

Lactobacillus spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora.

Luz María Samaniego Fernández; Maryla Sosa del Castillo.

Centro de Estudios Biotecnológicos. Facultad de Agronomía. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”. Matanzas, Cuba.

RESEÑA.

Introducción.

Las bacterias ácido lácticas presentan en la actualidad un inmenso potencial biotecnológico, dada su presencia en multitud de procesos fermentativos de alimentos destinados al consumo humano (productos lácteos, vegetales, cárnicos y de panadería, así como bebidas alcohólicas) y animal (ensilados). Estas bacterias no sólo contribuyen al desarrollo de las características organolépticas y reológicas de los alimentos, sino que generan en los mismos ambientes poco favorables para el desarrollo de microorganismos patógenos debido a su marcada capacidad antagonista, la cual favorece su proliferación en el alimento, en detrimento de cualquier otro grupo microbiano presente en la materia prima (alimento crudo) o que contamine el producto posteriormente. Además de este importante papel en procesos de bioconservación, se ha podido comprobar que algunas cepas de bacterias lácticas, entre ellas las del género **Lactobacillus**, son beneficiosas para la salud, tanto humana como animal (probióticos). Ambos efectos beneficiosos, ocasionados por su capacidad antagónica, se basan en la producción de ácidos orgánicos y otros metabolitos inhibidores, entre los que cabe mencionar el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y otros derivados del metabolismo del oxígeno, así como compuestos aromáticos (diacetilo, acetaldehído), derivados deshidratados del glicerol (reuterina), enzimas bacteriolíticas, bacteriocinas y otros.

Las bacterias lácticas pueden ser utilizadas en la prevención y el control de determinadas enfermedades, así como en el mejoramiento de la calidad de conservación de ciertos alimentos, por lo que su valor radica en tener a disposición sustancias procedentes de microorganismos que sirvan como punto de partida para la obtención de productos biotecnológicos aplicables a la solución de problemas de la salud tanto humana como animal.

En la presente reseña se brindan las características fundamentales de estas bacterias, así como su efecto probiótico, sus propiedades inmunológicas y su acción antimicrobiana y bioconservadora.

Características de las bacterias ácido-lácticas.

La Familia Lactobacillaceae.

Las bacterias ácido-lácticas se ubican en la familia **Lactobacillaceae** (Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers y Smith, 1917, citados por Bergey, 1992), la cual se caracteriza porque sus miembros pueden ser bacilos largos o cortos, aunque también cocos que se dividen como los bacilos, solamente en un plano, produciendo cadenas o tétradas de forma ocasional y filamentos, falsamente llamados ramificados.

Estas bacterias son normalmente no móviles, aunque también pueden serlo. Las especies móviles presentan flagelación peritrica. Son Gram positivas, con rara producción de pigmentos, aunque unas pocas especies los producen de color amarillo, naranja, rojo o pardo.

Las especies microaerófilas raras veces licúan la gelatina, sin embargo, las anaerobias estrictas lo hacen más comúnmente. Presentan pobre o ningún crecimiento superficial en cualquier medio.

Los carbohidratos les resultan indispensables para su buen desarrollo, pues los fermentan para dar lugar a ácido láctico (a veces con ácidos volátiles), alcohol y dióxido de carbono (CO₂) como subproductos.

No producen nitritos a partir de los nitratos, pero entre los anaerobios estrictos hay algunas especies que reducen los nitratos y otras que no se han probado con esta reacción.

Son microaerófilas hacia la anaerobiosis.

Se encuentran regularmente en la boca y en el tracto intestinal del hombre y otros animales, en alimentos y productos lácteos y en jugos vegetales fermentados. Unas pocas especies son altamente patógenas (Bergey, 1992).

El género *Lactobacillus*.

Caracteres morfológicos:

El género ***Lactobacillus*** (**lactis-leche; bacillus-pequeños bacilos**) se caracteriza por presentar células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos coryneformes (Kandler y Weiss, citados por Bergey, 1992); lo cual hace que se puedan confundir con géneros aislados habitualmente de materiales clínicos (Marin, Bantar, Monterisi, Smayevski, Suárez de Basnec y Bianchini, 1993). Estos bacilos se presentan comúnmente formando cadenas y en general son no móviles, pero cuando tienen motilidad es por la presencia de flagelación peritrica. Son Gram positivos y sólo las células muertas pueden dar resultados variables a la tinción de Gram. Además, no esporulan y algunas cepas presentan cuerpos bipolares que probablemente contengan polifosfato. Los grandes bacilos homofermentativos presentan gránulos internos revelados por tinción de Gram o por tinción con azul de metileno.

Pared celular y ultraestructura:

La pared celular de los lactobacilos, observada al microscopio electrónico es típicamente Gram positiva y contiene peptidoglicanos (mureínas) de varios quimiotipos, de ahí que el peptidoglicano del tipo Lisina-D-Asparagina sea el más ampliamente distribuido. Esta pared también contiene polisacáridos unidos al peptidoglicano mediante enlaces fosfodiéster, pero sólo presenta ácidos teicoicos relacionados a ella en algunas especies (Knox y Wicken, 1973; citados por Bergey, 1992). También pueden apreciarse al microscopio electrónico grandes mesosomas que caracterizan a este género.

Caracteres culturales y de las colonias:

Las colonias de *Lactobacillus* en medios sólidos son pequeñas (2-5 mm), convexas, suaves, con márgenes enteros, opacas y sin pigmentos. Sólo en algunos casos presentan coloración amarillenta o rojiza.

Algunas especies forman colonias rugosas. Otras, como *Lactobacillus confusus*, presentan colonias viscosas por excepción.

Generalmente no presentan actividad proteolítica ni lipolítica que pueda apreciarse mediante halos claros formados en medios sólidos que contengan proteínas o grasas.

Sin embargo, muchas cepas presentan ligera actividad proteolítica debido a proteasas y peptidasas ligadas a la pared celular o liberadas por ésta, así como una débil actividad lipolítica debido a la acción de lipasas intracelulares (Law y Kolstad, 1983; citados por Bergey, 1992).

Normalmente no reducen los nitratos, pero esta reacción puede ocurrir en algunos casos, cuando el pH está por encima de 6,0. Los lactobacilos no licúan la gelatina ni digieren la caseína, aunque muchas cepas producen pequeñas cantidades de Nitrógeno soluble. Tampoco producen indol ni sulfídrico (H₂S). Son catalasa negativos, pero algunas cepas producen la enzima pseudocatalasa que descompone el peróxido de hidrógeno. Son citocromo negativos, por la ausencia de porfirinas; presentan una reacción benzidina-negativa.

La producción de pigmentos por estas bacterias es rara y cuando ocurre, éstos pueden ser de color amarillo o naranja hacia un tono ferroso o rojizo.

Su crecimiento en medio líquido se presenta a través de éste, aunque sus células precipitan rápidamente después que el crecimiento cesa; dando lugar a un sedimento suave y homogéneo, sin formación de películas. En raras ocasiones este sedimento es granular o viscoso (Bergey, 1992).

Los lactobacilos no desarrollan olores típicos al crecer en medios comunes, pero contribuyen a modificar el sabor de alimentos fermentados, produciendo compuestos volátiles como diacetilo y sus derivados y hasta sulfuro de hidrógeno (H₂S) y aminas en el queso (Law y Kolstad, 1983; citados por Bergey, 1992).

Nutrición y condiciones de crecimiento.

Los lactobacilos presentan particularidades para cada especie respecto a los requerimientos nutricionales complejos para los aminoácidos, péptidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos y carbohidratos fermentables. Requieren no sólo carbohidratos como fuentes de Carbono y energía, sino también: aminoácidos, vitaminas y nucleótidos. Generalmente estos requerimientos variados suelen suplirse cuando el medio de cultivo de los lactobacilos contiene carbohidratos fermentables, peptona, extracto de carne y extracto de levadura, aunque una suplementación con jugo de tomate, manganeso, acetato y ésteres del ácido oleico, especialmente Tween 80, resulta estimuladora y hasta esencial para muchas especies. Por eso, estos compuestos se incluyen en el medio MRS. Existen especies que se adaptan a sustratos muy particulares y necesitan factores de crecimiento especiales (Bergey, 1992).

Debido a que las bacterias ácido-lácticas (LAB) poseen requerimientos nutricionales y de crecimiento similares; su clasificación se ha tornado difícil por los métodos microbiológicos tradicionales. El uso de pruebas moleculares, basadas en secuencias de ADN ribosomal, para identificar las bacterias aisladas de su ambiente natural, fue informado por Tannock (1988). Debido a la alta variabilidad de esta región entre especies, se emplea desde hace algunos años un método eficiente para la identificación y detección específica de bacterias ácido-lácticas probióticas, el cual resulta útil para una mejor caracterización de las mismas, denominado PCR (polymerase chain reaction o reacción en cadena de la polimerasa) (Castellanos, Chauvet, Deschamps y Barreau, 1996).

Condiciones ecológicas:

◆ pH:

Los lactobacilos crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 - 4,5 y con uno óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2. Su crecimiento cesa cuando el pH alcanza valores desde 4 hasta 3,6 en dependencia de especies y cepas y disminuye notablemente en medios neutros o ligeramente alcalinos. Los lactobacilos son capaces de disminuir el pH del sustrato donde se encuentran por debajo del valor 4,0 mediante la formación de ácido láctico. De esta forma evitan o al menos disminuyen considerablemente el crecimiento de

casi todos los otros microorganismos competidores, exceptuando el de otras bacterias lácticas y el de las levaduras (Bergey, 1992).

◆ **Necesidades de Oxígeno:**

La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerófilicas o anaeróbicas y se conoce que un incremento de la concentración de CO₂ (de aproximadamente 5% o hasta el 10%) puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos (Bergey, 1992).

◆ **Temperatura de crecimiento:**

La mayor parte de los lactobacilos son mesófilos (30 - 40°C), con un límite superior de 40°C. Aunque su rango de temperaturas para el crecimiento oscila entre 2 y 53°C, algunos crecen por debajo de 15°C y hay cepas que crecen por debajo de 5°C. Otros crecen a temperaturas bajas, cercanas al punto de congelación (por ejemplo, los que habitan en carnes y pescados congelados).

Los llamados lactobacilos “termófilos” pueden tener un límite superior de temperatura de 55°C y no crecen por debajo de 15°C. Aún no se conocen los verdaderos lactobacilos termófilos que crezcan por encima de 55°C (Bergey, 1992).

Metabolismo:

En su metabolismo, los lactobacilos van de la vida anaerobia a la aerobia. Estos microorganismos carecen de sistemas de citocromos para ejecutar la fosforilación oxidativa y no poseen enzimas superóxido dismutasas ni catalasas.

Los miembros de este género transforman la glucosa y las hexosas aldehídicas similares, los carbohidratos que producen estos azúcares simples y los alcoholes polihidroxílicos en ácido láctico por homofermentación o bien, en ácido láctico y otros productos finales adicionales como ácido acético, etanol, dióxido de carbono, ácido fórmico y ácido succínico por heterofermentación (Kandler, 1983), constituyendo al menos un 50% de los productos finales el ácido láctico, el cual usualmente no es fermentado (Kandler y Weiss, citados por Bergey, 1992).

Las principales vías de la fermentación para las hexosas son: la de Embden-Meyerhof, donde se convierte 1 mol de hexosa en 2 moles de ácido láctico por fermentación homoláctica y la vía del 6-fosfogluconato, cuyo resultado es 1 mol de CO₂, 1 mol de etanol (o de ácido acético) y 1 mol de ácido láctico, por fermentación heteroláctica.

En condiciones aerobias, la mayoría de las cepas reoxidan el NADH₂ utilizando el O₂ como aceptor final de electrones, de modo que el Acetil-CoA no es, o al menos no es completamente reducido a etanol. De esta manera, se forma ATP adicional por fosforilación a nivel de sustrato, así como proporciones variables de ácido acético y etanol, en dependencia del suministro de Oxígeno (Archibald y Fridovich; 1981 citados por Bergey, 1992).

En cuanto a los niveles enzimáticos, los lactobacilos heterofermentativos poseen fosfocetolasas, pero no FDP aldolasas, mientras que los homofermentativos poseen FDP aldolasas, pero no fosfocetolasas.

Plásmidos:

En los lactobacilos se encuentran frecuentemente plásmidos relacionados con la resistencia a drogas (medicamentos) o con el metabolismo de la lactosa. Pero el único caso conocido de intercambio genético natural de plásmidos en *Lactobacillus* es el que ocurre por conjugación del plásmido que determina el metabolismo de la lactosa en *Lactobacillus casei* (Chassy y Rokow, 1981; citados por Bergey, 1992).

Fagos:

Se ha podido describir la morfología de numerosos fagos de doble cadena de ADN que resultan virulentos para muchas especies de *Lactobacillus* y se han llegado a conocer los parámetros químico-fisiológicos de siete de estos fagos. Los fagos virulentos poseen cabezas hexagonales y presentan generalmente largas colas contráctiles o no, por lo que todos pertenecen a los grupos A o B, con la excepción de un fago virulento para *Lactobacillus plantarum*. En sentido general, estos fagos son muy similares a los que atacan a otros grupos de bacterias. Por tales razones, la lisogenia es un proceso ampliamente distribuido dentro del género *Lactobacillus*. Y esto, a su vez, no ha favorecido los intentos de establecer esquemas de tipificación con fagos para este género bacteriano (Sozzi y cols; citados por Bergey, 1992).

Estructura Antigénica:

La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* se han asignado a siete grupos serológicos, basándose en los determinantes antigénicos específicos que poseen. Estos grupos se denominan: A, B, C, D, E, F y G. Como ejemplos ilustrativos pueden citarse los casos de *Lactobacillus helveticus*, perteneciente al Grupo A, cuyo antígeno específico es el GTA (ácido teicoico glicerol), localizado en pared celular y membrana y cuyo determinante antigénico es el α -Gle (D-glucosil); así como *L. plantarum*, de antígeno RTA (ácido teicoico ribitol), localizado en la pared celular y con igual determinante antigénico que en el caso anterior (Sharpe, 1981; citado por Bergey, 1992).

Sensibilidad a antibióticos y drogas:

Los lactobacilos son sensibles ante la mayoría de los antibióticos activos contra las bacterias Gram-positivas. Se ha podido estudiar la sensibilidad de los lactobacilos intestinales ante antibióticos empleados como aditivos alimenticios (Bergey, 1992).

La resistencia a la bilis es también una propiedad importante a tener en cuenta para la colonización del intestino por los lactobacilos y se ha estudiado principalmente en el caso de *Lactobacillus acidophilus* (Klaenhammer y Kleeman, 1981; citados por Bergey, 1992).

Patogenicidad:

Aparte de las caries dentales, la patogenicidad de los lactobacilos es rara; aunque últimamente se han informado algunos procesos infecciosos en humanos donde estos microorganismos se han encontrado involucrados. Tales son los casos de abscesos, septicemias sistémicas y endocarditis bacterianas, provocados por *L. casei* subsp. rhamnosus, *L. acidophilus*, *L. plantarum* y ocasionalmente *Lactobacillus salivarius* (Bourne y cols,1978; citados por Bergey, 1992). Sin embargo, las bases bioquímicas de tal patogenicidad aún se desconocen.

Habitat:

Los lactobacilos pueden encontrarse en productos lácteos, quesos, granos, productos cárnicos o de pescado, agua, aguas cloacales, cervezas, vinos, frutas y jugos de frutas, col y otros vegetales fermentados, ensilajes, masas agrias y pulpas (Venema, Huis y Hugenholtz, 1996), aunque también forman parte de la flora normal de la boca, el tracto gastrointestinal y la vagina de muchos animales de temperatura estable, incluyendo al hombre. También pueden encontrarse en habitats secundarios como los fertilizantes de origen orgánico. Algunas especies individuales se han adaptado a determinados nichos ecológicos, que son de hecho sus habitats naturales, siendo muy difícil encontrarlos fuera de éstos (Bergey, 1992).

Otras características de importancia:

Los porcentos molares de **G + C** del ADN oscilan entre 32-53.

Especies de *Lactobacillus*.

Kandler y Weiss, citados por Bergey (1992) dividen el género *Lactobacillus* en 44 especies, que se ubican en tres grupos.

Además, algunas de estas especies se subdividen en varias subespecies; tales son los casos de:

- *Lactobacillus delbrueckii* (con tres subespecies: *bulgaricus*, *lactis* y *delbrueckii*).
- *Lactobacillus salivarius* (con dos subespecies: *salivarius* y *salicinus*).

- **Lactobacillus casei** (con cuatro subespecies: **casei**, **pseudopantarum**, **ramnosus** y **tolerans**).
- **Lactobacillus coryniformis** (con dos subespecies: **coryniformis** y **torquens**).

Bergey (1992) refiere que existen también otras especies incluidas en el grupo de los **Lactobacillus**, pero que por las características demostradas en estudios de secuencia de oligonucleótidos, no revelan relaciones filogenéticas con este género y por tanto, se consideran en posiciones taxonómicas indeterminadas. Tales especies son: **Lactobacillus catenaforme**, **Lactobacillus minutus**, **Lactobacillus rogosae** y **Lactobacillus xylosus**.

Taxonomía.

En el transcurso de los años y con el desarrollo de la Biología Molecular se han empleado varios criterios taxonómicos para perfeccionar la posición taxonómica del género **Lactobacillus** en particular y de las bacterias ácido lácticas en general.

Entre estos criterios pudieran citarse los siguientes:

- Determinación de oligonucleótidos del coeficiente de sedimentación (16S) del rRNA (RNA ribosomal) (Stackebrandt y cols; 1983; citados por Bergey, 1992).
- Estudios serológicos que involucran antisueros contra enzimas málicas, del tipo de la fructosa-1,6-difosfato aldolasa y de la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa de varias bacterias ácido lácticas y de algunas bacterias aeróbicas y anaeróbicas (London y Chace, 1983; citados por Bergey, 1992).
- Porcentaje molar de Guanina+Citocina del ADN (Schleifer y Stackebrandt, 1983; citados por Bergey, 1992).
- Nivel de homología ADN/ADN, poco significativo entre la mayoría de las especies (Mayr y cols; 1982; citados por Bergey, 1992).
- Hibridación ARN/ ADN (Schillinger; citado por Bergey, 1992).

Sin embargo, aún se precisa de estudios más profundos para determinar la estructura filogenética de este género, así como de los otros géneros integrantes de las “bacterias ácido lácticas”.

Kandler y Weiss (citados por Bergey, 1992) agrupan a los lactobacilos en los tres grupos tradicionales establecidos por Orla-Jensen (Sharpe, 1981; citado por Bergey, 1992): termobacterias, estreptobacterias y betabacterias, pero sin tener en cuenta las temperaturas de crecimiento ni la morfología; características clásicas de la clasificación de Orla-Jensen.

De modo que, sus definiciones son las siguientes:

- **Grupo I (Termobacterias representativas y nuevas especies descritas):**
Lactobacilos homofermentativos obligados: Fermentan las hexosas casi exclusivamente a ácido láctico por la vía Embden-Meyerhoff; no fermentan las pentosas ni el gluconato. Entre estas especies y subespecies se encuentran: *L. delbrueckii subsp. delbrueckii*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus animalis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus ruminis*, *L. salivarius*, *Lactobacillus sharpeae*, *Lactobacillus vitulinus* y *Lactobacillus yamanashiensis*.
- **Grupo II (Estreptobacterias típicas y nuevas especies descritas):** **Lactobacilos heterofermentativos facultativos:** Fermentan las hexosas casi exclusivamente a ácido láctico por la vía Embden-Meyerhoff o, al menos por algunas especies, hasta ácido láctico, ácido acético, etanol y ácido fórmico bajo limitantes de glucosa. También pueden fermentar las pentosas hasta ácido láctico y ácido acético por la vía de fosfocetolasa inducible. Entre estas especies y subespecies se encuentran: *Lactobacillus agilis*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus bavaricus*, *L. casei subsp. casei*, *L. casei subsp. pseudoplarum*, *L. casei subsp. rhamnosus*, *L. casei subsp. tolerans*, *L. coryniformis subsp. coryniformis*, *L. coryniformis subsp. torquens*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus homohiochii*, *Lactobacillus maltaromicus*, *Lactobacillus murinus*, *L. plantarum* y *Lactobacillus sake*.
- **Grupo III (Betabacterias características y nuevas especies descritas):** **Lactobacilos heterofermentativos obligados:** Fermentan las hexosas a ácido láctico, ácido acético

(etanol) y dióxido de Carbono (CO₂). También fermentan las pentosas hasta ácido láctico y ácido acético. En general, ambas vías involucran a la fosfoacetolasa. Entre estas especies y subespecies se encuentran: *Lactobacillus bifementans*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus collinoides*, *Lactobacillus confusus*, *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus fructosus*, *Lactobacillus halotolerans*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus kandleri*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus minor*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus sanfrancisco*, *Lactobacillus vaccinostercus* y *Lactobacillus viridescens*.

Las bacterias ácido-lácticas: un ejemplo de probióticos.

Lyons (1997) ha denominado probióticos a los productos naturales que son utilizados como promotores del crecimiento en los animales, de tal manera que su empleo permita obtener mayores rendimientos, elevada resistencia inmunológica, reducida o ninguna cantidad de patógenos en el tracto gastrointestinal y menores residuos de antibióticos u otras sustancias. Esta definición no sólo enfatiza la importancia del uso de los microorganismos probióticos en el mejoramiento de las propiedades de la microflora autóctona de los animales, sino que incluye otros efectos tales como: la promoción del crecimiento, la estimulación de la actividad inmunológica y la acción antimicrobiana contra microorganismos patógenos.

Los efectos potenciales de las bacterias probióticas son resumidos por Bengmark (1996) como sigue:

1. Producción de nutrientes de especial importancia para la mucosa intestinal, tales como ácidos grasos, particularmente los de cadena corta y aminoácidos como: arginina, glutamina y cisteína.
2. Producción de micronutrientes, especialmente vitaminas (algunas vitaminas del complejo B), antioxidantes y aminos (histamina, 5-HT, piperidina, tiramina, cadaverina, pirrolidina, agmatina, espermidina y putrescina), muchos de los cuales son utilizadas por todo el organismo.

3. Prevención del sobrecrecimiento de microorganismos potencialmente patógenos. Algunas de estas bacterias protectoras producen sustancias específicas con efecto antibiótico.
4. Estimulación del sistema de defensa inmunointestinal, referido como sistema de tejido linfoide asociado al tracto.
5. Eliminación de toxinas y sustancias innecesarias del lumen. Por ejemplo, los lactobacilos producen esteroides a partir del colesterol en el colon y esto ayuda a reducir los niveles circulantes de colesterol.
6. Participación en la regulación de funciones intestinales, tales como: utilización de mucus, absorción de nutrientes, motilidad gastrointestinal y flujo de sangre, lo cual ocurre a través de la producción de ácidos grasos de cadenas cortas, hormonas, enzimas, poliaminas y citoquinas y óxido nítrico.

Cantor (1991) plantea la importancia del mecanismo de exclusión competitiva, donde el previo establecimiento de los organismos beneficiosos (**Lactobacillus** entre otros), previene la adhesión de los organismos patógenos a la superficie del tracto digestivo.

Las cepas de microorganismos probióticos que se utilizan actualmente son de una amplia variedad de especies, entre las cuales cabe señalar: **Lactobacillus**, **Streptococcus**, **Bifidobacterium** y levaduras. Estas cepas pueden ser utilizadas como mezclas o independientemente. En la Tabla 1 (Fuller, 1993) aparece un listado de las bacterias ácido-lácticas usadas como probióticos.

Tabla 1. Bacterias ácido-lácticas usadas como probióticos (Fuller, 1993).

Lactobacillus	Streptococcus	Bifidobacterium
L. acidophilus	<u>S. cremoris</u>	<u>B. bifidum</u>
<u>L. casei</u>	S. salivarius subsp. thermophilus	<u>B. adolescentis</u>
<u>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</u>	<u>S. faecium</u>	<u>B. animalis</u>
<u>L. brevis</u>	<u>S. diacetylactis</u>	<u>B. infantis</u>
<u>L. cellobiosus</u>	<u>S. intermedius</u>	<u>B. longum</u>
<u>L. curvatus</u>		<u>B. thermophilum</u>

<u><i>L. fermentum</i></u>		
<u><i>L. lactis</i></u>		
<u><i>L. plantarum</i></u>		
<i>L. reuteri</i>		

Actualmente, no existe consenso entre los investigadores sobre si un probiótico debe adherirse (pegarse a la superficie de la mucosa intestinal) y colonizar (proliferar y establecerse como parte de la flora) (Saavedra, 1995). En este sentido, Sarem-Damerdji, Sarem, Marchal y Nicolas (1995) plantearon que estas cuestiones son difíciles de estudiar debido a la complejidad del tracto gastrointestinal y a las interacciones entre los diferentes tipos de células. No obstante, Pedersen y Tannock (1989) estudiaron la colonización del tracto gastrointestinal de cerdos por *Lactobacillus* y en sus experimentos probaron la habilidad de adherirse (*in vitro*) de las 8 cepas de *Lactobacillus* aisladas. Estos resultados mostraron que las cepas pueden asociarse al epitelio escamoso estratificado en el tracto digestivo de los cerditos, pero que la asociación epitelial *in vivo* puede ser un factor importante en el movimiento de las poblaciones de *Lactobacillus* en el tracto.

Los lactobacilos son un componente importante de la microflora intestinal y algunas especies se añaden a la leche para provocar su efecto probiótico en el intestino humano. En particular, en este caso se usan *L. acidophilus*, *L. casei* y *L. reuteri* (Fujisawa, Benno, Yaeshima y Mitsuoka, 1992).

Además, considerando el potencial de *L. reuteri* para prevenir o tratar varios tipos de infecciones gastrointestinales, este microorganismo pudiera utilizarse como un probiótico efectivo.

L. plantarum es un probiótico único, dada su capacidad para tolerar valores de pH más bajos que la mayoría de otros microorganismos (Mc Donald, Fleming y Hassan, 1990), razón por la cual esta especie se presenta comúnmente en alimentos fermentados naturalmente, en vegetales, en pescados y en carnes.

Underdahl (1982, 1983); Lewenstein (1979) y Jorgensen (1988) informan sobre investigaciones realizadas utilizando bacterias ácido-lácticas SF 68 en cerditos, con las cuales se redujo en éstos la mortalidad, además de disminuir la incidencia de diarreas y propiciar una mayor utilización del alimento.

En la literatura se reporta un gran número de patentes acerca de procesos de obtención, caracterización y aplicación de productos con propiedades probióticas. Conway y Kjelleberg (1986) lanzan al mercado la patente sueca “Procedimiento para la preparación de una composición bacteriana para el tratamiento de afecciones gastrointestinales en animales”. De Estados Unidos, Manfredi y Miller (1987) reportan: “Cepas de *Lactobacillus* para aumentar la eficiencia en la conservación de alimentos” y Sherwood y Barry (1991): “Productos para inhibir la adhesión, crecimiento y/o supervivencia de patógenos”. Además, Moling y Ahrne (1993), de Estados Unidos, informan sobre: “*Lactobacillus* colonizador del intestino”.

Resultados reportados por Tournut, Redon, Bezille y Vaast (1976) en Francia; Jensen (1978) y Boisen (1978) en Dinamarca, informaron mejores condiciones de salud en cabras tratadas con *L. acidophilus* en la dieta.

Es conocido que en los cerdos jóvenes existe una inadecuada capacidad para la acidificación. En este sentido, Vanbelle (1989) plantea la “hipótesis de acidificación”, mediante el uso de ácido láctico producido por *Lactobacillus* y *Streptococcus* para incrementar la producción de ácido láctico en el estómago de estos animales.

Las bacteriocinas.

Entre la variedad de sustancias antimicrobianas producidas por las bacterias ácido-lácticas se encuentran las bacteriocinas, proteínas bactericidas que inhiben especies estrechamente relacionadas con el cultivo productor (Klaenhammer, 1988).

Como ejemplo de estas sustancias pueden citarse las que se han identificado y caracterizado a partir de cepas de *Lactobacillus* de importancia industrial, que son:

- Lactacin B (Barefoot y Klaenhammer; 1983, 1984).
- Lactacin F (Muriana y Klaenhammer; 1987, 1991).
- Helveticin J (Joerger y Klaenhammer; 1990).
- Helveticin V-1829 (Vaughan, Daly y Fitzgerald; 1992).
- Fermentacin (De Klerk y Smit; 1967).
- Sakacin A (Schillinger, Kaya y Lucke; 1991).
- Sakacin M (Sobrino, Rodríguez, Moreira, Cintas, Fernández, Sanz y Hernández; 1992).

- Sakacin P (Tichaczek, Nissen-Meyer, Nes, Vogel y Hammes; 1992).
- Lacticinas A y B (Toba, Yoshioska e Itoh; 1991).
- Lactocin S (Mortvedt y Nes; 1990).
- Lactocin LP27 (Toba, Yoshioska e Itoh; 1991).
- Plantaricin BN y Bavaricin MN (Lewus y Montville; 1992).
- Plantacin B (West and Warner, 1988).

La caracterización bioquímica de bacteriocinas procedentes de bacterias ácido-lácticas es una importante forma para estudiar su modo de acción sobre células sensibles, con vistas a evaluar su posible utilización como preservantes de alimentos.

Se han aislado y caracterizado parcialmente muchas bacteriocinas de *Lactobacillus plantarum*; sin embargo, solamente tres se han purificado y secuenciado: Plantaricin A, Plantaricin C y Plantaricin 149 (De Vuyst, 1994).

Como ejemplos de bacteriocinas procedentes de especies determinadas de *Lactobacillus* pudieran citarse:

- **Lactacin B**, producida por *L. acidophilus* N₂, que es termoestable (100° C, 30 minutos) y activa contra *Lactobacillus* estrechamente relacionados, incluyendo a *L. delbrueckii subsp. lactis* ATCC 4797 (Barefoot, Ying-Ru Chen, Hughes; Bodine, Shearer y Hughes; 1994), la cual se detecta solamente en cultivos mantenidos a pH entre 5,0 y 6,0 y se produce óptimamente a pH 6,0 (Barefoot y Klaenhammer, 1984).
- **Plantaricin S**, producida por *L. plantarum* LPCO10, que se ha aislado de la fermentación de olivos verdes y se ha purificado hasta su homogeneidad (Jiménez, Ruiz, Cathcart, Holo, Nes, Sletten y Warner, 1995), demostrando una actividad asociada con dos péptidos diferentes llamados α y β , cuya acción complementaria se requiere para su acción completa.

En general, se ha establecido que la habilidad para producir una variedad de bacteriocinas y diplococinas está ligada a los plásmidos (Klaenhammer, 1988). Además, la posibilidad de que la producción de nicinas sea mediada por un plásmido ha sido sugerida por numerosos investigadores de los años 70.

Las bacterias ácido lácticas producen ácido láctico o bien, ácidos láctico y acético y también pueden producir otras sustancias inhibitoras tales como: diacetilo, peróxido de hidrógeno,

reuterina (b- hidroxipropionaldehído) y bacteriocinas. Estas últimas son producidas ribosomalmente como proteínas o polipéptidos precursores que, en su forma activa, ejercen un efecto antibacterial contra un espectro limitado de bacterias estrechamente relacionadas (Jack, Tagg y Ray; 1995).

Sin embargo, otras bacteriocinas son activas contra especies estrechamente relacionadas y además, contra especies de los géneros Listeria y Enterococcus. La nicina, por ejemplo, es activa contra espectros más amplios de bacterias Gram positivas que incluyen Clostridium botulinum y sus esporas (Hurst, 1981; citado por Stiles, 1996).

Acción antimicrobiana.

Como parte de la acción antimicrobiana de las bacterias ácido lácticas, pueden referirse numerosos ejemplos que ilustren esta actividad. De esta forma, L. plantarum es la cepa más frecuentemente productora de bacteriocinas, lo cual explica su habilidad para controlar otros microorganismos, incluyendo los patógenos (Olesupo, Olukoya y Odunfa, 1995).

La producción de antibióticos y antimetabolitos por ciertos microorganismos incluye sustancias como: nicinas, bacteriocinas, acidofilinas, lactalinas y toxinas destructoras de levaduras (Gedek; 1974, 1975, 1980, 1981, 1986; citado por Vanbelle, Teller y Focant; 1989); (Polonelli y Morace, 1986).

Muchas cepas de Lactobacillus forman sustancias antimicrobianas inhibidoras del crecimiento de otros microorganismos “in vivo” (Davidson y Hoover, 1993; Saxelin; 1997). Estos componentes antimicrobianos no son ni ácidos formados por bacterias ácido-lácticas ni microcinas, ya que no son activos contra otros Lactobacillus.

Se plantea que Lactobacillus GG también tiene un efecto antimicrobiano “in vitro” contra cepas de Escherichia coli, Streptococcus spp; Pseudomonas spp; Salmonella spp; Bacteroides fragilis, Clostridium spp. y Bifidobacterium sp. La sustancia inhibidora no es activa contra cepas de Lactobacillus, sin embargo, la actividad inhibidora no es sensible ni al calor ni a proteasas y el componente es activo solamente en valores de pH entre 3 y 5 (Silva, Jacobus, Deneke y Gorbach; 1987; Saxelin; 1997).

Huttunen, Noro y Yang (1995) y Saxelin (1997) aislaron piroglutamato antimicrobiano de cepas de L. rhamnosus y también encontraron que Lactobacillus GG contenía esta sustancia (Saxelin, 1997).

L. reuteri produce ácidos (láctico y acético) como productos finales del metabolismo, los cuales tienen una considerable actividad antimicrobiana, particularmente en ambientes relativamente ácidos (pH: 5). Recientemente se ha descubierto que el metabolismo del glicerol por L. reuteri puede dar como resultado la excreción de un intermediario metabólico, el 3-hidroxipropionaldehído, el cual desarrolla más actividad antimicrobiana contra patógenos potenciales tales como: Salmonella, Clostridium, Listeria y Escherichia, que contra muchos de los constituyentes normales de la microbiota intestinal (Axelsson, Chung, Lindgren y Dobrogosz, 1989; Wolf, Garleb, Ataya y Casas; 1995). Se piensa que esta actividad antimicrobiana contribuye a la supervivencia de las células de L. reuteri dentro de su ecosistema gastrointestinal.

Biopreservación.

Con respecto a este proceso, Hurst (1973) considera el papel de “antibióticos” (bacteriocinas) tales como la nicina en la preservación de alimentos que sostienen el crecimiento de las bacterias ácido lácticas. En la actualidad a este proceso se le ha llamado biopreservación, para diferenciarlo de la preservación química de alimentos.

Hirsch, Grinsted, Chapman y Mattick (1951) y McKay (1989) sugirieron la posibilidad de la utilización de cepas de estreptococos u otras bacterias ácido-lácticas productoras de nicinas para la preservación de alimentos, por lo que recomiendan el uso de nicinas para prevenir la producción de gas por clostridios en ciertas variedades de quesos, así como el crecimiento de Staphylococcus aureus en éstas.

Las bacteriocinas son los preservativos de alimentos naturales más prometedores (Daeschel, 1993; Ray y Daeschel, 1994). A causa de su actividad inhibitoria contra una variedad de organismos que compiten en los alimentos, estas sustancias se han usado ampliamente en fermentaciones de vegetales, carnes y leche (Winkowski, Crandall y Montville, 1993).

Las bacterias ácido lácticas preservan los alimentos como resultado de un conocimiento competitivo producto de su metabolismo y de la producción de bacteriocinas. Es por esto que desempeñan un papel importante en las fermentaciones de alimentos, pues ocasionan los cambios de sabores característicos y ejercen un efecto preservativo sobre los productos fermentados.

Se estima que el 25% de la dieta de los europeos y el 60% de la dieta en muchos países subdesarrollados consiste en alimentos fermentados (Holzapfel, Geisen y Schillinger;1995). Entre las especies de **Lactobacillus** que desempeñan un papel interesante en la biopreservación se encuentra **L. plantarum**, bacteria que contiene plásmidos proclives a portar importantes enzimas de la fermentación (Nes, 1984).

L. plantarum no sólo preserva adecuadamente, sino que también, algunas veces, incrementa el contenido de importantes nutrientes como los ácidos grasos W-3, bajo condiciones de almacenamiento (Peng, 1975).

Su habilidad exclusiva para inhibir patógenos es utilizada por la industria alimentaria para la biopreservación. Al respecto, se ha comprobado que cuando se inocula en alimentos en conservación inhibe completamente el crecimiento de bacterias aeróbicas, algunas enterobacteriáceas y **Staphylococcus aureus** (Ashenafi y Busse, 1989; Bengmark; 1997).

Otra faceta de la acción de las bacterias ácido lácticas, entre las que se destaca el género **Lactobacillus**, es la conservación de forrajes en forma de ensilajes, debido a que ellas poseen dos características fundamentales:

- Tienen mayor incidencia en el pH final de los ensilajes.
- Ejercen un buen control sobre el resto de las bacterias presentes.

Es por esto que en el mundo actual se comprueba su efectividad como conservantes biológicos, actividad en la que han demostrado propiedades eficientes, además de ciertas ventajas como: no contaminar el ambiente, emplearse en pequeñas cantidades y adaptarse al medio cuando tienen que desarrollarse (Bolsen, 1987)(Esperance y Ojeda, 1997).

También aquí se destaca **L. plantarum**, que produce cambios cualitativos durante los primeros estadíos de la bioconservación, posiblemente debidos al antagonismo entre esta especie y el resto de las bacterias presentes en el ensilaje, a las transformaciones del medio ambiente (aerobiosis o anaerobiosis) y al grado de tolerancia a la acidez que presenten los diferentes grupos bacterianos (Luis, Esperance y Ramírez, 1991).

Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana (1992) muestran un ejemplo de la influencia positiva que ejercen estos bioconservantes en factores relacionados con la mejor calidad del alimento animal (Tabla 2).

Tabla 2. Respuesta de aditivos biológicos (L. plantarum) en ensilajes de guinea cv. Likoni (Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana, 1992).

Tratamientos	MSD (g/Kg P ^{0.75})	EM (Kcal/Kg P ^{0.75})	PBD (g/Kg P ^{0.75})
a) Consumo de nutrientes.			
Control	28,9 ^{bc}	107,0 ^b	2,26 ^{ab}
<i>L. plantarum</i>	31,1 ^a	115,8 ^a	2,46 ^{ab}
<i>L. plantarum</i> + miel (2%)	28,1 ^c	106,3 ^b	2,05 ^b
b) Digestibilidad (%).	MO	PB	FB
Control	55,0 ^{bc}	53,6 ^b	51,9 ^d
<i>L. plantarum</i>	53,3 ^b	52,3 ^b	57,3 ^b
<i>L. plantarum</i> + miel (2%)	54,4 ^c	50,0 ^b	53,7 ^{cd}
ES + -	0,3 ^{***}	3,5 ^{***}	1,2 [*]

a, b, c, d Valores con superíndices no comunes difieren significativamente a $P < 0,05$ (Duncan, 1955).

* $P < 0,05$

*** $P < 0,001$

Teniendo en cuenta que *L. plantarum* es uno de los microorganismos más utilizados en la producción de ensilajes, Lindgren, Pettersson, Jonson, Lingvall y Kaspersson (1985), estudiaron la obtención de bacterias ácido lácticas (*L. plantarum*) a partir de ensilajes de pastos tropicales con fines inoculativos, verificando su producción de ácido láctico, la cual alcanzaba niveles superiores a los 75,0 mL/Kg de leche, resultados que coinciden con los informados por Dellaglio (1985), quien considera que cuando esta especie crece dentro del material ensilado es capaz de transformar del 75 al 80% de los carbohidratos solubles en ácido láctico. En la Tabla 3 se observan similares resultados en Cuba.

Tabla 3. Producción de ácido láctico por *L. plantarum* (Luis y Ramírez; 1991).

Bacteria	Réplicas				Valor medio	mL de ácido láctico/Kg de leche
	1	2	3	4		

<u>L. plantarum</u>	8,1	8,0	7,7	7,6	7,8	78,5
----------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	------

También respecto a su papel en las fermentaciones biológicas, Koegel (1999) citado por McGraw (1999) logra obtener producciones de ácido láctico de hasta un 60% a partir de fibra de alfalfa pretratada con agua caliente a 430°F y 350 libras/pulgada² de presión durante 2 minutos, empleando una cepa especial de **Lactobacillus** (fermentadora de pentosas y hexosas), conjuntamente con enzimas hidrolíticas.

El uso de inoculantes biológicos no sólo mejora la calidad fermentativa del ensilaje (Gouet, 1985), sino también los indicadores de consumo y digestibilidad del mismo (Lindgren, Lingvall, Kaspersson, Kartzow y Rydberg, 1983).

Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana (1992) inocularon forraje preparado para ensilar con L. plantarum, determinando indicadores bioquímicos y bromatológicos: MS, pH, ácidos acético, butírico, isobutírico y propiónico, así como la producción de amoníaco y el nitrógeno total (Nt); MO, PB y FB, la digestibilidad y el consumo de esos indicadores y el consumo de nutrimentos: MSD, EM y PBD.

El empleo conjunto de *L. plantarum* y *P. acidilactici* en ensilajes de guinea cv. Likoni mostró eficiencia en el control de la mayoría de los indicadores fermentativos estudiados y aunque entre ambos se destacó la acción del *P. acidilactici*, este efecto positivo puede atribuirse a la acción conjunta de ambas bacterias ácido lácticas, que favorecen una buena fermentación (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto de la inoculación de bacterias ácido lácticas sobre ensilajes de guinea Likoni (Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana; 1992).

Tratamientos	Acidos (%MS)				pH	NH ₃ -N/%Nt
	Acético	Butírico	Isobutírico	Propiónico		
L. plantarum	3,34 ^b	19,7 ^a	0,36 ^a	0,76 ^b	4,6 ^{ab}	4,46 ^b
P. acidilactici	1,69 ^c	12,8 ^c	0,13 ^b	0,38 ^c	4,5 ^{bc}	3,59 ^c

Control	5,70 ^a	14,04 ^b	0,27 ^{ab}	1,52 ^a	4,7 ^a	5,98 ^a
ES + -	0,21**	1,3**	0,04*	0,012*	0,03*	0,13*

a, b, c, d Letras no comunes en columnas difieren para $P < 0,05$ (Duncan, 1955).
* $P < 0,05$ ** $P < 0,00$

Con respecto a la composición bromatológica y los indicadores fermentativos del ensilaje de guinea Likoni; Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana (1992) muestran los resultados de sus experiencias en la Tabla 5, demostrando que existen niveles aceptables en los contenidos de PB y FB, con respecto al valor nutritivo de los ensilajes, así como que estos valores explican los consumos de MSD (Tabla 6) que posibilitan alcanzar niveles de alimentación superiores a los de mantenimiento. En la Tabla 6 puede observarse que el efecto de **L. plantarum** es muy marcado con respecto al control y es también superior al de **P. acidilactici**. Otro detalle importante puede apreciarse en cuanto al consumo de EM, incrementado también con el empleo de ambas bacterias ácido lácticas, especialmente de **L. plantarum**.

Tabla 5. Composición bromatológica (%) e indicadores fermentativos de ensilajes de guinea Likoni inoculada con aditivo biológico en silos piloto (Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana; 1992).

Tratamientos	MS	MO	PB	FB	pH	NH ₃ -N/%Nt	Acido butírico (g/Kg MS)
Control	38,1	89,4	7,5	29,5	4,7 ^a	0,92 ^b	1,605 ^a
<u>L. plantarum</u>	37,3	89,6	6,5	31,3	4,3 ^b	0,88 ^b	1,185 ^a
<u>L. plantarum</u> + miel (2%)	37,0	89,8	6,4	30,8	4,1 ^c	0,80 ^b	0,065 ^b
<u>P. acidilactici</u>	37,6	90,1	7,6	33,8	4,0 ^c	1,17 ^a	0,035 ^b
<u>P. acidilactici</u> + miel (2%)	37,0	90,1	6,9	30,5	4,3 ^b	1,30 ^a	0,050 ^b
ES + -	0,5	0,8	1,1	0,9	0,04 ^{***}	0,03 ^{***}	0,133 ^{***}

a, b, c Letras no comunes en columnas difieren para $P < 0,05$ (Duncan, 1955). *** $P < 0,001$

En relación con el consumo de nutrimentos y la digestibilidad del ensilaje de guinea Likoni, éstos aparecen respectivamente en las Tablas 6 y 7.

Tabla 6. Consumo de nutrimentos de ensilajes de guinea Likoni conservada con aditivo biológico en silos piloto (Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana; 1992).

Tratamientos	MSD g/Kg PM	EM Kcal/Kg PM	PBD g/Kg PM
--------------	-------------	---------------	-------------

Control	28,9 ^{bc}	107,0 ^b	2,26 ^{ab}
<i>L. plantarum</i>	31,1 ^a	115,8 ^a	2,46 ^{ab}
<i>L. plantarum</i> + miel (2%)	28,1 ^c	106,3 ^b	2,05 ^b
<i>P. acidilactici</i>	30,0 ^{ab}	112,5 ^a	2,74 ^a
<i>P. acidilactici</i> + miel (2%)	28,0 ^c	104,0 ^b	2,14 ^b
<i>ES</i> + -	0,41 ^{**}	1,3 ^{**}	0,03 ^{**}

a, b, c Letras no comunes en columnas difieren para P < 0,05 (Duncan, 1955).
 ** P < 0,001

Tabla 7. Digestibilidad (%) de ensilajes piloto de guinea Likoni inoculada con aditivo biológico (Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana; 1992).

Tratamientos	MO	PB	FB
Control	55,0 ^{bc}	53,6 ^b	51,9 ^d
<i>L. plantarum</i>	55,3 ^b	52,3 ^b	57,3 ^b
<i>L. plantarum</i> + miel (2%)	54,4 ^c	50,0 ^b	53,7 ^{cd}
<i>P. acidilactici</i>	56,6 ^a	63,0 ^a	62,2 ^a
<i>P. acidilactici</i> + miel (2%)	55,5 ^b	51,8 ^b	56,7 ^{bc}
<i>ES</i> + -	0,3 ^{***}	3,5 ^{***}	1,2 [*]

a, b, c, d Letras no comunes en columnas difieren para P < 0,05 (Duncan, 1955).
 * P < 0,05
 *** P < 0,001

En cuanto a la digestibilidad (Tabla 7) el efecto de *P. acidilactici* supera al de *L. plantarum* en los parámetros MO, PB y FB, aunque en este último caso *L. plantarum* también difiere del control.

De forma general, Luis, Esperance, Ojeda, Cáceres y Santana (1992) establecen que el uso de inoculantes biológicos mejora el patrón fermentativo del material conservado al disminuir la producción de metabolitos indeseables (ácido butírico, nitrógeno amoniacal y ácido acético), lo cual repercute positivamente en el valor nutritivo del alimento animal y se expresa en mayor consumo y digestibilidad de los nutrientes.

Con respecto a otros efectos relacionados con el mejoramiento de la salud humana, los tratamientos con ***Lactobacillus*** se han recomendado para un gran número de condiciones tales como: intolerancia a la lactosa, desórdenes diarreicos, reducción del colesterol, profilaxis de infecciones intestinales y urinarias, inmunomodulación y hasta vacunación oral (Sanders, 1994; Mukai y Arihara, 1994).

Conclusiones.

Las bacterias ácido-lácticas y dentro de éstas, los lactobacilos, poseen un grupo de propiedades importantes:

- Rango muy amplio de habitats, desde los productos lácteos y sus derivados, las carnes, granos, frutas y vegetales fermentados, hasta la flora normal de la boca, el tracto gastrointestinal y la vagina de muchos animales y del hombre.
- Requerimientos nutricionales y de crecimiento muy similares, por lo que, para su mejor caracterización, se ha propuesto el empleo de pruebas moleculares, entre las que se destaca el uso de la reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR.
- Utilización como probióticos, debido a su capacidad de control de la microbiota intestinal y a su acción para evitar la colonización y el crecimiento de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal.
- Producción de sustancias antimicrobianas (ácidos láctico y acético, metabolitos) y de numerosas bacteriocinas, en las cuales se fundamenta su potente acción probiótica, antimicrobiana y bioconservadora.
- Importante papel en los procesos de bioconservación de la industria alimentaria, función favorecida por su capacidad para la producción de bacteriocinas.
- Buenas características de inoculantes biológicos, ya que mejoran la calidad fermentativa del ensilaje y sus indicadores de consumo y digestibilidad de nutrientes, disminuyendo además la producción de metabolitos indeseables, lo cual repercute positivamente en el valor nutritivo del alimento animal.
- Amplias perspectivas de utilización en el incremento de calidad de los alimentos y en su conservación a largo plazo; así como en el mejoramiento de la salud animal y humana.

Los resultados expuestos en esta reseña brindan la posibilidad de estudio de las bacterias ácido lácticas y especialmente de los lactobacilos, con respecto a importantes características que favorezcan la mayor explotación de su potencial como probióticos, bioconservantes y antimicrobianos de importancia actual.

Bibliografía:

Ashenafi, M. and Busse, M. 1989. Inhibitory effect of *Lactobacillus plantarum* on *Salmonella infantis*, *Enterobacter aerogenes* and *Escherichia coli* during tempeh fermentation. J. Food Protect. 52: 169-172.

Axelsson, L. T; Chung, T. C; Dobrogosz, W. J. and Lindgren, S. E. 1989. Production of a broad spectrum antimicrobial substance by *Lactobacillus reuteri*. Microbial Ecology in Health and Disease 2: 131-136.

Barefoot, S. F. and Klaenhammer, T. R. 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environm. Microbiol. 45: 1808-1815.

Barefoot, S. F. and Klaenhammer, T. R. 1984. Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin lactacin B. Appl. Environm. Microbiol. 26: 328-334.

Barefoot, S. F; Ying-Ru Chen; Hughes, T. A; Bodine, A. B; Shearer, M. Y. and Hughes, M. D. 1994. Identification and purification of a protein that induces production of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin Lactacin B. Applied and Environmental Microbiology. Vol 60. No. 10: 3522-3528.

Downloaded from <https://www.cambridge.org/core>. University of Cambridge, on 02 Jun 2018 at 10:52:00, subject to the Cambridge Core terms of use, available at <https://www.cambridge.org/core/terms>. <https://doi.org/10.1017/S0950268818000000>

Copyright material - Review only - Not for redistribution. Cambridge University Library

Copyright material - Review only - Not for redistribution. Cambridge University Library

Boisen, H. 1978. Significance of some lactic acid bacteria for the intestinal flora of pigs and calves. Denmark . Mejeritekniske SlesKob. Pp: 55-59

Bolsen, K. K. 1987. New technology in forage conservation-feeding systems. In: Biotechnology in the Feed Industry. Edited by T. Pearse. Lyons. P. 257.

Cantor, A. H. 1991. Role of biological products. Reprinted from: Broiler Industry.

Castellanos, María Inés; Chauvet, A; Deschamps, A. and Barreau, C. 1996. PCR methods for specification and specific detection of probiotic acid lactic bacteria. Current Microbiology. Vol. 33:100-103.

Chung, T. C; Axelsson, L. T; Lindgren, S. E. and Dobrogosz, W. J. 1989. *In vitro* studies on reuterin synthesis by *Lactobacillus reuteri*. Microbial Ecology in Health and Disease 2: 137-144.

Conway, P & Kejelleberg, S. 1986. Patente sueca. N⁰ 557029.

Daeschel, M. A. 1993. Applications and interactions of bacteriocins from lactic acid bacteria in foods and beverages, p. 63-91. In D. G. Hoover and L. R. Steenson (eds.). Bacteriocins of acid lactic bacteria. Academic Press, Inc, New York.

Davidson, M. P. and Hoover, D. G. 1993. In "Lactic Acid Bacteria" (S. Salminen and A. von Wright, eds.), Marcel Dekker Inc; New York. P: 127.

De Klerk, H. C. and Smit, J. A. 1967. Properties of a *Lactobacillus fermenti* bacteriocin. J. Gen. Microbiol. 48: 309-316.

Dellaglio, F. 1985. Microbiologie- Aliments- Nutrition. 3: 91.

De Vuyst, L. 1994. Bacteriocins and bacteriocin-like substances from *Lactobacillus*, p. 319-329. In: L. de Vuyst and E. J. Vandamme (ed.). Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics and applications. Blackie Academic & Professional, London.

Esperance, M. Y Ojeda, F. 1997. Conservación de forrajes. Pastos y Forrajes 20 #1:45-71.

Fujisawa, T; Benno, Y; Yaeshima, T. and Mitsuoka, T. 1992. Taxonomic study of the *Lactobacillus acidophilus* group, with recognition of *Lactobacillus gallinarum sp. nov.* and *Lactobacillus johnsoni sp. nov.* and synonymy of *Lactobacillus acidophilus* group A3 (Johnson et al, 1980) with the type strain of *Lactobacillus amylovorus* (Nokamura, 1981). Inst. J. Syst. Bacteriol. 42: 487-491.

Fuller, R. 1993. Probiotics – an overview. International Poultry Production: 13-17.

Gedek, B. 1974. Auswirkungen der Zusammensetzung und Stoffwechsellatigkeit der Darmflora auf Gesundheitszustand des Makroorganismus. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Ref. 240: 418-423.

Gedek, B. 1975. Zur Wirkung des Hefepräparates Perentol. Munch. Med. Wschr. 117: 97-98.

Gedek, B. 1980. Modern growth promoters and bacterial resistance (Moderni promotori de crescita e resistenza bacteria), Tavola Rotondo di Milano, 11. 10. 1979, Edizioni Minerva Medica, S. 277-294. bzw. 103-116.

Gedek, B. 1981. Factors influencing multiple resistance in enteric bacteria in animals. Proc. AVI Symposium "Ten Years On From SWANN", London, October, S. 111-126.

Gedek, B. 1986. Hefen als Krankheitserreger bei Tieren. Bd. 7 der Sammlung "Infektionskrankheiten und ihre Erreger", VEB Gustav-Fischer-Verlag, Jena.

Gouet, Ph. 1985. Silage: new biological aspects. Symposium Santé Animale. SANOFI. Francia. P. 35.

Hirsch, A; Grinsted, E; Chapman, H. R. and Mattick, A. T. R. 1951. A note on the inhibition of an anaerobic sporeformer in Swiss-type cheese by a nisin-producing *Streptococcus*. J. Dairy Res. 18: 205-206.

Holzappel, W. H; Geisen, R. and Schillinger, U. 1995. Biological preservation of foods with reference to protective cultures bacteriocins and food-grade enzymes. *Int. J. Food Microbiol.* 24: 343-362.

Hurst, A. 1981. Nisin. *Adv. Appl. Microbiol.* 27: 85-123.

Hurst, A. 1973. Microbial antagonism in foods. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 6: 80-90.

Huttunen, E; Noro, K. and Yang, Z. 1995. *Int. Dairy J.* 5: 503

Jack, R. W; Tagg, J. R. and Ray, B. 1995. Bacteriocins of Gram positive bacteria. *Microbiol. Rev.* 59: 171-200.

Jensen, H. 1978. Significance of some lactic acid bacteria for the intestinal flora of pigs and calves. Denmark . *Mejeritekniske SlesKob.* Pp: 49-54.

Jiménez, R; Ruiz, J. L; Cathcart, D; Holo, H; Nes, I. F; Sletten, K. H. and Warner, P. J. 1995. Purification and partial amino acid sequence of plantaricin S, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10, the activity of which depends on the complementary action of two peptides. *Applied and Environmental Microbiology.* Vol. 61. No. 12: 4459-4463.

Joerger, M. C. and Klaenhammer, T. R. 1990. Cloning, expression and nucleotide sequence of the *Lactobacillus helveticus* 481 gene encoding the bacteriocin helveticin J. *J. Bacteriol.* 172: 6339-6347.

Jorgensen, M. 1988. Probiotic – a survey. An alternative to antibiotics in the feed of fur-bearing animals. *Scientifur*, Vol. 12. No. 4: 247-249.

Kandler, O. 1983. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 49: 209-224.

Kandler, O. and Weiss, N. 1992. Regular nonsporing Gram-positive rods. P. 1208-1260. En P. H. A. Sneath, M. S. Mair, M. E. Sharpe y J. G. Holt (Editor). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 10th edition, vol. 2. The Williams and Wilkins Co; Baltimore.

Klaenhammer, T. R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* 70: 337.

Lewenstein, A; Frigerio, G. and Moroni, M. 1979. Biological properties of SF 68, a new approach for the treatment of diarrheal diseases. *Current Therapeutic Research*. Vol. 26. No. 6. Section 2.

Lewus, C. B. and Montville, T. J. 1992. Further characterization of bacteriocin plantaricin BN, bavaricin MN and pediocin A. *Food Biotechnol.* 6: 153-174.

Lindgren, S; Pettersson, K; Jonsson, A; Lingvall, P. and Kaspersson, A. 1985. *Swedish J. Agric. Res.* 15:9.

Lindgren, S; Lingvall, P; Kaspersson, A; Kartzow, A. and de Rydberg, Elizabeth. 1983. *Swedish J. Agric. Res.* 13:91.

Luis, Lissette; Esperance, M; Ojeda, F; Cáceres, O. Y Santana, H. 1992. Fermentación de ensilajes tropicales con la utilización de bacterias ácido lácticas aisladas en Cuba. *Pastos y Forrajes* 15 # 1: 63-69.

Luis, Lissette; Esperance, M. y Ramírez, Marisol. 1991. Utilización de aditivos en la conservación de forrajes en forma de ensilaje. I. Aditivos biológicos. *Pastos y Forrajes* 14 # 3: 185-198.

Luis, Lissette y Ramírez, Marisol. 1991. Obtención de bacterias ácido lácticas de ensilajes de pastos tropicales con fines inoculativos. *Pastos y Forrajes* 14: 59-68.

Lyons, P. 1997. Opinión de los hombres de negocios. *Avicultura Profesional*. Vol. 15. No. 7.

Manfredi, E. and Miller, R. 1987. Patente de los Estados Unidos. N^o 4980164.

Marin, M; Bantar, C; Monterisi, A; Smayevsy, J; Suárez de Basnec, M. C. y Bianchini, H. 1993. Aislamiento e identificación de *Lactobacillus spp.* vancomicina-resistentes en materiales clínicos. Infect. & Microbiol. Clin. Vol. 5. No. 4: 28-31.

Mc Donald, L. C; Fleming, H. P. and Hassan, H. M. 1990. Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. Appl. Environm. Microbiol. 56: 2120-2124.

McGraw, Linda. 1999. Lactic acid from alfalfa. Agricultural Research. Vol. 47. No. 5: 20.

Mc Kay, L. L. 1989. Update on dairy starter cultures: Genetics and Biotechnology of Dairy Streptococci. Biotechnology. Am. Soc. Microbiol: 5-21.

Moling, G. and Ahrne, S. 1993. Patente sueca N^o WO 93/01823.

Mortvedt, C. I. and Nes, I. F. 1990. Plasmid-associated bacteriocin produced by a *Lactobacillus sake* strain. J. Gen. Microbiol. 136: 1601-1607.

Mukai, T. and Arihara, K. 1994. Presence of intestinal lectin-binding glucoproteins on the cell surface of *Lactobacillus acidophilus*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 58: 1851-1854.

Muriana, P. M. and Klaenhammer, T. R. 1987. Conjugal tranfer of plasmid-encoded determinants for bacteriocin production and immunity in *Lactobacillus acidophilus* 88. Appl. Environm. Microbiol. 53: 553-560.

Muriana, P. M. and Klaenhammer, T. R. 1991. Purification and partial characterization of lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088. Appl. Environm. Microbiol. 57: 114-121.

Nes, I. F. 1984. Plasmid profiles of ten strains of *Lactobacillus plantarum*. FEMS Microbiol. Lett. 21: 359-361.

- Olesupo, N. A; Olukoya, D. K. and Odunfa, S. A. 1995. Studies on bacterocinogenic **Lactobacillus** isolates from selected Nigerian fermented foods. J. Basic. Microbiol. 35: 319-324.
- Pedersen, K. and Tannock, G. 1989. Colonization of the porcine gastrointestinal tract by Lactobacilli. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 55. No. 2: 279-283.
- Peng, A. C. 1975. Effect of fermentation, processing and storage on lipid composition of sauerkraut. J. Sci. Food Agric. 26: 1325.
- Perdigon, G; Nader de Marcias, M. E; Alvarez, S; Oliver, G. and Pesce de Ruiz Holgado, A. A. 1990. Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with **Lactobacillus casei** and **Lactobacillus acidophilus**. J. Dairy Res. 57: 255-264.
- Polonelli, L. and Morace, G. 1986. Reevaluation of the killer phenomenon. J. Clin. Microbiol. 24: 866-869.
- Ray, B. and Daeschel, M. A. 1994. Bacteriocins of starter culture bacteria, p. 133-165. In V. M. Dillon and R. G. Board (ed.). Natural antimicrobial systems and food preservation. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Saavedra, J. M. 1995. Microbes to fight microbes: a not so novel approach to controlling diarrheal disease. J. Ped. Gastroenterol. Nut. 21: 125-129
- Salminen, S; Isolauri, E. and Salminen, E. 1996. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. Antonie van Leeuwenhoek 70: 347-358.
- Sanders, M. E. 1994. Lactic acid bacteria as promoters of human health. In: Goldberg I (Ed). Functional Food, Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals. London: Chapman and Hall: 294-322.

Sarem-Damerdj, L. O; Sarem, F; Marchal, L. and Nicolas, J. P. 1995. In vitro colonization ability of human colon mucosa by exogenous Lactobacillus strains. FEMS Microbiol. Lett. 131: 133-137.

Saxelin, M. 1997. Lactobacillus GG: A human probiotic strain with thorough clinical documentation. Food Rev. Int. 13(2): 293-313.

Schillinger, U; Kaya, M. and Lucke, F. K. 1991. Behaviour of Listeria monocytogenes in meat and its control by bacteriocin-producing strain of Lactobacillus sake. J. Appl. Bacteriol. 70: 473-478.

Silva, M; Jacobus, N. V; Deneke, C. and Gorbach, S. L. 1987. Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain. Antimicrob. Agents and Chemotherapy 31: 1231-1233.

Sobrino, O. J; Rodríguez, J. M; Moreira, W. L; Cintas, L. M; Fernández, M. F; Sanz, B. and Hernández, P. E. 1992. Sakacin M, a bacteriocin-like substance from Lactobacillus sake 148. Int. J. Food Microbiol. 16: 215-225.

Stiles, M. E. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhook. 70: 331-345.

Tannock, G. W. 1988. Mini-Review: Molecular Genetics: a new tool for investigating the microbial ecology of the gastrointestinal tract. Microb. Ecol. 15: 239.

Tichaczek, P. S; Nissen-Meyer, J; Nes, I. F; Vogel, R. F. and Hammes, W. P. 1992. Characterization of the bacteriocins curvacin A from Lactobacillus curvatus LTH 1174 and sakacin P from Lactobacillus saki LTH 673. Syst. Appl. Microbiol. 15: 460-468.

Toba, T; Yoshioka, E. and Itoh, T. 1991. Lacticin, a bacteriocin produced by Lactobacillus delbrueckii sp. lactis. Lett. Appl. Microbiol. 12: 43-45.

Tournut, J; Redon, P; Bezille, P and Vasst, R. 1976. Les entérites neonatales du veau. Dismicrobisme intestinal. Rev. Med. 127. Pp: 135-185.

Underdahl, N. R. 1982. Effect of *Streptococcus faecium* C-68 in control of *Escherichia coli*-induced diarrhea in gnotobiotic pigs. Am. J. Vet. Res. Vol. 43. No. 12: 2227-2232.

Underdahl, N. R. 1983. *Streptococcus faecium* for control of Coli-bacillosis in pigs. Pig News and Information. Vol. 4. No. 4: 435-437.

Vanbelle, M; Teller, E. and Focant, M. 1989. Probiotics in animal nutrition: a review. Publication No. 55 de l' Unité de Biochimie de la Nutrition. 1348. Louvain-la- Neuve, Belgique.

Vaughan, E. E; Daly, C. and Fitzgerald, G. F. 1992. Identification and characterization of helveticin V-1829, a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 1829. J. Appl. Bacteriol. 73: 299-308.

Venema, G; Huis, J. H. J. and Hugenholtz, J. 1996. Lactic Acid Bacteria: Genetics, metabolism and applications. Antonie van Leeuwenhoek. Volume 70. Nos. 2-4: 299-316.

West, C. A. and Warner, P. J. 1988. Plantacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NCDO 1193. FEMS Microbiol. Lett. 49: 163-165.

Winkowski, K; Crandall, A.D. and Montville, T. J. 1993. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus bavaricus* MN in beef systems at refrigeration temperatures. Appl. Environm. Microbiol. 59: 2552-2557.

Wolf, B. W; Garleb, K. A; Ataya, D. G. and Casas, I. A. 1995. Safety and tolerance of *Lactobacillus reuteri* in healthy adult male subjects. Microbial. Ecology in Health and Disease. Vol. 8: 41-50.

