

## SELECCIÓN DE *Lactobacillus* CON POTENCIAL PROBIÓTICO PARA CERDOS

María Esther Macías Rodríguez\*, Manuel Zazueta Pérez, Monique Zagorec, Felipe Ascencio Valle y Maurilia Rojas Contreras. \*Mar Bermejo No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita C.P. 23090, La Paz, BCS, Fax: 612 125-3625 mmacias@cibnor.mx.

*Palabras clave: Lactobacillus, probióticos, cerdos*

**Introducción.** *Lactobacilli* constituye un grupo dominante de microorganismos que habita el tracto gastrointestinal (TGI) de humanos y animales. Su presencia en el TGI ha sido relacionado con la salud, es por eso que especies de este género han sido utilizadas como probióticos [1]. Se ha sugerido que al adherirse, *Lactobacillus* compite por sitios de adhesión en la mucosa gástrica, siendo esta habilidad un mecanismo que impide la colonización por patógenos, sirviendo además de un medio de contacto directo con el hospedador para ejercer su acción benéfica [2]. La adhesión permite además que un microorganismo sobreviva y colonice [3]. Los mecanismos utilizados por *Lactobacillus* para reconocer y adherirse a superficies gástricas no han sido completamente elucidados, sin embargo se ha sugerido que dicha habilidad está relacionado con la expresión de moléculas superficiales llamadas adhesinas que permiten el reconocimiento específico de moléculas receptoras en la superficie mucosa.

El objetivo de este trabajo fue describir un procedimiento para seleccionar cepas del género *Lactobacillus* con potencial probiótico para beneficiar la producción porcina, tomando en cuenta que la habilidad para adherirse y colonizar mucosas gástricas así como la identificación molecular, son características importantes de los probióticos.

**Metodología.** Bacterias ácido lácticas fueron aisladas de heces de lechones sanos recién destetados, seleccionando colonias Gram positivas y catalasa negativa que presentaron morfología bacilar. Se evaluó la habilidad de las cepas para crecer en moco gástrico porcino, observando el crecimiento bacteriano por microscopía de epifluorescencia. Se determinó su habilidad para adherirse a moco gástrico y mucina mediante un ensayo de dot-blot [4]. Proteínas de superficie de 9 cepas que presentaron la mejor habilidad para adherirse y crecer en moco gástrico, fueron extraídas con cloruro de litio 1N y mediante un análisis por Western blot se determinó la presencia de proteínas con capacidad de adhesión a moco. La identificación molecular de las 9 cepas se llevó a cabo mediante la secuenciación del gen completo 16S ribosomal. Dos proteínas que presentaron fuerte reacción de adhesión a moco y mucina, fueron enviadas para la secuenciación de péptidos internos y amino terminal analizándolas posteriormente en bancos de información disponibles en línea.

**Resultados y discusión.** El análisis microbiológico de heces de lechones, permitió el aislamiento de  $10^7$  a  $10^9$  UFC por gramo, conservando un total de 87 cepas que fueron evaluadas posteriormente. Al analizar la capacidad de dichas cepas para crecer en moco intestinal de cerdos, 76 presentaron crecimiento positivo. Por otro lado, al evaluar su capacidad de adhesión por dot blot, 39 cepas se adherieron a

moco y mucina. Las 9 cepas más adhesivas identificadas molecularmente, pertenecieron al género *Lactobacillus* y a la especie *fermentum*. El análisis por Western blot, reveló la presencia de dos proteínas de 29 y 32 kDa, ambas con habilidad para adherirse a moco y mucina, como se observa en la Figura 1.

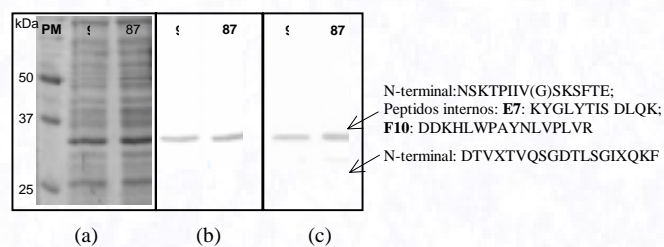


Fig. 1. Adhesión a moco y mucina de proteínas de las cepas BCS87 y BCS9. (a) Gel de poliacrilamida al 12%, PM. Marcador de peso molecular. (b) Western blot con moco de cerdo. (c) Western blot con mucina.

Al analizar los péptidos internos y el amino-terminal de las adhesinas identificadas, se observó que la proteína de 32 kDa es similar a la subunidad de unión a sustrato en proteínas transportadoras de aminoácidos dependientes de ATP (ABC-transporters). Por otro lado, la adhesina de 29 kDa, mostró similitud con proteínas que actúan como factores de adhesión y coagregación en otras especies de *Lactobacillus*.

**Conclusiones.** La capacidad de adhesión y crecimiento en moco de algunas de las cepas estudiadas, sugiere que dichas cepas pueden crecer y colonizar el tracto gastrointestinal de lechones y por lo tanto ser utilizadas como probióticos en cerdos. Los resultados sugieren que esta capacidad de adhesión podría ser atribuida a dos proteínas de 29 y 32 kDa que mostrarán similitud con proteínas superficiales que se encuentran en otras especies de *Lactobacillus*.

**Agradecimientos.** Este proyecto fue financiado por los proyectos CONACyT No. 29410-B y *Ecos-Nord* No. M05-A01. Agradezco al CONACyT por la beca No. 144406.

### Bibliografía.

- Reid, G. (1999). The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl Environ Microbiol.* 65(9): 3763-3766.
- Heinemann, C., van Hylckama Vlieg, J.E., Janssen, D.B., Busscher, H.J., van der Mei, H.C. and Reid, G. (2000) Purification and characterization of a surface-binding protein from *Lactobacillus fermentum* RC-14 that inhibits adhesion of *Enterococcus faecalis* 1131. *FEMS Microbiol Lett.* 190(1):177-180.
- Beachey, E.H. (1981). Bacterial adherence: Adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surface. *J Infect Dis.* 143 (3) 325-345.
- Rojas, M. y Conway, P.L. (2001). A dot-blot assay for adhesive components relative to probiotics. *Methods Enzymol.* 336: 389-402.