

# TRIAGEM DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICO COM POTENCIAL DE ATIVIDADE ANTAGÔNICA FRENTE ÀS BACTÉRIAS ENTEROPATOGÊNICAS

**Geni Alves CASTELIANO<sup>1</sup> ; Elinalva Maciel PAULO<sup>2</sup>; Ana Paula ALMEIDA<sup>3</sup>; Danielza Souza da Silva de JESUS<sup>4</sup>; Mahysa Ferreira Costa<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Especialista em Biologia Celular- Departamento de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS- email [genicasteliano@hotmail.com](mailto:genicasteliano@hotmail.com)

<sup>2</sup> Orientadora: Docente do Departamento de Ciências Biológicas- UEFS. [elinalvamaciel@yahoo.com.br](mailto:elinalvamaciel@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Graduanda do curso de Ciências Biológicas – UEFS – [annap\\_1193@hotmail.com](mailto:annap_1193@hotmail.com)

<sup>4</sup> Graduanda do curso de Engenharia de Alimento – UEFS - [danily\\_jesus@hotmail.com](mailto:danily_jesus@hotmail.com)

<sup>5</sup> Graduanda do curso de Ciências Biológicas – UEFS - [mahysaferreiracosta@yahoo.com.br](mailto:mahysaferreiracosta@yahoo.com.br)

**PALAVRAS-CHAVES:** bactérias lácticas, antagonismo, semi-árido baiano

## INTRODUÇÃO

As bactérias ácido-láticas (BAL) são micro-organismos que metabolizam carboidratos tendo como metabólito principal o ácido lático (PAULO, 2010). Em condições ideais de crescimento as BAL produzem diversos metabólitos que conferem a estas bactérias a capacidade de inibir a proliferação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes de alimentos (RATTANACHAIKUNSOPON; PHUMKHACHORN, 2010)

Apesar do avanço da pesquisa com as BAL ser significativo na seleção e caracterização de culturas probióticas e anti-deteriorantes, faz-se necessário estudos de produção de substâncias antimicrobianas com espécies regionais, já que estes micro-organismos, a depender das características ambientais e nutricionais em que se encontram, exibem respostas diferentes na expressão destes metabólitos. Portanto, diante do exposto, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a capacidade inibitória de bactérias ácido-láticas provenientes de substratos da região do semi-árido baiano frente aos enteropatógenos *Echerichia coli* e *Salmonella* sp.

## MATERIAL E MÉTODOS

Com relação aos micro-organismos, foram utilizados dez isolados de bactérias com identificação preliminar para bactérias ácido-láticas provenientes de leite (cabra e vaca) e fezes (frango, bezerro e equino). Estes isolados estavam preservados a -20° C por um período de 4 anos, no Laboratório de Microbiologia Aplicada a Saúde Pública- LAMASP. As bactérias enteropatógenicas (*E.coli* e *Salmonella* sp) foram cedidas pelo banco de cultura CCMB/UEFS.

No teste de triagem quanto à produção de halo de inibição utilizou-se a técnica descrita por PAULO (1991), onde as bactérias enteropatógenicas foram confrontadas com as bactérias ácido-lático pelo método de difusão em disco.

Como indicativo de antagonismo foi utilizado à presença de halo de inibição. Os isolados que apresentaram o halo de inibição foram submetidos à identificação fenotípica através dos seguintes testes: Produção de gás a partir da glicose, tolerância a 4%, 6% e 8% de NaCl, redução do nitrato a nitrito, fermentação dos carboidratos, crescimento em diferentes temperaturas e produção de amônia a partir da degradação da arginina (ROGOSA, 1974).

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Os isolados selecionados apresentaram a morfologia de coco e de bacilo. Na reação tintorial todos foram Gram-positivos, não mostrando formação de endosporos, não possuíram reação negativa ao teste da catalase e não reduziram o nitrato a nitrito. Características estas, que confirmam os isolados como pertencentes ao grupo das bactérias ácido-láticas.

Com relação ao estudo do efeito antagonico destes isolados pode-se constatar que nenhum apresentou inibição frente à *E.coli* e 50% produziram halo contra *Salmonella* sp., com diâmetro de até 10mm (Tab. 1). De acordo com PAULO (1991), halos de até 10mm são considerados de fraca inibição.

Tabela 1. Produção de halo de inibição de bactérias lácticas contra bactérias enteropatogênicas

Isolados de Bactérias lácticas	Tamanho do halo de inibição (mm Ø)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i>
LCMH24	0,0	7,0
LCMH30	0,0	8,5
B310	0,0	10,0
B316	0,0	10,0
F611	0,0	0,0
F57	0,0	9,5
LVMH14	0,0	0,0
LVMH18	0,0	0,0
E.2001.22	0,0	0,0
LC8	0,0	0,0

Neste estudo nenhum isolado de BAL produziu halo de inibição contra *E. coli* e 50% produziu inibição fraca contra a *Salmonella* sp. (Tab.1). Os resultados do teste de inibição contra os enteropatógenos contrastam com Martins et al. (2006), que, ao avaliarem a capacidade antagonica de BAL isoladas de fezes de suínos encontraram 83% dos isolados apresentando atividade inibitória contra *E.coli* e *S. typhi*, mostrando que a maioria dos isolados demonstraram ser efetivo na inibição desses micro-organismos.

Tabela 2. Resultados dos testes fenotípicos dos isolados de bactérias ácido-láticas

Isolados	Lactofermentação			Produção de amônia a partir da degradação da arginina
	15°C	35°C	45°C	
LCMH24	+	+	+	negativo
B310	+	+	+	negativo
B316	-	+	-	negativo
F <sub>57</sub>	+	+	+	negativo
LCMH30	+	+	+	negativo

+ coagulou o leite; - não coagulou o leite

A identificação das espécies de bactérias lácticas é bastante trabalhosa, necessitando tanto dos testes fenotípicos como dos moleculares. As tabelas 2 e 3 apresentam alguns testes fenotípicos realizados nos isolados que apresentaram fraca inibição contra *Salmonella* sp.

O crescimento em diferentes temperaturas constitui um parâmetro importante para a identificação deste grupo de bactérias. As BAL crescem entre 9°C e 50°C. De acordo com a classificação de Orla Jensen (1919), citado por PAULO (1991), as bactéria lácticas do gênero *Lactobacillus* têm um bom crescimento a 35°C. Algumas espécies podem crescer tanto a 15°C quanto a 45°C, outras somente crescem a 15°, mas não a 45°, existindo espécies que possuem crescimento inverso, crescem a 45°, mas não a 15°C.

Tabela 3. Resultados dos testes fenotípicos dos isolados de bactérias ácido-lácticas

Isolados	Morfologia	Fermentação	Tolerância NaCl			Fermentação de carboidratos e outros compostos								Gêneros
			4%	6%	8%	A	B	C	D	E	F	G	H	
LCMH24	bacilo	homolática	++	++	++	+	+	+	-	-	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
B310	bacilo	homolática	++	++	++	+	+	+	-	-	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
B316	coco	homolática	+++	++	-	+	+	+	+	-	+	+	-	<i>Streptococcus</i>
F <sub>5</sub> 7	bacilo	homolática	+++	+++	+++	+	+	+	-	-	+	+	-	<i>Lactobacillus</i>
LCMH30	coco	homolática	++	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	<i>Streptococcus</i>

A-manitol, B-trealose, C-esculina, D-arabinose, E-arginina, F-sorbitol, G-lactose, H-amido.

Os testes de tolerância ao cloreto de sódio (NaCl), teste de fermentação de diferentes carboidratos e tipos de metabólitos originados pela fermentação da glicose, também são provas indispensáveis para a identificação das bactérias lácticas (Tab. 3).

Na metabolização da glicose, todos os isolados utilizaram a via Embden-Meyerhof, resultando na fermentação homolática (Tab.3), indicando que o metabolismo fermentativo destes isolados produz mais de 85% de ácido láctico, diferentemente das bactérias heteroláticas que produzem cerca de 50% de ácido láctico, e certa percentagem de ácido acético, etanol e dióxido de carbono (ROGOSA, 1974).

Apesar dos testes realizados, não foi possível identificar os isolados de BAL em nível de espécies, necessitando, portanto proceder com a identificação genotípica.

## CONCLUSÃO

As linhagens de *Lactobacillus* spp . e de *Streptococcus* spp. utilizadas neste estudo não apresentaram boas características para o controle dos enteropatógenos testados, pois não exerceram nenhum efeito inibitório contra a *E. coli*, e exerceram fraco ou nulo efeito inibitório contra *Salmonella* sp.

Sugere-se prosseguir com este trabalho acrescentando linhagens de bactérias lácticas recém isoladas de diferentes substratos para verificar se o longo tempo em que os isolados estiveram congelados interferiu na produção de metabólitos inibitórios.

**Agradecimentos:** Ao Laboratório de Microbiologia Aplicada e Saúde Pública /UEFS

## REFERÊNCIAS:

Martins, A.D.O.; Mendonça, R.C.S.; Silva, D. L.; Ramos, M.S.; Martins, M.C.; Donzele, J. L.; Andrade, N.J. Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a microrganismos indicadores. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v.5, n.1, p. 53-59, 2006.

PAULO, E.M. Isolamento, caracterização e seleção de lactobacilos acidophilus de fezes de suíno visando o seu uso como probiótico. 1991. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, UFV, Brasil..

PAULO, E. M. Produção de exopolissacarídeos (EPS) por bactérias lácticas visando microencapsulação de Lactobacillus acidophilus La-5 pelo processo de Spray drying. 2010. Tese 212f. (Doutorado em Biotecnologia), Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.

RATTANACHAIKUNSOPON, P.; PHUMKHACHORN, P. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Biological Research*, 1 (4) : 218-228, 2010.

ROGOSA, M. Gram-positive, osporogenous, rodshaped bacteria. In: BUCHANAN, R.E., ed. *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. 8. Ed. Baltimore, Williams and Wilkins Co.p. 576-93, 1974.