

## **Atividade antagonista *in vitro* de bactérias ácido lácticas isoladas de queijo de coalho artesanal do Sertão paraibano frente a microrganismos indicadores**

### **Antagonist activity *in vitro* of lactic acid bacteria isolated from coalho cheese from Sertão paraibano front microorganisms indicators**

Leandro Paes de Brito<sup>1</sup>, Julia Laurindo Pereira<sup>2</sup>, Rosália Severo de Medeiros<sup>3</sup>

#### **Resumo**

Bactérias ácido lácticas (BAL) produzem substâncias inibitórias de patógenos e deteriorantes de alimentos e isso tem despertado interesse sobre seu uso na preservação e na segurança sanitária desses produtos. Assim, o estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a atividade inibitória de *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* isoladas de queijo de coalho artesanal do Sertão da Paraíba frente a microrganismos indicadores. A avaliação do potencial antagonístico foi realizada pela técnica de difusão em disco frente à estirpe reveladora *Escherichia coli*, isolada das mesmas amostras de queijos e frente ao patógeno de referência *Escherichia coli* ATCC 3539. Das 11 estirpes analisadas, 81,8% foram capazes de inibir o microrganismo indicador isolado dos mesmos queijos de coalho, enquanto 36,4% das bactérias lácticas apresentaram inibição frente ao patógeno de referência. Conclui-se que as cepas *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* isoladas de queijos de coalho do Sertão da Paraíba apresentam potencial antagonístico e podem assegurar a qualidade microbiológica de alimentos fermentados, inclusive o queijo de coalho.

**Palavras-chave:** Capacidade antagonista. *Escherichia coli*. Queijo de coalho.

#### **Abstract**

Lactic acid bacteria (BAL) produce pathogen inhibiting and food damaging substances and this has raised interest in their use in the preservation and health safety of these products. Thus, the study was carried out with the objective of evaluating the inhibitory activity of *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* isolated from artisanal coalho cheese from Sertão da Paraíba against indicator microorganisms. The evaluation of the antagonistic potential was performed using the disk diffusion technique against the *Escherichia coli* revealing strain, isolated from the same cheese samples and against the reference pathogen *Escherichia coli* ATCC 3539. Of the 11 strains analyzed, 81.8% were

<sup>1</sup> Mestrando em Ciências Biológicas na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco, Brasil. E-mail: leo02brito@gmail.com

<sup>2</sup> Doutoranda em Ciência e Saúde Animal na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, Paraíba, Brasil.

<sup>3</sup> Doutorado em Qualidade Alimentar pela Universidade Nova de Lisboa (NOVA), Lisboa, Portugal. Professora da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Campina Grande, *campus* Patos, Paraíba, Brasil.

able to inhibit the indicator microorganism isolated from the same coalho cheeses, while 36.4% of the lactic acid bacteria showed inhibition compared to the reference pathogen. It is concluded that the strains *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* isolated from coalho cheeses from Sertão da Paraíba have antagonistic potential and can ensure the microbiological quality of fermented foods, including coalho cheese.

**Keywords:** Antagonist capacity. *Escherichia coli*. Coalho cheese.

## Introdução

O novo perfil dos consumidores modernos que buscam alimentos tradicionais demonstra conscientização de que tais alimentos podem ser instrumentos de recuperação econômica, o que fortalece os recursos locais e ofertas de empregos, contribuindo para o crescimento econômico local, inovação e empreendedorismo.<sup>(1)</sup> No Nordeste brasileiro, o queijo de coalho artesanal representa uma atividade econômica importante na cultura e renda familiar.<sup>(2)</sup>

O queijo de coalho é produzido a partir da coagulação do leite por meio do coalho ou por enzimas coagulantes apropriadas complementadas ou não pela ação de bactérias lácticas selecionadas; possui de média a alta umidade, massa semicozida ou cozida, e apresenta um teor de gordura que varia entre 35% e 60%.<sup>(3)</sup>

Bactérias ácido lácticas (BAL) incluem os gêneros: *Abiotrophia*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*.<sup>(4)</sup> Compõem um grupo morfológicamente heterogêneo, pertencem ao grupo Gram-positivo, não esporuladas, catalase negativa, anaeróbicas facultativas, fermentadoras em anaerobiose e aerobiose, com forma de cocos e bacilos.<sup>(5)</sup>

Embora o leite cru e seus derivados, como o queijo de coalho, apresentem características sensoriais desejáveis e sejam amplamente consumidos pela população, estes são produzidos frequentemente em condições insatisfatórias de higiene e geralmente não apresentam padrões de qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA),<sup>(6)</sup> sendo assim, apresentam a microbiota láctica

natural, bem como bactérias não lácticas, com potencial patogênico.<sup>(7)</sup>

A utilização da microbiota láctica durante a fermentação de alimentos é uma forma de bioconservação utilizada há milhares de anos.<sup>(8)</sup> Esses microrganismos lácticos são utilizados como culturas iniciadoras da fermentação láctica, que são conhecidas por produzirem diversas substâncias antimicrobianas como peróxido de hidrogênio, diacetil, dióxido de carbono e bacteriocinas, que potencializam sua capacidade biopreservadora, e, além disso, podem apresentar ação probiótica.<sup>(9)</sup>

De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) e World Health Organization (WHO),<sup>(10)</sup> o microrganismo probiótico deve apresentar características importantes, tais como: serem produzidos em ampla escala, permanecerem estáveis e viáveis durante a estocagem, capazes de resistir às condições adversas do trato gastrointestinal (acidez gástrica e sais biliares) e nele sobreviver, produzir efeito benéfico ao hospedeiro e atividade antimicrobiana contra patógenos e não ser patogênico.

Devido às suas características típicas, o queijo de coalho pode apresentar uma ampla variedade de gêneros de bactérias e é notório que estes alimentos possam ser veículos de microrganismos capazes de reduzir a validade destes produtos, do mesmo modo que podem transmitir o agente etiológico responsável por enfermidades ao consumidor.

Segundo Franco e Landgraf,<sup>(11)</sup> embora sendo a *Escherichia coli* um dos diversos microrganismos anaeróbios facultativos que normalmente fazem parte da microbiota intestinal de animais de sangue quente, sua presença em alimentos é um indicador de contaminação microbiana de origem fecal, desse modo, apontando condições higiênicas insatisfatórias. Além disso, algumas estirpes como

*E. coli* O157:H7 são comprovadamente patogênicas para o homem e animais, acometendo o hospedeiro com distúrbios como colite hemorrágica e síndrome urêmica hemolítica.

A qualidade higiênico sanitária como fator de segurança alimentar tem sido amplamente estudada e discutida nos últimos anos, uma vez que as doenças de veiculação alimentícia são um dos principais fatores que contribuem para os índices de morbidade nos países da América Latina. À vista disso, tem surgido um crescente interesse entre a indústria alimentícia por microrganismos de origem láctica devido aos seus efeitos benéficos que exercem sobre o metabolismo do hospedeiro, bem como na segurança alimentar.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade inibitória, *in vitro*, de *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* isoladas de queijo de coalho artesanal do Sertão da Paraíba, Brasil, frente a microrganismos indicadores.

## Materiais e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *campus* de Patos, Paraíba, Brasil, onde os microrganismos estavam presentes na coleção bacteriológica criopreservados em tubos Eppendorf com glicerol e armazenados a -20 °C.

Para a avaliação da atividade antagonista, 11 (onze) cepas de *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* foram definidas como culturas produtoras, ou seja, microrganismos testados quanto à capacidade de inibir outros microrganismos, denominados como microrganismos reveladores ou de referência, ambos também denominados como microrganismos indicadores. Neste estudo, como microrganismos reveladores foram utilizadas uma cepa da espécie *Escherichia coli*, isolada das mesmas amostras de queijos em que as demais BAL foram adquiridas, e uma cepa de patógeno de referência da espécie *Escherichia coli* ATCC 3539.

As espécies de bactérias lácticas selecionadas foram ativadas através do método de Harrigan.<sup>(12)</sup>

Resumidamente, 500 µL do inóculo foram transferidos para 5 mL de caldo De Man, Rogosa e Sharpe - MRS (HiMedia) e incubadas a 37 °C por 24 horas. Em seguida, transferidas para placas de Petri contendo ágar MRS (HiMedia) e incubadas a 37 °C/48 horas. Posteriormente, transferidas para caldo MRS onde permaneceram incubadas por mais 24 horas a 37 °C.

Para a ativação das culturas indicadoras, 500 µL do inóculo foram transferidos para tubos contendo caldo Brain Heart Infusion - BHI (HiMedia), incubadas a 37 °C por 24 horas. Após esse período, as cepas foram transferidas para placas contendo ágar Mueller Hinton - MHA (HiMedia) e incubadas por mais 24 horas a 37 °C. Em seguida, transferidas novamente para caldo BHI por mais 24 horas à mesma temperatura, e ao completar o período de incubação foram transferidas para ágar MHA por 24 horas/37 °C. Por fim, foram transferidas para tubos com ágar PCA inclinado, onde permaneceram por 24 horas a 37 °C.

A atividade antagonista foi realizada de acordo com Guedes Neto *et al.*<sup>(13)</sup> Após a ativação, as cepas foram padronizadas observando o grau da turvação semelhante ao padrão 0,5 da escala de McFarland (10<sup>8</sup> UFC/mL), por conseguinte, 15 µL do inóculo foram pipetados em discos de papel filtro de tamanho igual a 6 mm na superfície de placas de Petri contendo ágar MRS e essas placas incubadas em aerobiose, 37 °C por 24 horas.

Do mesmo modo, as cepas indicadoras foram padronizadas de acordo com o padrão da escala de McFarland, e assim, o inóculo foi transferido para caldo semissólido BHI, onde passou a possuir aproximadamente 10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup> de bactérias patogênicas. De maneira a formar uma sobrecamada, o meio contendo os patógenos indicadores foi despejado sobre as placas de Petri já acondicionadas com as BAL. Após 24 horas de incubação a 37 °C, em aerobiose, os diâmetros dos halos foram aferidos.<sup>(13)</sup>

A presença de halo de inibição, independente do diâmetro, é indicativo de inibição e estes foram aferidos com auxílio de um paquímetro e expressos em milímetros (mm).

## Resultados e Discussão

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que nove das 11 BAL testadas, isto é, 81,8% das cepas de *Streptococcus infantarius*

subsp. *infantarius* foram capazes de inibir o microrganismo revelador isolado das mesmas amostras de queijos de coalho, com halos de inibição entre 11,00 mm e 13,50 mm.

**Tabela 1** - Valores dos halos de inibição (mm) das bactérias ácido láticas isoladas de queijo de coalho do Sertão paraibano frente a microrganismos indicadores.

| Microrganismos produtores   | Microrganismos indicadores |                           |
|---|----------------------------|---------------------------|
|   | <i>E. coli</i> *           | <i>E. coli</i> ATCC3539** |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990067 | 12,50                      | 0,00                      |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990074 | 13,50                      | 0,00                      |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990068 | 11,50                      | 0,00                      |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990069 | 12,00                      | 0,00                      |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990077 | 12,00                      | 11,50                     |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990070 | 0,00                       | 11,00                     |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990073 | 13,00                      | 12,00                     |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990071 | 11,00                      | 0,00                      |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990075 | 0,00                       | 0,00                      |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990072 | 12,50                      | 13,00                     |
| <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i> KT990076 | 12,50                      | 0,00                      |

**Fonte:** Dados da pesquisa

\*Microrganismo revelador isolado de queijo de coalho.

\*\*Microrganismo de referência.

Esses resultados estão em concordância com os encontrados por Guedes Neto *et al.*,<sup>(13)</sup> onde todas as bactérias ácido láticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial foram capazes de inibir os patógenos indicadores *E. coli* e *S. aureus* isolados dos mesmos queijos.

No entanto, os resultados diferem dos encontrados por Alexandre *et al.*,<sup>(14)</sup> ao testarem bactérias ácido láticas isoladas de queijo de Minas artesanal do Serro - MG, frente a microrganismos indicadores, e identificarem que a *Escherichia coli* não foi inibida pelos microrganismos produtores testados.

O antagonismo exercido pelas bactérias láticas apresenta um papel importante na tecnologia de alimentos, devido a estar relacionado com a capacidade de produzir e tolerar uma concentração elevada de ácido láctico, permitindo a inibição de outros microrganismos e assim favorecendo a competição com eles em um mesmo ecossistema.<sup>(15)</sup>

Quanto à atividade de inibição das cepas produtoras frente ao patógeno de referência *Escherichia coli* ATCC 3539, quatro (36,4%) das BAL foram capazes de inibir a estirpe patogênica, apresentando halos variantes entre 11,00 mm e 13,00 mm de diâmetro. Apesar de serem resultados

inferiores à metade do número total de bactérias ácido láticas testadas, esses resultados são considerados relevantes devido à presença de ação antagonista.

Lima,<sup>(16)</sup> ao avaliar o potencial probiótico e tecnológico de bactérias ácido láticas de queijos de coalho, identificou que dois sobrenadantes de BAL inibiram o crescimento de *E. coli* ATCC 35218. Andrade *et al.*<sup>(17)</sup> demonstraram que as médias dos halos de inibição de cepas de *Lactobacillus* spp., isoladas de queijos minas artesanais da Serra da Canastra - MG, foram mais expressivas sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Costa *et al.*<sup>(18)</sup> identificaram que cepas de bactérias ácido láticas isoladas de queijos de coalho apresentaram atividade antagonista frente a microrganismos indicadores como *Enterococcus faecalis*, *Listeria innocua* e *Bacillus cereus*. Resultados similares também foram descritos por Duarte *et al.*,<sup>(19)</sup> que demonstraram a ação antagonista de bactérias láticas do gênero *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus* spp. frente ao crescimento de uma estirpe patogênica de *E. coli*.

Em um estudo realizado por Souza,<sup>(20)</sup> foi possível observar que 64,3% das cepas de bactérias ácido láticas isoladas de leite e queijo de coalho do Semiárido brasileiro apresentaram atividade inibitória contra os microrganismos indicadores *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923. Os testes realizados por Guedes Neto *et al.*<sup>(13)</sup> demonstram que as bactérias ácido láticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial também apresentaram atividade antagonista frente a patógenos de referência *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* e outros.

A presença da espécie *Escherichia coli* em alimentos é avaliada como indicador de contaminação de origem fecal, refletindo condições de higiene insatisfatórias, além de diversas estirpes desse gênero serem comprovadamente patógenos, o que pode acarretar inúmeras complicações para o homem e animais. Sendo assim, o fato de bactérias ácido láticas apresentarem ação bacteriostática frente a este patógeno já é considerado relevante para estudos nesta área.<sup>(11)</sup>

Foi evidente um maior efeito antagonista das BAL testadas frente ao patógeno indicador isolado dos mesmos queijos, como demonstrado anteriormente. Uma alta atividade inibitória de bactérias ácido láticas frente a patógenos é esperada, visto que estes microrganismos são capazes de produzirem compostos com atividade antimicrobiana e que estes patógenos estão associados a problemas de saúde pública.<sup>(16)</sup>

A ação antagonista das bactérias láticas testadas pode ser devido a fatores, por exemplo, como a produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, diacetil, dióxido de carbono, acetaldeído e bacteriocinas.<sup>(14-13)</sup> Além do mais, pode ocorrer influência o fato de as estirpes de bactérias láticas e os microrganismos patogênicos se desenvolverem ao mesmo tempo, proporcionando, assim, a inibição por competição pelos mesmos nutrientes presentes no meio.<sup>(18)</sup>

Além disso, a relevância desta atividade antagonista se torna ainda maior por se tratar de microrganismos isolados dos mesmos produtos, indicando maior segurança durante o consumo, o que possibilita a utilização dessas bactérias associadas com outras bactérias láticas para ampliação da atividade inibitória contra microrganismos.

Contudo, das 11 BAL testadas, 27,3% foram capazes de inibir os dois patógenos indicadores testados, apenas 9,1% não conseguiram apresentar atividade antagonista frente aos microrganismos indicadores e 63,3% inibiram pelo menos uma bactéria indicadora.

Os resultados dos testes realizados por Cabral *et al.*<sup>(21)</sup> se aproximam dos encontrados nesta pesquisa. Os autores identificaram que cerca de 42,2% das BAL testadas foram capazes de inibir as três espécies indicadoras (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. aureus*), 10% não apresentaram antagonismo frente aos três patógenos e 28,9% inibiram pelo menos uma estirpe indicadora.

Hermanns *et al.*,<sup>(22)</sup> ao isolarem e identificarem bactérias láticas bacteriocinogênicas de leite e queijos, identificaram atividade antagonista das BAL frente aos patógenos indicadores *E. coli*

ATCC 8739, *L. monocytogenes* ATCC 7466, *S. aureus* ATCC 1901 e *S. typhimurium* ATCC 13076. Chioda *et al.*<sup>(15)</sup> identificaram inibição do crescimento de *Escherichia coli* isolada de queijo minas frescal por *Lactobacillus acidophilus* em todas as repetições.

O antagonismo exercido pelos isolados de bactérias lácticas de queijo minas artesanal da Serra da Canastra - MG, demonstra que a atividade inibitória frente às bactérias indicadoras *E. coli*, *S. aureus* e *S. enteritidis* apresentaram halos de inibição na faixa de 3 mm a 16 mm de diâmetro por parte de 95% das BAL,<sup>(23)</sup> corroborando os diâmetros dos halos expressos pelas BAL analisadas em nosso estudo.

Outros estudos também relatam a atividade antagonista de bactérias ácido lácticas, como Tamanini *et al.*:<sup>(24)</sup> inibição de *L. monocytogenes* e *E. coli*; Ferrari *et al.*:<sup>(25)</sup> atividade antagonista diante *L. monocytogenes*, *S. typhi* e *S. aureus*; Costa *et al.*:<sup>(26)</sup> atividade inibitória frente a *E. coli*, *Lactococcus* sp., *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* e *S. typhimurium*. Resultados que corroboram que bactérias ácido lácticas apresentam características potenciais de produção de agentes antimicrobianos.

## Conclusões

No presente estudo, 11 cepas de *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* foram analisadas quanto à capacidade de inibir a presença de estirpes patogênicas. Com base na avaliação geral dos resultados obtidos nas análises, conclui-se que os isolados de BAL apresentam potencial inibitório frente a estirpes patogênicas, tanto de origem clínica quanto alimentar.

É válido ressaltar que o índice de inibição foi maior frente ao microrganismo indicador isolado dos mesmos queijos do que quando comparado com a inibição exercida frente ao patógeno de referência, indicando que as BAL avaliadas nesta pesquisa podem ser usadas na segurança de alimentos fermentados, inclusive os queijos de coalho.

No entanto, por mais que a natureza das substâncias antagonistas produzidas pelas culturas lácticas não foram avaliadas no presente trabalho, é fato considerar que as mesmas apresentam características que promovem o controle de microrganismos indesejáveis nos alimentos, e, além disso, são cepas promissoras que podem atuar na tecnologia de produção e atribuir propriedades organolépticas desejáveis aos produtos de origem láctica.

## Referências

- 1 Borelli BM, Lacerda ICA, Brandão LR, Vianna CR, Ferreira MC, Gomes FCO *et al.* Identification of *Staphylococcus* spp. isolated during the ripening process of a traditional Minas cheese. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2011;(63)2:481-7.
- 2 Menezes SSM. Queijo de coalho: tradução cultural e estratégia de reprodução social na região nordeste. Rev. Geogr. 2011;(28):40-56.
- 3 São Paulo (Estado). Instrução Normativa n° 30 de 26 de junho de 2001. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de Manteiga da Terra, queijo de Coalho e queijo Manteiga. Diário Oficial da União, 2001; Seção 1, p. 13.
- 4 Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Orkroth, BJ, Schillinger, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutri. 2001;73(2):365S-73S.
- 5 Silva LJM. Isolamento e caracterização bioquímica das bactérias do ácido láctico do queijo São Jorge DOP. [Dissertação]. Angra do Heroísmo: Universidade dos Açores (UAç); 2011.
- 6 Moraes CRM, Fuentefria AM, Zaffari CB, Conte M, Rocha JPA, Spanemberg A *et al.* Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do estado do Rio Grande do Sul. Acta Sci. Vet. 2005;3(33):259-64.
- 7 Medeiros RS. Parâmetros de qualidade do Queijo de Coalho produzido na Paraíba: indicadores químicos e microbiológicos. [Tese]. Portugal: Universidade Nova de Lisboa (NOVA); 2016.

- 8 Ferreira AE. Estudo de bacteriocinas produzidas por espécies de *Enterococcus*. [Dissertação]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); 2005.
- 9 Ortolani MBT. Bactérias ácido-láticas autóctones de leite cru e queijo minas frescal: isolamento de culturas bactericinogênicas, caracterização da atividade antagonista e identificação molecular. [Dissertação]. Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa (UFV); 2009.
- 10 Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization. Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in foods. London; 2002.
- 11 Franco BGM, Landgraf M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu; 2005.
- 12 Harrigan WF. Laboratory Methods in Food Microbiology. San Diego: Academic Press; 1998.
- 13 Guedes LG Neto, Souza MR, Nunes AC, Nicoli JR, Santos WLM. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-láticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2005;57(2):245-50. doi: 10.1590/S0102-09352005000800017.
- 14 Alexandre DP, Silva MR, Souza MR. Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijo-de-minas artesanal do Serro (MG) frente a microrganismos indicadores. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2002;54:424-8.
- 15 Chioda TP, Iturrino RPS, Garcia GR, Pigatto CP, Ribeiro CAM, Ragazzani, AVF. Inibição do crescimento de *Escherichia coli* isolada de Queijo “Minas Frescal” por *Lacyobacillus acidophilus*. Ciênc. Rural. 2007;37(2):583-5. doi: doi.org/10.1590/S0103-84782007000200048.
- 16 Lima CP. Avaliação do potencial probiótico e tecnológico de bactérias ácido lácticas isoladas de queijo de coalho. [Tese]. Recife (PE): Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); 2015.
- 17 Andrade CRG, Souza MR, Penna CFAM, Acurcio LB, Sant’Anna FM, Castro RD *et al.* Propriedades probióticas *in vitro* de *Lactobacillus* spp. isolados de queijos minas artesanais da Serra da Canastra - MG. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2014;66(5):1592-600. doi: doi.org/10.1590/1678-6781.
- 18 Costa EF, Lima MSF, Porto ALF, Cavalcanti MTH. Avaliação antagonista de bactérias ácido láctico isoladas de queijo de Coalho artesanal produtoras de bacteriocinas. Anais do 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Química; 2014; Florianópolis; 2014. p. 1-7.
- 19 Duarte MCKH, Cortez, NMS, Cortez, MAS, Franco, RM. Ação antagonista de bactérias lácticas frente ao crescimento de estirpe patogênica. Encicl. Biosf. 2013;9(16):25-36.
- 20 Souza LB. Avaliação da microbiota láctica cultivável de leite bovino e queijo coalho produzidos no Rio Grande do Norte. [Dissertação]. Mossoro (RN): Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Ufersa); 2015.
- 21 Cabral MLB, Lima MSF, Fernandes GAA, Costa EF, Porto, ALF, Cavalcanti, MTH. Queijos artesanais: fonte de bactérias ácido lácticas selvagens para formulação de fermentos tradicionais. J. Bioen. Food Sci. 2016;3(4):207-15. doi: 10.18067/jbfs.v3i4.111.
- 22 Hermanns G, Funk GD, Schimidt JT, Richards NSPS. Isolamento e identificação de bactérias lácticas supostamente bacteriocinogênicas em leite e queijos. Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Amb. 2013;11(2);191-6.
- 23 Rafael VC. Fenótipos da microbiota predominante do fermento Endógeno (pingo) relevantes para as características e Segurança microbiológica do queijo minas artesanal da Serra da canastra. [Tese]. Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa (UFV); 2017.
- 24 Tamanini R, Beloti V, Silva LCC, Angela HL, Yamada AK, Battaglini APP *et al.* Atividade antagonista contra *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* de bactérias ácido lácticas isoladas de leite cru. Semina: Ciênc. Agr. 2012;33(5);1877-86. doi: 10.5433/1679-0359.2012v33n5p1877.

- 25 Ferrari IS, Souza JV, Ramos CL, Costa MM, Schwan RF, Dias FD. Selection of autochthonous lactic acid bacteria from goat dairies and their addition to evaluate the inhibition of *Salmonella typhi* in artisanal cheese. Food Microbiol. 2016;(60):29-38.
- 26 Costa HHS, Souza MR, Acúrcio LB, Cunha AF, Resende MFS, Nunes ÁC. Potencial probiótico *in vitro* de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo-de-minas artesanal da Serra da Canastra, MG. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2013;65(6):1858-66.

*Recebido em: 19 jul. 2019*

*Aceito em: 7 ago. 2020*