

## BÚSQUEDA DE CEPAS DE *Lactobacillus* CON POTENCIAL PROBIÓTICO PARA HUMANOS

Victoria Aguilar, Maurilia Rojas. [mrojas@uabcs.mx](mailto:mrojas@uabcs.mx)

Universidad Autónoma de Baja California Sur, Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos del Área Interdisciplinaria de Ciencias Agropecuarias.

*Palabras clave:* Probiótico, *Lactobacillus*, MAPP.

**Introducción.** Es ampliamente reconocido que diferentes especies de *Lactobacillus* habitan el tracto gastrointestinal de humanos y animales, y consecuentemente han sido utilizados como probióticos "microorganismos vivos que cuando son ingeridos aportan efectos benéficos a la salud del hospedero". Así mismo se ha reportado que la capacidad para colonizar el tracto gastrointestinal es un prerrequisito de una cepa probiótica. Recientemente se aisló una proteína de la pared celular de *Lactobacillus fermentum* 104R denominada MAPP (Mucus Adhesion Promoting Protein) la cual se adhiere a mucina y a extractos de moco intestinal de cerdo [1]. Dicha adhesina presenta homología considerable con proteínas de microorganismos patógenos [2]. En esta investigación, a partir de una colección de cepas de *Lactobacillus* aisladas de heces de niños sanos en edad preescolar se seleccionaron y se identificaron a nivel de especie cepas que presentaron potencial probiótico: se adhirieron a mucina, crecieron en moco humano y presentaron la proteína MAPP en la superficie.

**Metodología.** De la colección de bacterias ácido lácticas aisladas de heces de niños sanos en edad preescolar se realizaron pruebas de viabilidad y confirmación del género *Lactobacillus*, posteriormente se llevaron a cabo ensayos de adhesión a mucina marcada enzimáticamente (HRP), por el método de dot blot [3] e inmunoensayos con anticuerpos policlonales anti-MAPP, para ver la presencia de la adhesina MAPP. Las cepas que más se adhirieron a mucina y reaccionaron con los anticuerpos, se probaron para el crecimiento en extractos crudos de moco gastrointestinal humano. Se identificaron bioquímicamente por medio del kit API 50 CHL (Biomerieux) y molecularmente por medio de PCR amplificando la región intergénica entre los genes 16 y 23S con los primers 16-1A y 23-1B y una región dentro del gen 16S (HDA-1 y HDA-2) [4].

**Resultados y discusión.** Los resultados obtenidos en los ensayos de adhesión a mucina marcada de las 65 cepas presuntivamente del género *Lactobacillus* mostraron diferentes grados de adhesión. El 46 % presentó una adhesión de nula a tenue; el 24.6% adhesión media y el 29 % se adhirió fuertemente. Los resultados del inmunoensayo con anticuerpos policlonales anti-MAPP sugirieron la presencia de la adhesina MAPP, en un 24% de las cepas analizadas. Todas las cepas que presentaron reacción positiva con los anticuerpos, también se adhirieron a moco, sin embargo un 5% se adhirió solo a moco sugiriendo que hay otras moléculas involucradas en la adhesión. Los resultados del ensayo de crecimiento en extractos crudos de moco humano, mostraron que las 10 cepas ensayadas se reproducen en dichos extractos. Los

resultados de las pruebas bioquímicas realizadas a las cepas de *Lactobacillus* con potencial probiótico, sugirieron a A2 y B1 como *Lb. brevis* con un porcentaje de identidad de (98.5-90.0%), B5: *Lb. delbrueckii lactis* (90.4%), H44: *Lb. crispatus* (99.9%) y H68: *Lb. salivarius* (52.1%). Sin embargo los resultados del análisis filogenético molecular de la región intergénica 16S-23S rRNA, sugirieron otras especies para las mismas cepas. A2 *Lb. acidophilus* (91.3% similitud), B1: *Lb. plantarum* (90.3), B5: *Lb. jensenii* (85.4), H44: *Lb. fermentum* (82.9) y H68 *Lb. plantarum* (94%). Los resultados anteriores sugieren que existe un porcentaje considerable de cepas con potencial probiótico en la comunidad microbiana del tracto gastrointestinal de los niños de educación preescolar, las cuales reaccionaron con los anticuerpos anti-MAPP. Así mismo los resultados de la identificación a nivel de especie confirman lo mencionado por Klein [5] quien sugiere que la identificación bioquímica no es confiable y por Sohler [6], quien sugiere que los métodos moleculares son mas eficientes.

**Conclusión:** En la flora intestinal normal de los niños existe un porcentaje considerable de cepas con potencial probiótico.

### **Bibliografía.**

1. Rojas, M. 1996. Studies on an adhesion promoting protein from *Lactobacillus* and its role in colonization of the gastrointestinal tract. Goterborg Sweden. Doctoral Thesis.
2. Rojas, M. and Conway, P. L. 2001. A dot blot assay for adhesive components relative to probiotics Microbial Growth in biofilms. *Methods in Enzimology* Vol. 336. p.389-402
3. Rojas, M. Ascencio, F. and Conway P.L. 2002. Purification and characterization of a surface protein from *Lactobacillus fermentum* 104R that binds to porcine small intestinal mucus and gastric mucin. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 68. No. 5 p.2330-2336.
4. Walter J., Tannock W.G., Tilsala-Timisjarvi A., Rodtong S., Loach M. D., Munro K. and Alatosava T 2000 Detection and Identification of Gastrointestinal Lactobacillus Species by Using DGGE and Species-Specific PCR primers. *Appl Environ Microbiol* 65:297-303.
5. Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C. and Reuter, G. 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. of food microbiol.* 41:103-125.
6. Sohler D. J. Coulon and A Londvaud-Funel. 1999 Molecular identification of *Lactobacillus hilgardii* and genetic relatedness with *Lactobacillus brevis* *In. J. Sist. Bacteriol.* 1078-1081

