



ANÁLISIS MOLECULAR DE LA POBLACION DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE MUCINA, PROVENIENTES DE MUESTRAS DE LECHE MATERNA Y HECES DE INFANTE

Aguirre Félix, Canales Abraham, Ramírez-Saad Hugo, Mayorga Lino, Barranco-Florido Esteban y Rina González-Cervantes. Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. 04960.

gcrm4280@correo.xoc.uam.mx.

Palabras clave: microbiota intestinal, probióticos, bifidobacterias.

Introducción. Las bacterias del género *Bifidobacterium* son anaerobias, gram positivas y uno de los principales grupos de microorganismos que dominan la microbiota intestinal de los infantes. Debido a sus efectos benéficos a la salud tanto para humanos como para animales este grupo bacteriano es considerado como probiótico¹. La colonización del huésped por las bifidobacterias es a través de la interacción con la capa de mucosa intestinal. El mucus intestinal tiene una función doble, ya que protege a la mucosa de ciertos microorganismos y además ofrece un sitio de unión inicial, como matriz sobre la cual las bacterias pueden proliferar² y como nutriente. Por otro lado, existen reportes donde se muestra que la leche materna de mujeres saludables puede ser fuente de bifidobacterias y otras bacterias comensales para la colonización del intestino de sus bebés³. En este estudio se pretende analizar la población de bacterias en general y bifidobacterias en particular que son capaces de degradar la mucina, utilizando una estrategia molecular a partir de cultivos enriquecidos en MRS.

Metodología. Se colectaron asépticamente, muestras de heces de bebés de aproximadamente un mes de edad y de leche materna de la madre correspondiente. Éstas se suspendieron inmediatamente en MRS/glicerol 1:1 y se congelaron (-20°C). A partir de esta suspensión se tomaron 100 µl y se inocularon en caldo MRS/cisteína previamente esterilizado y burbujeado con CO₂. Los cultivos fueron incubados a 37°C por 48 horas, las células fueron cosechadas y conservadas en MRS/glicerol 1:1 a -80°C. Para las fermentaciones se utilizaron dos medios de cultivo principalmente, un medio complejo, (TPY⁴) y medio semisintético (Kabel⁶) utilizando mucina gástrica de puerco (Sigma), el inóculo utilizado fueron los consorcios de microorganismos cultivados en el medio enriquecido y conservados. A partir de estos cultivos se obtuvieron muestras para extracción de ADN total, y se analizaron por DGGE, después de llevar a cabo amplificación de los genes 16S utilizando oligos específicos para bifidobacterias (Im26f y Im3r)⁷, así como oligos universales para eubacterias (1401r y 968-f-GC)^{3,5}.

Resultados. Los consorcios de las muestras de heces y de leche materna crecieron en los medios TPY con mucina como única fuente de carbono (fig. 1). Sin embargo, las muestras de heces crecidas en el medio

semisintético crecieron en menor proporción y las muestras de leche materna no presentaron crecimiento. En el caso de las fermentaciones con los cultivos provenientes de heces, en el medio TPY se obtuvo disminución en el pH no así para los mismos consorcios crecidos en medio semisintético.

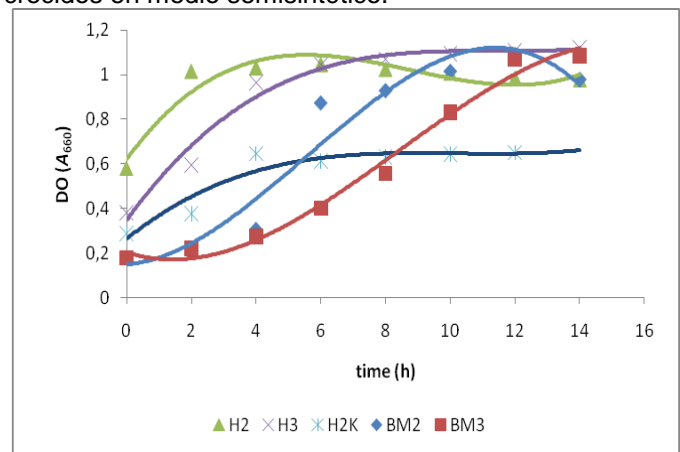


Fig. 1. Crecimiento del consorcio de Heces, (H2, H3) en medio TPY y medio Kabel (H2K), en ambos medios se utilizó como fuente de carbono mucina gástrica de cerdo. BM2 y BM3, son las muestras de leche materna 2 y 3 crecidas en medio TPY.

Conclusiones. En los cultivos enriquecidos provenientes de heces y leche materna, al crecerlos en medio TPY utilizando mucina como única fuente de carbono, se obtiene crecimiento y producción de ácidos. Los resultados obtenidos en medio semisintético nos muestran un cambio en la población degradadora de mucina aún viniendo de la misma muestra. Actualmente se están realizando los análisis moleculares por la técnica de DGGE.

Bibliografía.

1. Teitelbaum, J.E., y Walker, W. A. (2002). *Ann. Rev Nutr.* 22:107-138.
2. Probert, H. y G. Gibson. 2002. *Curr. Issues. Intest. Microbiol.* 70:4505-4511.
3. Martín R., et al. 2009. *App. Environ. Microbiol.* 75:965-969.
4. González R., et al. 2004. *Appl. Microbiol. Biotech.* 65:606-610.
5. Satokari R., Vaughan E., Akkermans A., Saarela and Willem M. de Vos. 2001. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:504-513.
6. Kabel M.A., et al., 2002. *J. Agric.Food.Chem* 50:6205-6210