

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN JABALÍES

Barrios, V¹., Carvajal, A., Miranda, R., Estrada, O., Argüello H., García ,M., Naharro, G. Rubio, P.

¹Universidad de León (ULE). Facultad de Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal. Campus de Vegazana, S/N CP 24071. vladimirbarrios2009@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

El uso de probióticos eficaces tiene cada día mayor interés debido a los crecientes problemas que plantea el empleo de antibióticos en la producción de animales de renta. Hemos constatado que las bacterias lácticas de la microbiota intestinal del cerdo doméstico, producido en condiciones convencionales, presenta altos niveles de resistencia a los antibióticos. Cabe pensar que la valoración de la microbiota de jabalíes no expuestos a contaminación farmacológica por causas humanas, puede permitirnos obtener bacterias del ácido láctico (BAL) que consigan emplearse como potenciales probióticos en la producción porcina.

El objetivo del presente trabajo fue aislar, identificar y evaluar bacterias productoras del ácido láctico del tracto gastrointestinal y de las heces de jabalíes, con potencialidad de ser utilizadas como probióticos. Se presentan algunos resultados iniciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se muestrearon tres jabalíes hembras adultas (>70 kg de peso) y dos crías (8-10 kg) provenientes de la comarca de Sanabria en Zamora (Castilla y León) y tres ejemplares (30-70 kg) procedentes de la zona de Tornavaca en Cáceres (Extremadura). En todos los casos se tomaron muestras de contenido y mucosa del estómago (cardias, fundus, píloro), intestino delgado (duodeno anterior y posterior, yeyuno anterior y posterior e íleon anterior, medio y posterior) e intestino grueso (ciego, colon ascendente, transversal y descendente y recto).

Las muestras se conservaron a 4°C en tubos estériles con 25 ml de medio MRSal que se añadió ácido láctico hasta pH 5,5, metronidazol (250 µg/ml) y vancomicina (20µg/ml).

Se sembraron tres réplicas de cada muestra a diluciones 10⁻¹-10⁻¹² en agar MRS y se incubaron en anaerobiosis a 37,5°C durante 48 horas. Se escogieron las colonias con morfología típica de bacterias del ácido láctico y se procedió a su identificación preliminar con la tinción de Gram y prueba bioquímica de la catalasa.

Las colonias seleccionadas se probaron, en primer lugar, por su capacidad para disminuir el pH, eligiéndose aquellas que tuvieron la posibilidad de disminuirlo a menos de 4,5. Se comprobó también su resistencia al pH extremo (1-10) y a distintas concentraciones de sales biliares (0,5 a 1,5 %) eligiéndose en ambos casos aquellas con un 50% o más de supervivencia.

Posteriormente se evaluó la actividad antimicrobiana frente a distintos serotipos de *Salmonella* (*S. Anatum*, *S. Typhimurium*, *S. Rissen*, *S. Derby* y *S. Enteritidis*), así como frente a dos cepas de *E. coli* (CECT 43 y una cepa de campo β hemolítica), *Staphylococcus aureus*, *Listeria* (*L. monocytogenes*, *L. innocua* y *L. ivanovii*), *Clostridium* (*C. perfringens* y *C. difficile*), *Brachyspira* (*B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli*), y *Campylobacter jejuni* preseleccionándose aquellas cepas con mayor actividad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total, se recogieron 192 muestras de mucosa, contenido intestinal y heces de las que se aislaron 400 colonias. Los crecimientos bacterianos óptimos en mucosa se observaron entre las diluciones 10⁻² y 10⁻⁵ y en heces entre 10⁻⁵ y 10⁻⁸, siendo muy estables las diferentes concentraciones de bacterias adheridas a mucosa en todo el tracto gastrointestinal, aunque mayoritarias en íleon y ciego (Figura 1).

Un total de 120 cepas superaron las pruebas de resistencia y 90 de ellas toleraron las concentraciones de sales biliares probadas.

La actividad antimicrobiana fue heterogénea, pero muchas de las cepas preseleccionadas mostraron una actividad inhibidora destacable frente a los diferentes serotipos de

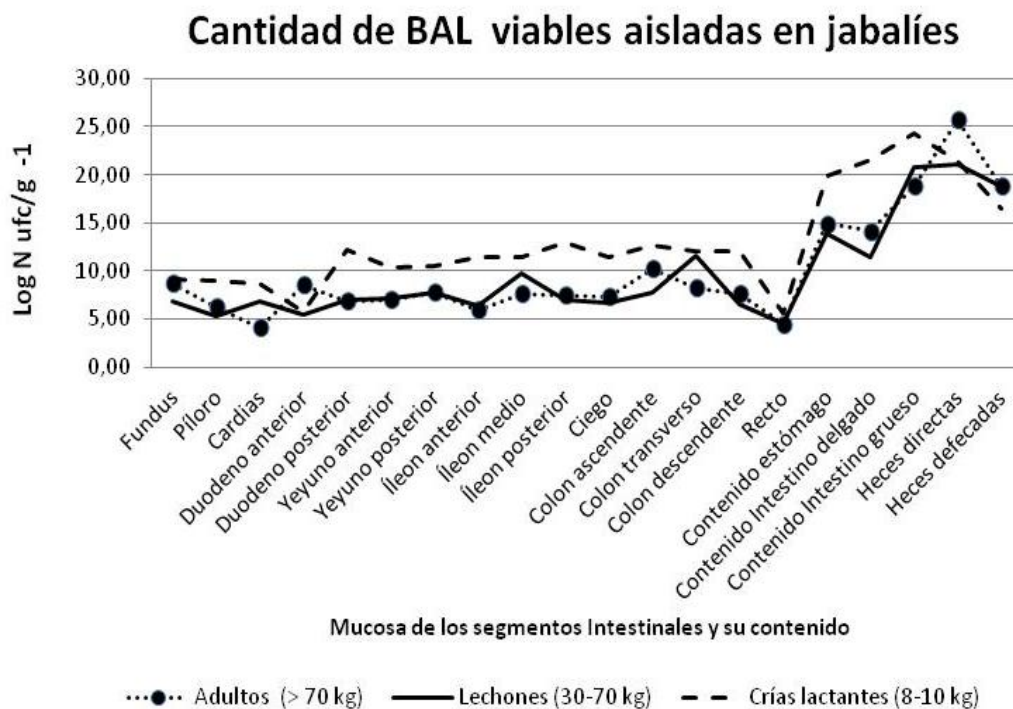
Salmonella probados así como a *Brachispyra sp.*, *Clostridium perfringens* y *Campylobacter jejuni*. De este modo se eligieron 60 cepas que pasaron a una segunda etapa evaluación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., Whitman, W.B., 2009 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. D Bergey. 2: 1-1450
 Rondon A. J. 2009. ICA. Habana • Barrios, G. V., Carvajal, A., Rubio, P., 2012. Cría y Salud porcina. N0 46: 33-43 • Luo, Y., Ma, B. C., Zou, L. K., Cheng, J.G., Cai, Y. H., Kang, J.P., Li, B., Gao, X. H., Xue-Hua, Wang, P., Xiao, J. J., 2012. J. A. Microb. Res. 6.29:5871-5881 • Schillinger, U., Lücke, F. K., 1989. Appl. Environ. Microb. 1989, 55(8):1901.

Agradecimientos: Agencia Española de Cooperación Internacional MAEC – AECID

Figura 1. Concentración de bacterias del ácido láctico viables aisladas de la mucosa intestinal, contenido, y heces de jabalíes salvajes.



ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC BACTERIA IN WILD BOAR

ABSTRACT: We isolated strains of lactic acid bacteria of the intestinal mucosa and feces of wild boar at different ages, group 1: two young (8-10 kg) and three adult females (70 kg), group 2: three adults (30 - 70 kg). Samples were taken from the stomach to the rectum intestinal contents and mucosa, resulting in 196 measurements. After samples were processed, 400 colonies were selected. Two preliminary trials are conducted, Gram stain and catalase biochemical test. Selected strains decreased pH, resisted gastric juice, bile salts and showed antimicrobial activity against multiresistant pathogens. We selected 60 strains that became another stage of selection.

Keywords: *Lactobacillus*, BAL, Mucous, Boars, Isolation