

ISBN 970-27-1045-6

**AISLAMIENTO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS CON ACCIÓN
ANTAGÓNICA EN CONTRA DE PATÓGENOS BACTERIANOS DE
IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA**

**Ricardo Alaniz de la O y Cástulo Ilhuicamina Martín del Campo Moreno, Angélica
Luis Juan Morales y Beatriz Teresa Rosas Barbosa**

Departamento de Salud Pública, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Km. 15.5 carretera Guadalajara-Nogales, Las Agujas, Zapopan, Jalisco. C.P. 4511. Tel/Fax (33)36820574 E-mail: ralaniz@cucba.udg.mx

Palabras clave: *Bacterias ácido lácticas, antagonismo, patógenos bacterianos*

Introducción

No existe duda que la conservación de alimentos por métodos físicos y químicos ha sido una de las más importantes contribuciones a la seguridad de alimentos en la segunda mitad del siglo XX (3), sin embargo, actualmente el consumidor está demandando alimentos mínimamente procesados y libres de aditivos químicos, es decir, más naturales, frescos y microbiológicamente seguros (5). Por este motivo el procesador de alimentos, percibiendo la inquietud del consumidor, se ha interesado en la bioconservación, que se refiere al uso de microorganismos o sus metabolitos con potencial para inhibir o destruir microorganismos indeseables en alimentos (9) lo que permitiría reducir el empleo de conservadores químicos y suavizar los tratamientos sin descuidar la inocuidad de los mismos.

Las bacterias ácido lácticas han sido tradicionalmente empleadas, empíricamente o deliberadamente, en la elaboración de productos lácteos (quesos, mantequilla, yogurt), vegetales fermentados (encurtidos, aceitunas, col agria), productos cárnicos (mortadelas, salami), bebidas (sidras), entre otros (7), por décadas y sin aparente daño a la salud, lo que les ha permitido ser consideradas como bacterias “Generalmente Reconocidas como Seguras” (GRAS).

Los cambios químicos generados en los alimentos fermentados por las bacterias ácido lácticas no solo se traducen en ventajas de índole organoléptico sino que además, pueden ser un serio obstáculo para el desarrollo de microorganismos deterioradores y para aquellos que representan un riesgo a la salud del consumidor. Aunque la producción de ácidos orgánicos (láctico y acético) es reconocido como el principal mecanismo antagónico que presentan los lácticos contra estos microorganismos, otras sustancias inhibitorias, como el peróxido de hidrógeno, el bióxido de carbono, el diacetilo, la reuterina y las bacteriocinas, han sido descritas (2).

Con el propósito de aislar e identificar bacterias ácido lácticas con la capacidad de inhibir el desarrollo de bacterias patógenas de importancia en salud pública, realizamos un estudio en quesos frescos obtenidos de mercados localizados en los municipios de Guadalajara y Zapopan, Jalisco.

Metodología

Se recolectaron 35 muestras de quesos frescos y se les realizó un recuento de bacterias lácticas empleando el medio de Actidiona-Polimixina-Nitritos (APN), la técnica de inoculación por extensión en superficie con varilla de vidrio e incubación a 30°C durante 48-72 h . Diez colonias de cada muestra (Fig. 1) que mostraron ser Gram +, catalasa –, inmóviles y con morfología celular correspondiente con el grupo, fueron retadas contra cepas de: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A y *Salmonella* (cepas indicadoras). El ensayo fue hecho siguiendo el procedimiento de inoculación por picadura propuesto por Gagliano y Hinsdill (4), y empleando la base del medio de agar APN sin tween 80, ajustado a pH de 6.5 y con una concentración de glucosa de 0.2% y de agar de 0.75% (APNmb) . Las cepas que resultaron antagónicas fueron también probadas utilizando la técnica de la gota sobre la superficie (spot-on-lawn) inicialmente propuesta por Gratia (6), el medio Lactobacilli MRS o APNmb e incubación a 30°C por 24 h (Fig. 2).

El factor antagónico fue dilucidado mediante los siguientes tratamientos hechos a los sobrenadantes de los cultivos : a) ajuste a un pH de 6.5, b) exposición a la enzima catalasa (500 U) y c) exposición a las enzimas alfa quimiotripsina, proteasa, y proteinasa K (0.1 mg/ml) y empleando la técnica de la gota sobre la superficie.



Fig.1. Colonias de bacterias ácido lácticas en medio de APN aisladas de quesos

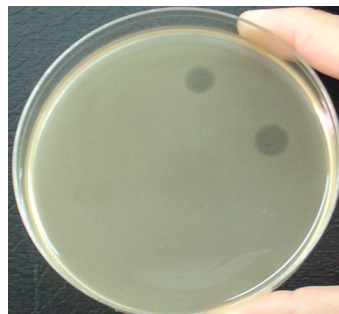


Fig. 2. Inhibición de *L. monocytogenes* por sobrenadante libre de células de cultivos lácticos retados por el método de la gota sobre la superficie

Resultados y discusión

De las 350 cepas de lácticos aisladas, 23 inhibieron por lo menos a una de las bacterias Gram + empleadas como cepas indicadoras, y ninguna a *Salmonella*. De éstas, 18 inhibieron el desarrollo de *L. monocytogenes*, 6 a *S. aureus* y 7 a *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A. Cuando los sobrenadantes del cultivo de 20 de los lácticos que resultaron antagónicos se ajustaron a pH de 6.5, su efecto inhibitorio desapareció, indicando que los ácidos orgánicos presentes en el sobrenadante fueron los responsables de la disminución del pH y del antagonismo. Este hallazgo esta acorde con lo señalado por Daeschel (2), que indica que la reducción del pH es la principal vía por la que los lácticos

ejercen su acción en contra de otros microorganismos. Los sobrenadantes de las 3 cepas de lácticos restantes conservaron su actividad antibacteriana (contra *L. monocytogenes*) a pesar del ajuste de su pH a 6.5 y el haber sido expuestos a la enzima catalasa. Sin embargo, dicho efecto desapareció cuando fueron añadidas las enzimas proteolíticas a los sobrenadantes, indicando que su efecto inhibitor se debió a sustancias de naturaleza proteica, presuntivamente bacteriocinas o sustancias inhibitorias similares a bacteriocinas (BLIS, del inglés, Bacteriocin Like Inhibitory Substance). Si bien la tasa de aislamiento de cepas de bacterias ácido lácticas productoras de bacteriocinas encontradas en nuestro estudio, es similar a la reportado por otros autores (1) ésta es muy variable y está grandemente influenciada por el método de detección, los medios de cultivo y los microorganismos empleados como indicadores de la actividad de la bacteriocina (8).

Conclusiones

Es posible aislar bacterias ácido lácticas con potencial antagonico en contra de bacterias patógenas a partir de quesos frescos que se consumen en nuestro medio. Los factores antagonicos involucrados en la inhibición de los patógenos fueron un pH ácido y la producción de sustancias similares a las bacteriocinas.

Bibliografía

- 1.- Coventry, M.J., J.B. Gordon, A. Wilcock, K. Harmark, B.E. Davidson, M.W. Hickey, A.J. Hillier and J.Wan. 1997. Detection of bacteriocins of lactic acid bacteria isolated from foods and comparison with pediocin and nisin. *J. Appl. Microbiol.* 83: 248-258.
- 2.- Daeschel, M.A. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol. Jan:* 164-167.
- 3.- Dooley, J.S.G. and T.A. Roberts. 2000. Control of vegetative microorganisms in foods. *Br. Med Bull.* 56: 142-157.
- 4.- Gagliano, V.J. and R.D. Hinsdill. 1970. Characterization of a *Staphylococcus aureus* bacteriocin. *J. Bacteriol.* 104: 117-125.
- 5.- Grahame, G. 2000. Preservation: past, present and future. *Br. Med. Bull.* 56: 84-96.
- 6.- Gratia, A. 1946. Techniques pour la recherche systematique des germes antibiotiques. *C.R. Seances Soc. Biol. Paris.* 140: 1053-1055.
- 7.- Herrero, M.,B. Mayo, B. González and J. E. Suárez. 1996. Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. *J. Appl. Bacteriol.* 81: 565-570.
- 8.- Montville, T.J. and A.L. Kaiser. 1993. Antimicrobial proteins: classification, nomenclature, diversity, and relationship to bacteriocins. In: *Bacteriocins of lactic acid bacteria* (D.G. Hoover and L.R. Steensen, Eds.). Academic Press, Inc. N.Y., pp. 1-17.
- 9.- Schillinger, U., R. Geisen and W.H. Holzapfel. 1996. Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 7: 158-164.