



EFFECTO DEL ENCAPSULAMIENTO EN DOBLE CAPA SOBRE LA VIABILIDAD Y ACTIVIDAD ANTAGONICA DE *Lactobacillus reuteri* CONTRA *E. coli* K88 y *Salmonella entérica* SEROVAR Choleraesuis.

Deynali Patricia González Silva, Rosalva Pérez Morales, Ana María Domínguez Vergara, Luz Vázquez Moreno; Evelia Acedo Félix, Gabriela Ramos Clamont Montfort. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Coordinación de Ciencia de los Alimentos. Carretera a la Victoria Km 0.6. Hermosillo, Sonora, México. Cp 83304. evelia@ciad.mx; gramos@ciad.mx.

Palabras clave: encapsulamiento, probióticos, alginato y proteínas.

Introducción. *E. coli* K88 y *Salmonella entérica* serovar Choleraesuis son los principales agentes etiológicos que provocan diarrea en lechones recién destetados. Esta enfermedad es una de las condiciones patológicas más costosas para la industria porcícola (Utrera, 2003). Los antibióticos controlan al patógeno, sin embargo, su abuso, ha provocado la aparición de multirresistencia en estas bacterias. El uso de los probióticos se plantea como profilaxis y tratamiento a la diarrea infecciosa. La mejor vía para aplicarlos es añadirlos liofilizados al alimento del cerdo. Sin embargo, es necesario proteger al probiótico para que conserve su viabilidad durante la vida de anaquel y a través del paso por el tracto gastrointestinal. Este trabajo plantea el encapsulamiento de *Lactobacillus reuteri* en una doble capa de alginato y proteínas de suero lácteo y su efecto en la viabilidad y actividad antagonica de *L. reuteri* contra *S. entérica* serovar Choleraesuis

Metodología. Se estandarizaron los inóculos de bacterias patógenas ($\sim 15 \times 10^8$ UFC/mL), y de los probióticos ($\sim 24 \times 10^8$ UFC/mL) en solución salina al 0.85%. Se uso una modificación de Bauer, *et al.* (2). Se hicieron 5 pocillos en cada placa para agregar en cada uno 30 μ L del control negativo (solución salina al 0.85% y agar MRS), metabolitos sobrenadantes (S), biomasa precipitada (P) y mezcla del cultivo completo (M) de las bacterias probióticas sin encapsular. Se sembró masivamente por separado a *E. coli* K88 y *Salmonella choleraesuis*, en agar MRS. Se incubaron a 37 °C, por 24 h en anaerobiosis. Los resultados se expresaron en milímetros de halos de inhibición. Los experimentos también se realizaron con el probiótico encapsulado en alginato y encapsulado y recubierto por proteínas lácteas. Ambos tipos de cápsulas fueron liofilizadas y almacenadas a -40°C.

El encapsulamiento de *L. reuteri* se llevó a cabo en alginato de calcio según Hugues-Ayala (3). Para el recubrimiento con proteínas de suero lácteos se usaron soluciones al 40%. Para la viabilidad, las cápsulas recién se usó cuenta en placa en agar MRS con 0.5 g/L de cisteína. La incubación fue a 37 °C por 48 h.

Resultados. El único de los tratamientos ensayados con *L. reuteri* fresco que inhibió a ambos patógenos fue la biomasa, siendo mayor ($p < 0.05$) la inhibición en condiciones de anaerobiosis, para el caso de *S. Choleraesuis* (Tabla 1). En el caso de los tratamientos encapsulados liofilizados, se observó inhibición únicamente en aquellos tratamientos en los que se recubrió a las cápsulas con proteínas lácteas. La actividad antagonica permaneció después de 7 días de almacenar las cápsulas liofilizadas a -40 ° C, observándose un halo de inhibición de 16.43 ± 0.85 mm en condiciones de anaerobiosis.

Tabla 1. Actividad antagonica de *Lactobacillus reuteri* contra *E. Coli* K88 y *Salmonella entérica* serovar Choleraesuis.

<i>Escherichia coli</i> K88		<i>Salmonella choleraesuis</i>	
Aerobiosis	Anaerobiosis	Aerobiosis	Anaerobiosis
21.33 \pm 0.71	18.66 \pm 0.71	23 \pm 2.62*	12.66 \pm 1.78*

Medidas expresadas en mm (medias +/- error estándar). *Diferencia significativa con una $P < 0.05$

La viabilidad de *L. reuteri* liofilizado fue mayor ($p < 0.05$) cuando fue encapsulado y recubierto con proteínas de suero lácteo. Se obtuvieron cuentas de 3.46 Log UFC/g, 2.66 Log UFC/g y 1.19 Log UFC/g, para el *L. reuteri* encapsulado y recubierto, encapsulado y libre, respectivamente

Conclusiones. El recubrimiento con proteínas lácteas protegió a la bacteria

Agradecimiento. Los autores agradecen a CONACYT la beca de González Silva. El financiamiento fue obtenido por el proyecto SEP-CONACYT 169358.

Bibliografía.

- Zhang, B., J. Ren, et al. (2008). *Animal genetics* **39**(3): 258-266.
- Bauer AW, Kirby, WMM, Serris JC. & Turck M. (1966). *American Journal of Clinical Pathology* **45**: 493-496.
- Hugues-Ayala AM. 2010. Tesis de maestría. CIAD, Sonora, México.