantes a ácidos, capazes de fermentar os carboidratos, anaeróbicas, porém aerotolerantes, catalase negativas e geralmente imóveis (POFFO; SILVA, 2011; DJADOUNI; KIHALL, 2012). Essas bactérias estão amplamente distribuídas em diversos alimentos, principalmente o leite, carne e produtos fermentados, compondo a microbiota natural e contribuindo para as características sensoriais favoráveis nos produtos (MEZAINI *et al.*, 2009).

A caracterização de novos isolados de BAL presentes em diversos produtos fermentados tradicionais tem sido objeto de pesquisa em várias partes do mundo, buscando compreender, identificar e explorar as atividades que desempenham no alimento (MEZAINI *et al.*, 2009; MACHADO *et al.*, 2011; YUSRA *et al.*, 2013; COTELO *et al.*, 2013; BISCOLA *et al.*, 2014; QUERO *et al.*, 2014; MANGIA *et al.*, 2014; NOURI *et al.*, 2015; FGURI *et al.*, 2015; FRAU *et al.*, 2016; ISPIRLI; DERTLI, 2017; SARI; SURYANTO; YURNALIZA, 2018; QIAN *et al.*, 2018; DIAS; SILVA; TIMM, 2018; ADEYEMO; AGUN; OGUNLUSI, 2018). A microbiota autóctone desses produtos pode incluir cepas bacterianas com propriedades diferentes, como produção de compostos antimicrobianos, que podem afetar o crescimento de patógenos, e, conseqüentemente, aumentar a segurança alimentar (ISPIRLI; DERTLI, 2017; SARI; SURYANTO; YURNALIZA, 2018).

De acordo com Suskovic *et al.* (2010), o foco primário das pesquisas relacionadas à segurança e qualidade dos alimentos continua a ser o controle das bactérias indesejáveis, incluindo a *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (COSTA *et al.*, 2012). A presença dessas bactérias aponta, na maioria das vezes, que o alimento obteve condições sanitárias insatisfatórias no decorrer do caminho até a mesa do consumidor (MANGIA *et al.*, 2014). A *E. coli* é uma bactéria Gram-negativa que indica uma contaminação de origem fecal (DUARTE *et al.*, 2013), enquanto a bactéria *S. aureus* é Gram-positiva e sua presença nos alimentos é um indicativo de manipulação sem cuidados de higiene (MACHADO *et al.*, 2011).

As BAL são conhecidas por inibir um grande número de bactérias patogênicas Gram-positivas e Gram-negativas. Sob esta perspectiva, Nouri *et al.* (2015) investigaram o efeito antagonista de BAL isoladas de diferentes queijos. Foi relatada a presença de atividade antagonista contra *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* e *Citrobacter freundii*. Múltiplos fatores são relacionados com essa atividade exercida pelas BAL, tais como a competição por nutrientes e produção de metabólitos, como bacteriocinas, diacetil, peróxido de hidrogênio e, principalmente, os ácidos orgânicos (ácido láctico e ácido acético) que diminuem o pH do meio e impossibilitam a proliferação de microrganismos não resistentes ao meio ácido (REIS *et al.*, 2012; DUARTE *et al.*, 2013).

Atualmente, há um crescente interesse na indústria de alimentos para o desenvolvimento de técnicas que possibilitem a inibição ou retardamento à multiplicação bacteriana, na tentativa de satisfazer os consumidores que estão mais exigentes e atentos aos conservantes artificiais contidos nos produtos alimentícios (CHESCA *et al.*, 2009; NOURI *et al.*, 2015). Duarte *et al.* (2013) destacam a técnica de biopreservação ou bioconservação utilizada pela indústria, que consiste no uso de microrganismos inócuos com capacidade de exercer atividade inibitória frente a microrganismos indesejáveis. Na mesma linha, as bactérias ácido lácticas despertaram muito interesse e têm sido objeto intensivo de investigação devido ao seu potencial de aplicação na bioconservação em alimentos, pois são úteis para controlar o desenvolvimento frequente de microrganismos deteriorantes e patogênicos (SUSKOVIC *et al.*, 2010; ADEYEMO; AGUN; OGUNLUSI, 2018).

A presente pesquisa teve como objetivo isolar e detectar o efeito antimicrobiano *in vitro* de bactérias ácido lácticas autóctones isoladas de leite cru, proveniente de Bom Jesus do Itabapoana/RJ-Brasil, contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATTC 25922

Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

2 Metodologia

Foram analisadas dez amostras de leite cru provenientes de tanques de expansão individuais e comunitários do 1º e 4º Distrito de Bom Jesus do Itabapoana/RJ, cuja destinação é uma Cooperativa de Laticínios localizada na região Noroeste Fluminense.

Cada volume da amostra de leite foi coletado em frasco estéril e transportado em caixa isotérmica com gelo para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Instituto Federal Fluminense (IFF) *Campus* Bom Jesus do Itabapoana para realização das análises.

2.1 Contagem

A contagem das BAL foi realizada por meio do plaqueamento em profundidade utilizando como solução diluente o Caldo Citrato de Sódio 2% e os meios de cultura Ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e Ágar M17 (Himedia®) incubadas em jarras de anaerobiose com atmosfera de CO₂ a 37/30 °C, respectivamente, por 48 horas. Os resultados foram expressos em UFC/mL.

2.2 Isolamento

Após a contagem de BAL, as colônias morfológicamente diferentes foram isoladas em Caldo MRS, sendo em seguida estriadas em Ágar MRS a 37 °C/48 horas para comprovação de cepas puras. Coloração de Gram e prova bioquímica da catalase foram realizadas para confirmação de bactérias ácido lácticas.

2.3 Atividade antagonista

Dos isolados confirmados como BAL, 37 foram testados para detecção de atividade antagonista *in vitro* contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATTC 25922 utilizando a técnica de sobrecamada tendo por base a metodologia descrita por Nero *et al.* (2009) e Voulgari *et al.* (2010). Inicialmente, realizou-se plaqueamento em superfície das BAL em Ágar MRS e M17, com incubação em jarra de anaerobiose com ambiente de CO₂ por 48 horas a 37/30 °C, respectivamente. O inóculo patogênico foi semeado em Ágar Nutriente a 37 °C/18 horas e diluído em Solução Salina (0,85%) em uma concentração de 1,5 x 10⁸ UFC/mL, conforme a escala 0,5 de Mac Farland. Posteriormente, o inóculo foi adicionado ao meio de cultura Trypticase Soy Agar (TSA/Prodinol®) e vertido nas placas contendo BAL, sendo reincubadas a 37 °C/48 horas. Após esse período, realizou-se a leitura, sendo considerados indicativos de inibição as amostras contendo menos de 25% da placa com crescimento do patógeno inoculado e a formação de um halo translúcido na sobrecamada de TSA ao redor das colônias de BAL.

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922

Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

3 Resultados e Discussão

3.1 Contagem

Na presente pesquisa, a contagem microbiana de bactérias ácido lácticas das amostras analisadas variou de 3 log a 6 log UFC/mL. Os valores encontrados nesta pesquisa se assemelham ao encontrado por Cotelto *et al.* (2013) na microbiota do leite, com uma ampla oscilação entre 1×10^2 e 1×10^8 UFC/mL na contagem de BAL presentes nesse alimento. Segundo Delavenne *et al.* (2012 *apud* OLIVEIRA *et al.*, 2016), a contagem de bactérias ácido lácticas corresponde a 20-30% da microbiota total existente no leite cru. Freire *et al.* (2017), em um trabalho sobre isolamento e caracterização das BAL a partir de leite cru comercializado em Minas Gerais/Brasil, encontraram uma contagem de $1,94-2,68 \times 10^6$ UFC/mL. Uma quantidade menor de BAL (8×10^5 C²²) foram encontradas por Melia *et al.* (2017) em trabalho similar, ao identificar BAL nativas de leite cru de búfala na Indonésia. Do mesmo modo, Bluma e Ciprova (2015) detectaram uma população média de BAL de $9,27 \times 10^3$ UFC/mL no leite cru. De acordo com Elgadi, Gadir e Dirar (2008), as amostras de leite analisadas continham *Lactobacillus* e *Lactococcus* na faixa de 3,50-6,30 e 3,48-6,31 log mL⁻¹, respectivamente. Logo, é difícil estabelecer um padrão de BAL presentes no leite cru, porém vale ressaltar que ORDÓÑEZ *et al.* (2005) atribuem a proliferação microbiana das BAL no leite a três fatores principais: a microbiota do interior do úbere, a contaminação externa (desde o momento que sai do úbere) e aos equipamentos de ordenha e outros utensílios. Em contrapartida, Hermanns *et al.* (2013) afirmam que o crescimento de BAL em produtos lácteos é totalmente influenciado pela região geográfica onde foi produzido.

3.2 Isolamento

Das 95 colônias isoladas, 74 foram Gram-positivas e catalase negativas, sendo confirmadas como BAL. O leite cru é composto por uma microbiota rica em BAL, podendo apresentar bactérias dos seguintes gêneros: *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Lactobacillus* (JAY, 2005). Nossos resultados revelaram que a maioria das BAL isoladas desse alimento apresentaram morfologia de cocos (94,6%), sendo apenas 5,4% de bacilos. Outros estudos também têm apontado uma maior proporção de cocos que bacilos em BAL oriundas de leite cru. Karakas-Sen e Karakas (2018), isolando e identificando BAL a partir de leite cru de vaca de diferentes fazendas leiteiras localizadas em Bursa/Turquia, demonstraram que 62,22% das BAL eram cocos e 37,78% bacilos. Ainda, Freire *et al.* (2017), através do isolamento de BAL de leite cru comercializado na cidade de Salinas, Minas Gerais/Brasil, identificaram 80% dos seus isolados como cocos e 20% bacilos. Os resultados relatados pressupõem que as BAL isoladas do leite cru de uma determinada região contêm suas próprias características regionais, além de uma microbiota diversificada.

3.3 Atividade antimicrobiana

Para teste de potencial antagonista, foram utilizados 37 dos isolados de BAL (35 cocos e 2 bacilos).

Dos 37 isolados testados contra os dois patógenos, 24 (64,9%) apresentaram atividade inibitória no teste de sobrecamada contra os dois patógenos; 9 (24,3%) não apresentaram atividade inibitória contra nenhum dos dois patógenos; 2 (5,4%) isolados apresentaram atividade inibitória somente contra *E. coli*; e outros 2 (5,4%) apresentaram atividade inibitória somente contra *S. aureus*. Os resultados encontrados são semelhantes aos relatados por muitos autores sobre a

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922

Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

atividade antimicrobiana de BAL frente a patógenos comuns em alimentos. Karakas-Sen e Karakas (2018) demonstraram que a maioria dos isolados de BAL provenientes do leite cru apresentou ação antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Clostridium perfringens* ATCC 13124. Dias, Silva e Timm (2012), estudando a atividade inibitória de BAL isoladas de grãos de kefir frente a *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipos Typhimurium (ATCC 13311) e Enteritidis (ATCC 13076), *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), observaram que todos os isolados apresentaram atividade antimicrobiana contra pelo menos um dos patógenos analisados. Mezaini *et al.* (2009) também observaram ação antagonista de algumas BAL isoladas de produtos lácteos fermentados tradicionais preparados a partir de leite cru (Raib) sobre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922. Ainda, outros autores revelaram níveis importantes de efeito antibacteriano e antifúngico em cepas de BAL obtidas de produto lácteo típico da Ásia Central (Koumiss e Kurut). Nesse estudo, as cepas foram testadas contra *E. coli* BC 1402, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* BC 6830, *Y. enterocolitica* ATCC 27729 e *S. typhimurium* RSSK 95091 (ISPIRLI; DERTLI, 2017). Sari, Suryanto e Yurnaliza (2018) mostraram que as BAL provenientes do Bekasam (produto cárneo fermentado típico da Indonésia) foram capazes de inibir os patógenos *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 e *Salmonella* sp. em alguma extensão. Costa *et al.* (2012) confirmaram capacidade de inibição pelos microrganismos *L. acidophilus* LA5, *L. plantarum* DCTA 8420 e *B. lactis* DCTA 8724 para *S. aureus* FRI 196, *B. cereus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 e *S. Enteritidis*. Djadouni e Kihal (2012), usando *Lactobacillus* sp. isolado de leite vaca, encontraram uma ampla zona de inibição por essa bactéria ácido láctica contra todos os microrganismos testados (*Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., *Salmonella typhimurium*, *Salmonella para-typhimurium* B, *Clostridium* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Listeria ivanovii*, *B. megaterium* ID 07817 e *B. megaterium* ID 07818).

Diferentemente do efeito inibitório encontrado no presente estudo e nos autores anteriormente citados, Machado *et al.* (2011) constataram que a microbiota autóctone das amostras de queijo coalho analisadas não afetou o desenvolvimento do microrganismo *Staphylococcus* coagulase positiva. Castilho *et al.* (2012) também verificaram que não houve atividade antagonista de BAL de leites fermentados comercializados em Viçosa, MG/Brasil nas bactérias patogênicas *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Isso demonstra a importância de se caracterizar as BAL autóctones quanto a seu perfil antimicrobiano, tendo em vista as amplas potencialidades de uso de BAL autóctones em inovação de produtos alimentares ou mesmo alimentos tradicionais que possam vir a ser considerados IG (Índice Geográfico) – ou de origem. A utilização de BAL autóctone com atividade comprovadamente antimicrobiana pode ter grande aplicação na indústria de alimentos, melhorando a segurança e qualidade dos alimentos e preservação das características tradicionais que definem a identidade de onde o produto foi obtido.

Ao que se tem conhecimento, esse é o primeiro estudo envolvendo cepas de bactérias ácido lácticas autóctones oriundas de leite da região Noroeste Fluminense. Com a criação de um repositório das cepas comprovadamente com perfil de atividade antimicrobiana, será possível realizar estudos posteriores que permitam a detecção de suas potencialidades para uso em alimento funcional e/ou como cultura *starter* em produtos fermentados regionais.

5 Considerações finais

Setenta e quatro cepas de BAL foram isoladas de leite cru, das quais 37 foram utilizadas para teste de atividade antagonista contra *S. aureus* e *E. coli*. Aproximadamente 76% dos isolados apresentaram ação inibitória contra pelo menos um dos patógenos testados. Os resultados gerais desta pesquisa sugerem a presença de microbiota autóctone viável nas amostras de leite do município de Bom Jesus do Itabapoana. A compreensão da diversidade e características de BAL no leite cru de

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922
Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

uma região fornece informações para a seleção de cepas com propriedades potenciais para uma futura utilização em alimentos que possam satisfazer as demandas dos consumidores, os quais exigem cada vez mais produtos diferenciados com identidade e padrões de qualidade.

Referências

- ADEYEMO, S. M.; AGUN, T. F.; OGUNLUSI, E. D. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from “pupuru”: an African fermented staple against food borne-pathogens. **Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 1:5, p. 1-6, 21 Sept. 2018.
- BISCOLA, V. *et al.* Effect of autochthonous bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* on bacterial population dynamics and growth of halotolerant bacteria in Brazilian charqui. **Food Microbiology**, v. 44, p. 296-301, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.025>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002014001634?via%3Dihub>. Acesso em: 1 ago. 2019.
- BLUMA, A.; CIPROVICA, I. Diversity of lactic acid bacteria in raw milk. *In*: INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE, 21., 2015, Jelgava. **Annals** [...]. Jelgava: Latvia University of Agriculture, 2015. 1 v. Theme: Research for Rural Development. Disponível em: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=LV2016000350>. Acesso em: 1 ago. 2019.
- CASTILHO, N. P. A. *et al.* Atividade antagonista de bactérias lácticas de leites fermentados comercializados em Viçosa, MG. **Revista Científica Univiçosa**, Viçosa, MG, v. 4, n. 1, p. 81-86, jan./dez. 2012. Trabalho apresentado no IV SIMPAC, 2012, Viçosa, MG.
- CHESCA, A. C. *et al.* Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijos de baixa umidade frente a *Staphylococcus aureus* ATCC6538 e *Listeria monocytogenes* ATCC7644. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 23, n. 174/175, p. 123-128, jul./ago. 2009.
- COSTA, G. N. *et al.* Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* frente a microrganismos patogênicos “*in vitro*”. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1839-1846, set./out. 2012.
- COTELO, M. F. *et al.* Antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from Uruguayan artisan cheese. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, n. 4, p. 801-804, Oct./Dec. 2013.
- DIAS, P. A.; SILVA, D. T.; TIMM, C. D. Atividade antimicrobiana de microrganismos isolados de grãos de kefir. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 19, ed. 40548, p. 1-8, 2018. DOI: 10.1590/1809-6891v19e-40548. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-68912018000100601. Acesso em: 1 ago. 2019.
- DJADOUNI, E.; KIHALL, M. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and the spectrum of their biopeptides against spoiling germs in foods. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 3, p. 435-443, May/June 2012.

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922

Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

DUARTE, M. C. K. H. *et al.* Ação antagonista de bactérias lácticas frente ao crescimento de estirpe patogênica.

Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 25-36, jul. 2013.

ELGADI, Z. A. M.; GADIR, W. S. A.; DIRAR, H. A. Isolation and identification of lactic acid bacteria and yeast from raw milk in Khartoum State (Sudan). **Research Journal of Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 163-168, 2008.

FGUIRI, I. *et al.* Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. **International Journal of Dairy Technology**, v. 68, p. 1-11, 2015.

DOI: 10.1111/1471-0307.12226. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277025829_Isolation_and_characterisation_of_lactic_acid_bacteria_strains_from_raw_camel_milk_for_potential_use_in_the_production_of_fermented_Tunisian_dairy_products. Acesso em: 1 ago. 2019.

FRAU, F. Development of an autochthonous starter culture for spreadable goat cheese. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 36, n. 4, p. 622-630, Oct./Dec. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.08616>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612016000400622&lng=en&tlng=en. Acesso em: 1 ago. 2019.

FREIRE, T. T. *et al.* Isolamento e caracterização de bactérias lácticas a partir de leite cru comercializado informalmente na cidade de Salinas – Minas Gerais. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFNMG, 6., 11 jul. 2017, Almenara, MG. **Anais [...]**. Almenara, MG: IFNMG, 2017. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/sic/45538-isolamento-e-caracterizacao-de-bacterias-lacticas-a-partir-de-leite-cru-comercializado-informalmente-na-cidade-de/>. Acesso em: 1 ago. 2019.

HERMANN, G. *et al.* Isolamento e identificação de bactérias lácticas supostamente bacteriocinogênicas em leite e queijo. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 191-196, 2013. DOI: 10.7213/academica.10.S01.AO10. Disponível em: <http://www2.pucpr.br/reol/pb/index.php/academica?dd1=12655&dd99=view&dd98=pb>. Acesso em: 1 ago. 2019.

ISPIRLI, H.; DERTLI, E. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional koumiss and kurut. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. S3, p. S2441-S2449, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1372473>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2017.1372473>. Acesso em: 1 ago. 2019.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KARAKAS-SEN, A.; KARAKAS, E. Isolation, identification and technological properties of lactic acid bacteria from raw cow milk. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 34, n. 2, p. 385-399, Mar./Apr. 2018.

MACHADO, T. F. *et al.* Interferência da microbiota autóctone do queijo coalho sobre *Staphylococcus coagulase positiva*. **Revista Ciência Agrônoma**, [Ceará], v. 42, n. 2, p. 337-341, abr./jun. 2011.

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922
Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

MANGIA, N. P. *et al.* Influence of autochthonous lactic acid bacteria and enzymatic yeast extracts on the microbiological, biochemical and sensorial properties of Lben generic products. **Journal of Dairy Research**, v. 81, n. 2, p. 1-9, 2014. DOI: 10.1017/S0022029914000119. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/260914908_Influence_of_autochthonous_lactic_acid_bacteria_and_enzymatic_yeast_extract_on_the_microbiological_biochemical_and_sensorial_properties_of_Lben_generic_products. Acesso em: 1 ago. 2019.

MELIA, S. *et al.* Characterization of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from buffalo milk in West Sumatera (Indonesia) against *Listeria monocytogenes*. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 16, n. 8, p. 645-650, 2017. DOI: 10.3923/pjn.2017.645.650. Disponível em: <https://scialert.net/abstract/?doi=pjn.2017.645.650>. Acesso em: 1 ago. 2019.

MEZAINI, A. *et al.* Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. **Journal of Environmental and Public Health**, p. 1-6, 2009. DOI: 10.1155/2009/678495. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jeph/2009/678495/citations/>. Acesso em: 1 ago. 2019.

NERO, L. A. *et al.* Autochthonous microbiota of raw milk with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis*. **Journal of Food Safety**, New Brunswick, v. 29, n. 2, p. 261-270, 2009.

NOURI, M. *et al.* Investigation of antagonistic effects of isolated lactic acid bacteria from different cheeses of Gorgan City against main intestinal pathogenic bacteria. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 6, n. 8, p. 1-4, 2015. DOI: 10.4172/2157-7110.1000472. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/282912479_Investigation_of_Antagonistic_Effects_of_Isolated_Lactic_Acid_Bacteria_from_Different_Cheeses_of_Gorgan_City_against_Main_Intestinal_Pathogenic_Bacteria. Acesso em: 1 ago. 2019.

OLIVEIRA, J. *et al.* Isolamento, identificação e avaliação da capacidade antagonista de bactérias ácido lácticas isoladas de leite orgânico cru. In: **JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA**, 6., 17 out. 2016, Chapecó. [Anais eletrônicos]. Chapecó: UFFS, 2016. Disponível em: <https://portaleventos.uffs.edu.br/index.php/JORNADA/issue/view/21>. Acesso em: 1 ago. 2019.

ORDÓÑEZ, J. A. *et al.* Microbiologia do leite. In: ORDÓÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnologia de alimentos: Alimentos de origem animal**. 1. ed. [Porto Alegre]: Artmed, 2005. p. 41-48.

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

QIAN, Y. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* YS2) from yak yogurt and its probiotic properties. **Biomedical Research**, v. 29, n. 4, p. 815-820, 2018.

QUERO, G. M. *et al.* Microbiological, physico-chemical, nutritional and sensory characterization of traditional Matsoni: Selection and use of autochthonous multiple strain cultures to extend its shelf-life. **Food Microbiology**, v. 38, p. 179-191, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002013001858?via%3Dihub>. Acesso em: 1 ago. 2019.

Antagonismo de bactérias ácido lácticas autóctones de leite cru contra *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 e *Escherichia coli* ATCC 25922

Lohany Pedrosa Mateini Silveira, Nykole de Oliveira Salazar Dias, Priscila Siqueira de Almeida, Paula Aparecida Martins Borges Bastos

REIS, J. A. *et al.* Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: Characteristics and applications. **Food Engineering Reviews**, v. 4, n. 2, p. 124-140, 2012. DOI: 10.1007/s12393-012-9051-2. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/257780837_Lactic_Acid_Bacteria_Antimicrobial_Compounds_Characteristics_and_Applications. Acesso em: 1 ago. 2019.

SARI, M.; SURYANTO, D.; YURNALIZA. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from bekasam against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella* sp. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 130, n. 1, p. 1-7, 2018. DOI: 10.1088/1755-1315/130/1/012011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323978977_Antimicrobial_activity_of_lactic_acid_bacteria_isolated_from_bekasam_against_staphylococcus_aureus_ATCC_25923_escherichia_coli_ATCC_25922_and_salmonella_sp. Acesso em: 1 ago. 2019.

SUSKOVIC, J. *et al.* Antimicrobial activity: The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 3, p. 296-307, 2010.

VOULGARI, K. *et al.* Antifungal activity of non-starter lactic acid bacteria isolates from dairy products. **Food Control**, v. 21, p. 136-142, 2010.

YUSRA *et al.* Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from *Budu* of West Sumatera to food biopreservatives. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 12, n. 7, p. 628-635, 2013.

Agradecimentos

As autoras agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (PIBIC), ao servidor Flávio Henrique da Silva Basílio, do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do IFF *Campus* Bom Jesus do Itabapoana, e às alunas do ensino médio, Layza Aparecida de Paula Silva (bolsista ICJ) e Raquel da Silva Oscar (bolsista Jovens Talentos), pelo apoio e colaboração com as diversas etapas da pesquisa.