

### BÚSQUEDA DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS POR PCR EN UN QUESO ARTESANAL MEXICANO

Linda Ariadna Cortés Díaz, Carolina Peña, Maricarmen Quirasco  
Universidad Nacional Autónoma de México, Fac. Química. Depto. Alimentos y Biotecnología,  
Ciudad Universitaria, 04510, D.F. México. [quirabma@unam.mx](mailto:quirabma@unam.mx), Tel. y fax (55) 5622-5305

Palabras clave: PCR, queso, bacterias ácido lácticas

**Introducción.** El proceso de elaboración del queso Cotija es artesanal, a partir de leche cruda de vaca, sin ningún tratamiento térmico y sin adición de cultivos iniciadores. Es madurado durante un mínimo de 3 meses antes de salir a la venta. Se caracteriza por tener una alta concentración de NaCl (~6%). El papel de las bacterias ácido lácticas (BAL) es importante debido a que pueden ser probióticas y a que pueden influir directamente en la inocuidad del alimento, debido a la producción de ácidos orgánicos y bacteriocinas [1]. En estudios previos sólo se pudieron aislar miembros del género *Enterococcus* y *Lactobacillus*, este último con dificultad.

En este trabajo se buscó la presencia de BAL de los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*, en el queso Cotija de forma específica por un método independiente de cultivo, PCR.

**Metodología.** Se analizaron 10 muestras de queso Cotija (Q1-Q10), sin enriquecimiento (SE) y con enriquecimiento (CE) previo. La experimentación consistió en: 1. Selección de cebadores específicos con base en la literatura y la comparación a través de BLAST en bases de datos. 2. Prueba de especificidad de los cebadores; con cepas de identidad conocida. 3. Búsqueda de las BAL de interés en las muestras por medio de PCR. El método de extracción de ADN directamente del alimento y cepas fue con el sistema FAST ID®.

**Resultados y discusión.** Las secuencias (5'-3') de los cebadores seleccionados fueron: Hist1 (CTTCGTTATGA TTTTACA) y Hist2 (CAATATCAACAATTCCAT) para *Lactococcus lactis* (amplicón esperado: ~930 pb). St1 (CACTATGCTCAGAATACA) y St2 (CGAACAGCATTGA TGTTA) para *Streptococcus thermophilus* (amplicón esperado: ~900 pb), [2]. Casei (TGCACTGAGATTTCG ACTTAA) y Y2 (CCCCTGCTGCCTCCCGTAGGAGT) para *Lactobacillus casei* (amplicón esperado: ~290pb) [3]. Se corroboró la especificidad de los cebadores seleccionados al obtenerse el amplicón de tamaño esperado para cada par, con el microorganismo control respectivo. Se encontró que el par casei/Y2, además de ser específico para *Lactobacillus casei*, era capaz de identificar otras especies de lactobacilos, al obtenerse una banda de ~400 pb con el ADN de una mezcla de *Lactobacillus spp.* Al realizar la búsqueda de las BAL mencionadas en el queso Cotija directamente (SE), se observó la presencia de *Lactococcus lactis* en el 30% de las muestras analizadas y la presencia del género *Lactobacillus* en el 100% de las muestras. En la Fig. 1

se observa un ejemplo de muestras con presencia de este género.

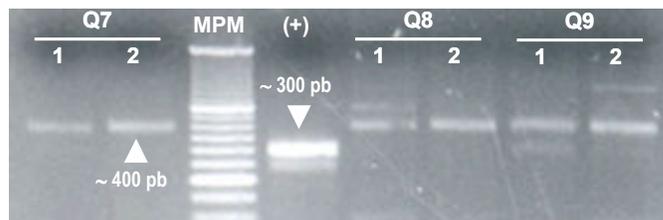


Fig 1. Gel de agarosa (1.5%). Líneas impares, SE; pares, CE. (+) *L. casei*, MPM, escalera 50 pb. Quesos 7, 8 y 9.

Con los cebadores St1/St2, se observó una banda de menor tamaño (~800 pb) al esperado en el 70% de las muestras. Al ser secuenciada esta banda, se determinó que correspondía a *Enterococcus faecalis* con un 88% de identidad. En las muestras CE con St1/St2 e Hist1/Hist2, no se obtuvo amplificación o fue muy pobre, probablemente debido a que la concentración del microorganismo de interés era mucho menor con respecto a la microbiota predominante en el medio de incubación. El hecho de encontrar cepas como *Lactobacillus casei* en el queso Cotija, reportadas como probióticas, le daría un valor agregado al producto. Adicionalmente, la presencia de estos grupos de BAL indicaría la probable producción de compuestos antibacterianos en el producto, que influiría en su calidad sanitaria.

**Conclusiones.** Se detectó la presencia de los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Enterococcus* en el queso Cotija, a través de una técnica independiente de cultivo. Las BAL de los géneros *Lactobacillus* y *Enterococcus* se encontraron en el mayor número de muestras.

**Agradecimiento.** Proyecto financiado por PAIP 5490-16 y beca por subprograma 127 Química-UNAM.

#### Bibliografía.

- [1] Bernardeau M. et al. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126:278-285
- [2] Fortina M. G., et al. (2003). Genetic characterization of some lactic acid bacteria occurring in an artisanal protected denomination origin (PDO) Italian cheese, the Toma piemontese. *Food Microbiol.* 20: 397-404
- [3] Ward L.J.H. & Timmins M.J. (1999). Differentiation of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* by polymerase chain reaction. *Letters Appl. Microbiol.* 29: 90-92.