

CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042

Adriana Llorente y Amelia Farrés

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, D.F., 04510, Fax: 5622-5348, llorente@servidor.unam.mx, farres@servidor.unam.mx

Pediococcus acidilactici, bacteriocinas, antibacterianos

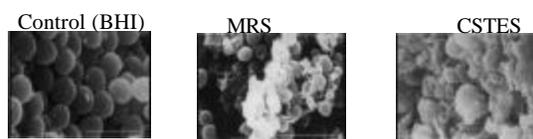
Introducción. *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 ha resultado útil para bioconservación, pero la literatura es contradictoria en cuanto a su capacidad de producir bacteriocinas. Por tanto, en este trabajo se pretende realizar la caracterización del efecto de la sustancia inhibitoria producida por esta cepa tras verificar su identidad.

Metodología. Se verificó la identidad de la cepa mediante el Sistema API CH 50 y la amplificación de la fracción 16S rRNA y lactato deshidrogenasa (Mora, 1997). Se evaluó el efecto del medio de cultivo (MRS y CSTES) en la producción de sustancias inhibitorias, descartando el papel de los ácidos generados durante la fermentación. El efecto inhibitorio se evaluó en pruebas de difusión en agar usando como microorganismos de prueba *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Listeria innocua* ATCC 33099. Se determinó también la cinética de inhibición en BHI de *S. aureus* durante 24 horas. Se observaron los cambios morfológicos y estructurales de las células de *S. aureus* por Microscopía Electrónica de Barrido y los péptidos generados en cada condición de fermentación por electroforesis en gel.

Resultados y Discusión.

La identidad de la cepa fue verificada con técnicas bioquímicas (99.9% de certeza con sistema API) y se obtuvieron los productos de PCR esperados con las técnicas moleculares. La cepa presenta diferencias con lo reportado en la literatura pues se identificaron 2 plásmidos, de 1 y 2 kb. El medio de producción incide en los niveles de inhibición y en diferencias en espectro antimicrobiano. Sólo los sobrenadantes provenientes de medio MRS mostraron actividad contra *L. innocua*, lo que sugiere la presencia de una sustancia correspondiente a bacteriocinas clase IIa, además, con este medio se obtuvo una respuesta inhibitoria más alta. Tanto los resultados obtenidos en las pruebas de inhibición de crecimiento en medio líquido, que en un caso sugerían efecto lítico y en otro bacteriostático, como el aspecto de los halos de inhibición generados por los sobrenadantes

provenientes de los dos medios de producción evaluados, llevaron al análisis morfológico de las colonias por microscopía electrónica de barrido. Se constataron los cambios morfológicos y estructurales de las células de *S. aureus*: se afecta el tamaño respecto de las células control, pierden su estructura redonda de cocos y se aplanan. En las siguientes fotografías pueden apreciarse las diferencias en el daño causado por los sobrenadantes obtenidos de diferentes medios.



El efecto diferencial puede explicarse pues los medios de cultivo evaluados generan diferentes perfiles electroforéticos en geles Tris-Glicina-SDS. Sólo una banda, de 21 kDa, se repite en los dos sistemas.

Conclusiones. Los resultados indican que la cepa presenta un comportamiento diferente a otras del género y que puede estar produciendo al menos dos sustancias diferentes con actividad antibacteriana, las que hasta el momento no se ha logrado identificar.

Agradecimientos: CONACYT Proyecto 35428-B y beca para A.L. Berenit Mendoza, Instituto de Biología, por apoyo en microscopía electrónica.

Bibliografía.

Llorente, B. A. 1998. Evaluación de la Producción de Bacteriocinas de *Pediococcus acidilactici* bajo diferentes condiciones de cultivo, Tesis de Maestría en Microbiología, F.E.S.C.-U.N.A.M.

Mora, D., Fortina, M. G. Parini, C. and Manachini, P. L. 1997. Identification of *P. acidilactici* and *P. pentosaceus* based on 16S rRNA and *ldhD* gene-targeted multiplex PCR analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* **151**:231-236.