

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

FACULTAD DE CIENCIAS



## "INHIBICION DE BACTERIAS AISLADAS DE PESCADO Y CAMARON POR BACTERIAS LACTICAS PROCEDENTES DE LECHE Y QUESO FRESCO".

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

PEDRO JAVIER GUERRERO MEDINA

GUADALAJARA, JALISCO, 1986

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA SA-  
NITARIA DE LA FACULTAD DE CIEN--  
CIAS QUIMICAS DE LA UNIVERSIDAD  
DE GUADALAJARA.

**INHIBICION DE BACTERIAS AISLADAS DE PESCADO Y DE CAMARON POR -  
BACTERIAS LACTICAS PROCEDENTES DE LECHE Y QUESOS FRESCOS.**

<b>1.- Generalidades.</b>	<b>1</b>
<b>2.- Introducción.</b>	<b>5</b>
<b>3.- Material y métodos.</b>	<b>8</b>
<b>4.- Resultados.</b>	<b>23</b>
<b>5.- Discusión de resultados.</b>	<b>39</b>
<b>6.- Conclusiones.</b>	<b>43</b>
<b>7.- Resumen.</b>	<b>44</b>
<b>8.- Bibliografía.</b>	<b>45</b>

## GENERALIDADES

En la actualidad las bacterias lácticas se identifican como cocos y bacilos grampositivos, no esporulados, inmóviles, -- fermentadores de carbohidratos con producción de ácido láctico, tolerantes a los ácidos (se refiere a la capacidad para desarrollar a pH relativamente bajo), catalasa negativas y con hábitat no aeróbico. (4,7,31).

Estas cualidades con excepción de la grampositividad, admiten en la práctica una cierta elasticidad o interpretación especial, cuando no verdaderas excepciones. Por ejemplo, se han descrito lactobacilos típicos con esporas cuya resistencia fue bien estudiada; estos gérmenes se consideran como intermedios entre los géneros Bacillus y Lactobacillus. La morfología de las bacterias lácticas, como ocurre con otros microorganismos, con frecuencia exhibe características notablemente distintas cuando se observa a partir de un alimento respecto a la que ofrecen en medio de cultivo de laboratorio. Existen reportes de bacterias lácticas típicas claramente móviles, que fueron aisladas de carne, procesos de fermentación y de algunos animales. El carácter de catalasa negativo presenta excepciones en algunos casos de los géneros Pedococcus y Lactobacillus. Finalmente, las condiciones de tensión de oxígeno bajo las cuales desarrollan estos gérmenes están lejos de encontrarse claramente delimitadas. Por la forma de desarrollar en las carnes empacadas al vacío es claro que el factor decisivo para tal proliferación no es la acidez, ni la baja tensión de oxígeno, sino una alta tensión de bióxido de carbono, lo que a su vez explica la sucesión de flora mixta, estreptococos y lactobacilos que se observa en diversos alimentos como la carne en anaerobiosis, la col agria y los quesos. Así el carácter microaerofílico de las bacterias lácticas es variable dependiendo en buena medida del tipo de sustrato sobre el cual desarrolla, y que llega a ser en ocasiones un medio aeróbico ordina--

rio. (4,7).

Entre las bacterias lácticas se encuentran especies psicrófilicas, mesófilicas, termófilicas, termodúricas, acidúricas y aún halotolerantes. Estas características determinan un comportamiento especial cuando se encuentran en los alimentos, - siendo importantes para los procesos de maduración o fermentación en los que son utilizados o en las alteraciones que generan en los alimentos bajo ciertas condiciones de conservación - como se comenta más adelante. (7).

Dentro del grupo se designan homofermentativos a aquellos que producen fundamentalmente un 90% de ácido láctico durante el proceso de fermentación y heterofermentativos cuando generan ácido láctico en un 50% y cantidades apreciables de otras sustancias como alcoholes, aldehidos y ácidos orgánicos. (7).

Los estreptococos son generalmente homofermentativos, los leuconostoc son heterofermentativos, y dentro de los lactobacilos se encuentran ambos tipos. El comportamiento homofermentativo es el resultado de una acción sobre la glucosa, fundamentalmente mediante el ciclo de Embden-Meyerhof. Entre los leuconostoc y lactobacilos heterofermentativos no se sigue este curso al faltar la aldolasa difosfato fructuosa 1,6. La glucosa se fermenta en parte siguiendo el sistema hexosa monosfato y en parte por la vía de las pentosas. (4.7).

Los miembros de la familia Lactobacillaceae generalmente no producen catalasa, aunque en algunos se ha reportado una actividad enzimática similar a esta enzima o a la peroxidasa. Al desarrollar algunas especies generan como coproducto de su metabolismo agua oxigenada. Aparentemente llegan a alcanzarse -- niveles autoinhibitorios de este peróxido como puede inferirse de la lenta producción de acidez, observada en algunos estreptococos lácticos que se ve incrementada por la adición de catalasa al medio. Como se indicó, ciertas cepas llegan a produ---

cir catalasa, fenómeno que se manifiesta mejor cuando desarrollan en medios con bajo contenido de carbohidratos y pH ácido. (4,7).

El grupo de las bacterias lácticas comparte entre sus miembros una característica significativa: son exigentes en sus demandas nutricionales pues requieren carbohidratos para satisfacer sus demandas energéticas, aminoácidos como fuente de nitrógeno y una variedad de factores de crecimiento. La demanda de ciertos micronutrientes permite diferenciar algunas especies. Por ejemplo, Lactobacillus buchneri y L. brevis son tiamina dependientes; pero en tanto que el primero requiere además riboflavina para desarrollar, el segundo no. Su distribución en la naturaleza no obstante a estas exigencias se ha mencionado como la más amplia entre todos los grupos de bacterias; florecen bien en sustratos de naturaleza animal o vegetal, vivos o no, lo mismo con pH neutro que con alta acidez, y cuando el hombre ha recurrido a altas temperaturas y a la adición de sal, alcoholes, ácidos o azúcar para preservar alimentos, han aparecido cepas que se adaptan bien a estas condiciones. (4,7).

Entre los componentes de los alimentos pueden identificarse algunos que estimulen el crecimiento de las bacterias lácticas, como son los ácidos nucleicos del páncreas, la adenina y la adenosina del jugo de jitomate y diversas sustancias del licor residual que se obtienen como coproducto durante la fabricación del almidón: fenilalanina, un nucleótido y compuestos más simples, probablemente bases púricas o pirimídicas. La importancia de estos conocimientos tiene aplicación para promover el desarrollo de las bacterias lácticas en la preparación de inóculos metabólicos eficientes en la industria de alimentos madurados. Se sabe sin embargo, que ciertos alimentos pueden contener sustancias de efecto inhibitorio contra las bacterias lácticas utilizadas en su maduración. Tal es el caso de algu-

nos compuestos fenólicos en las aceitunas y de algunos nucleótidos en el jugo de jitomate. (4.7).

## INTRODUCCION

Disponiendo el país de un litoral que comprende una zona-exclusiva económica de 2.9 millones de kilómetros cuadrados - - (32), los volúmenes de captura para el consumo y la exportación de productos alimenticios del mar alcanza niveles de gran significado para la economía. Tratándose de un producto altamente perecedero y expuesto a una variedad de fuentes de contaminación, tanto químicas, como biológicas, la industrialización y la comercialización de los peces y los mariscos tiene una onda-repercusión en la salud pública.

A lo largo de este siglo, diversos investigadores se han dedicado al estudio de la conservación de los alimentos. Entre los métodos utilizados se ha propuesto de un modo muy singular la incorporación de bacterias lácticas con el propósito de aumentar su vida comercial (7). Las bacterias lácticas poseen características ecológicas y metabólicas de especial interés en la economía y la tecnología y aún desde cierto ángulo en el ámbito de la salud pública (7). La capacidad antagonista de las bacterias lácticas es un fenómeno ampliamente estudiado (1). -- Las bacterias afectadas incluyen el grupo de los patógenos, lo mismo que los deterioradores. Entre las primeras están; Staphylococcus aureus (1,2,5,8,9,10,13,27), Salmonella (1,8,10), Escherichia coli (1,18,27), Shigella (8), Vibrio parahaemolyticus (1), Clostridium (1). Y entre los segundos, los psicrotrofos - (Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Moraxella) (1,15,19,26,27). Se ha recomendado su inoculación a la carne con el fin de prolongar su vida de anaquel (20,21). Y se ha sugerido, por otra parte, su empleo en el tratamiento de cuadros diarreicos - con la idea de desplazar o antagonizar a los patógenos del contenido intestinal de las víctimas (25), y en trastornos funcionales del mismo (14).

Para este último propósito se ha sugerido el consumo dia-



rio de bacterias lácticas, específicamente de Lactobacillus acidophilus (26). Su efecto benéfico se basa en el desarrollo de su resistencia a antibióticos usados en la terapia de las infecciones entéricas (14) y al establecimiento de una actividad antibacteriana en el tracto intestinal mediante la producción de ácidos orgánicos, el mantenimiento bajo del potencial óxido-reducción y la desconjugación de ácidos biliares (11,26). Existen además referencias sobre su capacidad para degradar nitrosaminas (26), y mitiga los efectos de la intolerancia a la leche, al producir B-galactosidasa que degrada a la lactosa (26). Para mantener cultivos viables de este microorganismo se recomienda el empleo de leche desecada con bajo contenido de sólidos -- (6).

Los mecanismos de la acción antagónica de las bacterias lácticas, son diversos, e incluyen la producción de antibióticos (nisina, diplococina, acidofilina, lactocidina, etc). (1,22 26,29), la acidificación del medio (2,28), la producción de ácidos volátiles (9,10), de agua oxigenada (5,15) y la competencia por el sustrato (9,13). Este último, quizá de valor limitado cuando la relación se establece sobre un alimento rico en nutrientes (7).

Se ha observado que durante la fabricación de alimentos a base de mezclas de bacterias lácticas, suelen generarse fenómenos de comensalismo y simbiosis. Esto puede aumentar o disminuir su efecto sobre un sustrato determinado (1,16). Tales relaciones a su vez favorecen o disminuyen su capacidad antagónica.

Por otro lado, es común encontrar bacterias enteropatógenas en las heces de los animales y en los desechos de los ratos. Estos gérmenes algunas veces alcanzan el agua de los ríos y eventualmente los estuarios de donde los peces son capturados. Los peces y los mariscos adquieren los microorganismos mientras se encuentran en aguas contaminadas o subsecuentemente

durante su almacenamiento y manejo para su proceso (3). Este tipo de alimento pueden verse involucrados en padecimientos como las intoxicaciones por Staphylococcus aureus y Clostridium botulinum. Del lado de las infecciones como la salmonelosis, shigelosis, gastroenteritis por Vibrio parahaemolyticus, Clostridium perfringens y el cólera entre otras (3). En Estados Unidos, durante los años 1970-1978, los alimentos marinos constituyeron el 11.3% dentro de la variedad de alimentos implicados en brotes de intoxicaciones alimentarias (3).

En el renglón de la economía se llegan a producir grandes pérdidas por el deterioro de los productos del mar, cuando se abusa de la temperatura. Los microorganismos primariamente asociados pertenecen al grupo de los psicrotrofos (Achromobacter, Pseudomonas, Flavobacterium (30).

Debido a la gran capacidad antagonista que poseen las bacterias lácticas, resultan una buena perspectiva para ser utilizadas en la preservación del pescado y el camarón crudos. Por esta razón estamos interesados en poner de manifiesto el potencial antagónico de las bacterias lácticas en contra de las bacterias aisladas de pescado y camarón alterados.

## MATERIAL

Asa de platino calibrada  
Asa de nicromo  
Algodón  
Balanza granataria con sensibilidad 0.1 g  
Balanza analítica con sensibilidad 0.0001 g  
Baño maría con termostato a  $45 \pm 1^\circ$   
Cajas petri de 15 X 150 mm estériles  
Contador de colonias Quebec  
Embudo  
Frasco botella de 200 ml  
Gradilla metálica  
Incubadora a  $35 \pm 1^\circ$   
Incubadora a  $20 \pm 1^\circ$   
Matraz Erlenmeyer de 250 ml  
Pipetas bacteriológicas estériles de 1 ml.  
Pipetas bacteriológicas estériles de 10 ml  
Pipetas Pasteur estériles  
Pinzas estériles  
Penicilindros estériles  
Papel indicador  
Probetas graduadas de 100 ml  
Potenciómetro  
Refrigerador a  $4 \pm 1^\circ$   
Tubos de 13 X 100 mm con tapón de rosca  
Tubos de 16 X 150 mm con tapón de rosca  
Tapas de porcelana  
Vaso de precipitado de 50 ml

### MEDIOS

#### Agar soya tripticasa

Triptosa . . . . .	10.4	g
Trypticasa o Triptona . . . . .	8.5	g
Extracto de levadura . . . . .	3.0	g
Cloruro de sodio . . . . .	5.0	g
Fitona o soytona . . . . .	1.5	g
Glucosa . . . . .	1.8	g
Fosfato dipotásico . . . . .	1.25	g
Agar . . . . .	15.0	g
Agua destilada . . . . .	1000	ml

Disolver los ingredientes en el agua mediante ebullición y agitación continua. Distribuir en tubos; esterilizar a 121° durante 15 min.

#### Agua Peptonada (Diluyente)

Peptona . . . . .	1.0	g
Agua destilada . . . . .	1000	ml

Disolver y ajustar el ph a 7.2. Distribuir en tubos o frascos según se requiera y esterilizar a 121° durante 20 min.

#### Agar nutritivo

Extracto de carne . . . . .	3.0	g
Peptona . . . . .	5.0	g
Agar . . . . .	15.0	g
Agua destilada . . . . .	1000	ml

Disolver los ingredientes en el agua mediante ebullición y agitación continua. Distribuir en tubos o frascos según se requiera y esterilizar a 121° durante 15 min.

## Caldo APT

Extracto de levadura . . . . .	7.5	g
Triptona . . . . .	12.5	g
Dextrosa . . . . .	10.0	g
Citrato de sodio . . . . .	5.0	g
Clorhidrato de tiamina . . . . .	0.0001	g
Cloruro de sodio . . . . .	5.0	g
Fosfato dipotásico . . . . .	5.0	g
Cloruro de magnesio . . . . .	0.14	g
Sulfato de magnesio . . . . .	0.8	g
Sulfato ferroso . . . . .	0.2	g
Polisorbato 80 . . . . .	0.2	g
Agar . . . . .	15.0	g
Agua destilada . . . . .	1000	ml

Disolver los ingredientes en el agua. Ajustar el pH a 6.7.  
Distribuir en tubos o frascos según se requiera y esterilizar a 121° durante 15 min.

## Medio de Micro-assay modificado

Extracto de levadura . . . . .	20.0	g
Peptona . . . . .	5.0	g
Dextrosa . . . . .	10.0	g
Fosfato monopotásico . . . . .	2.0	g
Tween 80 . . . . .	0.1	g
Agar . . . . .	10.0	g
Agua destilada . . . . .	1000	ml

Disolver los ingredientes en el agua. Ajustar el pH a 6.7.  
Distribuir en tubos y esterilizar a 121° durante 15 min.

**Agar pescado**

Pescado molido . . . . .	400.0	g
Glucosa . . . . .	3.0	g
Agar bacteriológico . . . . .	15.0	g
Agua destilada . . . . .	1000	ml

Preparar el extracto adicionando el pescado molido al -- agua, calentar a ebullición durante 10 min, filtrar a través de algodón y dejar enfriar. Ajustar el pH a 7.2. Adicionar el agar y la glucosa, disolver mediante ebullición y agitación continua. Distribuir en tubos o frascos según se requiera y esterilizar a 121° durante 15 min.

## METODOLOGIA

- 1.- Ensayo de la técnica del botón para poner de manifiesto el antagonismo microbiano.
- 2.- Influencia de la composición del medio de cultivo en el efecto antagónico.
- 3.- Ensayo del efecto antagónico en medio líquido.
- 4.- Demostración de la inhibición de la cepa receptora por los productos del metabolismo de las bacterias lácticas.
- 5.- Influencia del calentamiento y la neutralización del pH de un cultivo de Leuconostoc en la inhibición de Pseudomonas, Acinetobacter y Micrococcus.

1.- Ensayo de la técnica del botón para poner de manifiesto el antagonismo microbiano. (Esquema 1)

- 1.1- Del cepario del Laboratorio de Microbiología Sanitaria utilizar 25 cepas de bacterias lácticas (15 Streptococcus, 9 Lactobacillus y 1 Leuconostoc) y 38 de bacterias aisladas de pescado y camarón descompuestos (10 Pseudomonas, 10 Micrococcus, 9 Moraxella, 6 Acinetobacter, 2 Flavobacterium y 1 Planococcus). Estas cepas fueron identificadas hasta género según el Manual Bergey's (33) y diagramas diseñados por Vanderzant (34). Las primeras funcionarán como antagonistas y las segundas como cepas receptoras.
- 1.2- Preparar placas de agar APT, inoculado con un cultivo láctico de 48 hr. en proporción de 0.1 ml en 10 ml de medio.
- 1.3- Depositar sobre la superficie seca del medio inóculos de la cepa receptora previamente estandarizada con asa calibrada.
- 1.4- Como control, inocular en placas por separado al microorganismo de prueba sobre el mismo medio de cultivo sin inocular con la bacteria láctica.
- 1.5- Incubar a 20° durante 48 hr. y registrar el efecto antagónico de la siguiente manera: 100% un desarrollo similar al observado en la placa control y gradualmente 75, 50, 25% y -- hasta negativo conforme disminuye el desarrollo de la cepa receptora.

Este estudio presenta dos fases:

- a).- Estudio de la influencia de la concentración de las bacterias lácticas y bacterias receptoras, utilizando para tal efecto 6 cepas de lácticos y 5 de bacterias receptoras.



Probar diferentes concentraciones de bacterias lácticas - ( $3 \times 10^5$ ,  $3 \times 10^4$ ,  $3 \times 10^3$ ,  $3 \times 10^2$ ) contra cada una de las diluciones de las cepas receptoras ( $5 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^3$  y  $5 \times 10^2$ ). Utilizar para el efecto 6 cepas lácticas (3 Lactobacillus y 3 Streptococcus) contra 5 receptoras (2 Pseudomonas, 2 Acinetobacter y 1 Micrococcus).

b).- Ensayo del total de cepas receptoras con las concentraciones seleccionadas del estudio anterior.

Seleccionar la concentración más adecuada del láctico y -- probarla contra el total de cepas receptoras a dos concentraciones 50,000 (inóculo alto) y 500 células (inóculo bajo).

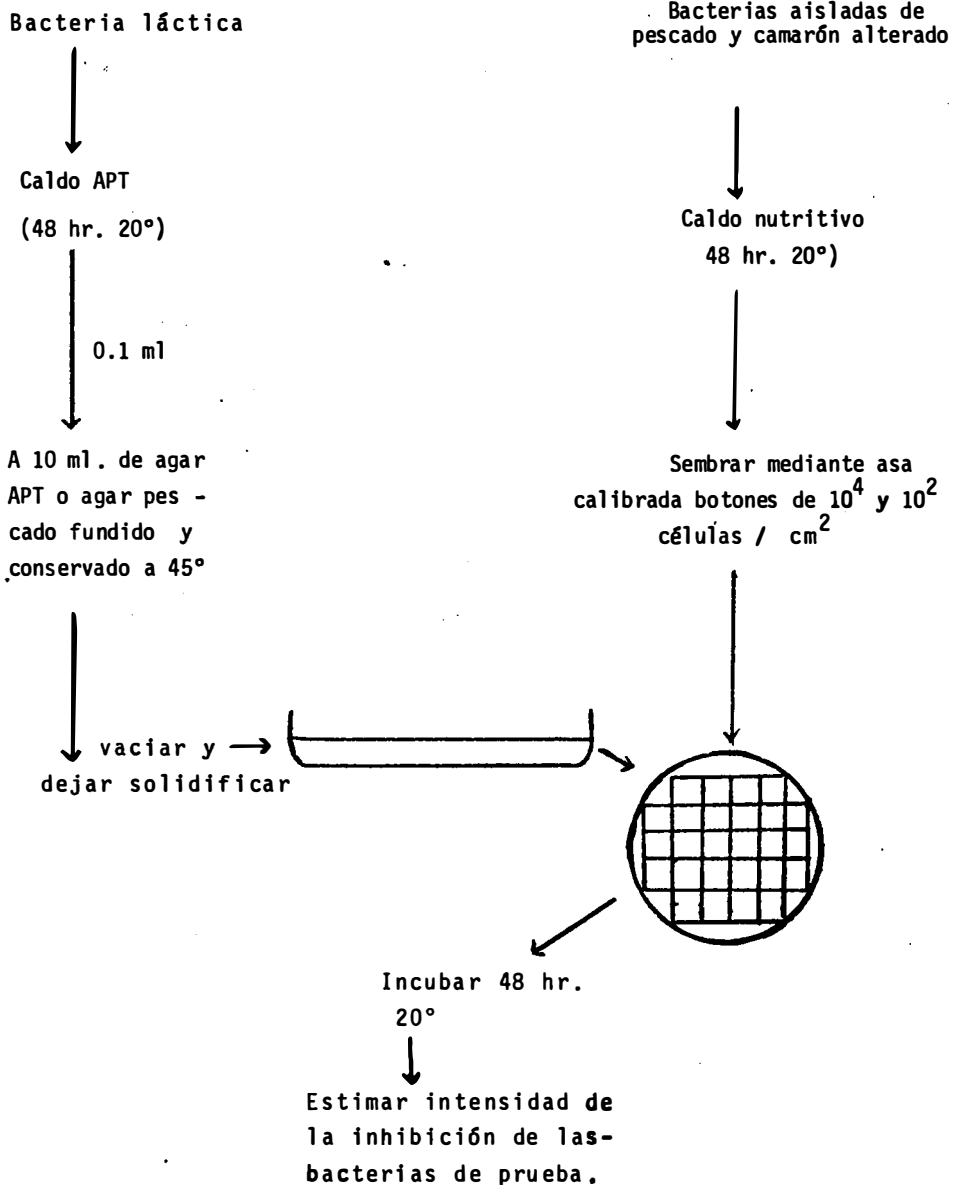
2.- Influencia de la composición del medio de cultivo en - el efecto antagónico. (Esquema 1)

2.1- Con la técnica del botón se probaron los siguientes medios:

- Agar APT
- Agar pescado sin glucosa
- Agar pescado con 0.3% de glucosa

## Esquema 1

TECNICA PARA PONER DE MANIFIESTO EL ANTAGONISMO  
MICROBIANO

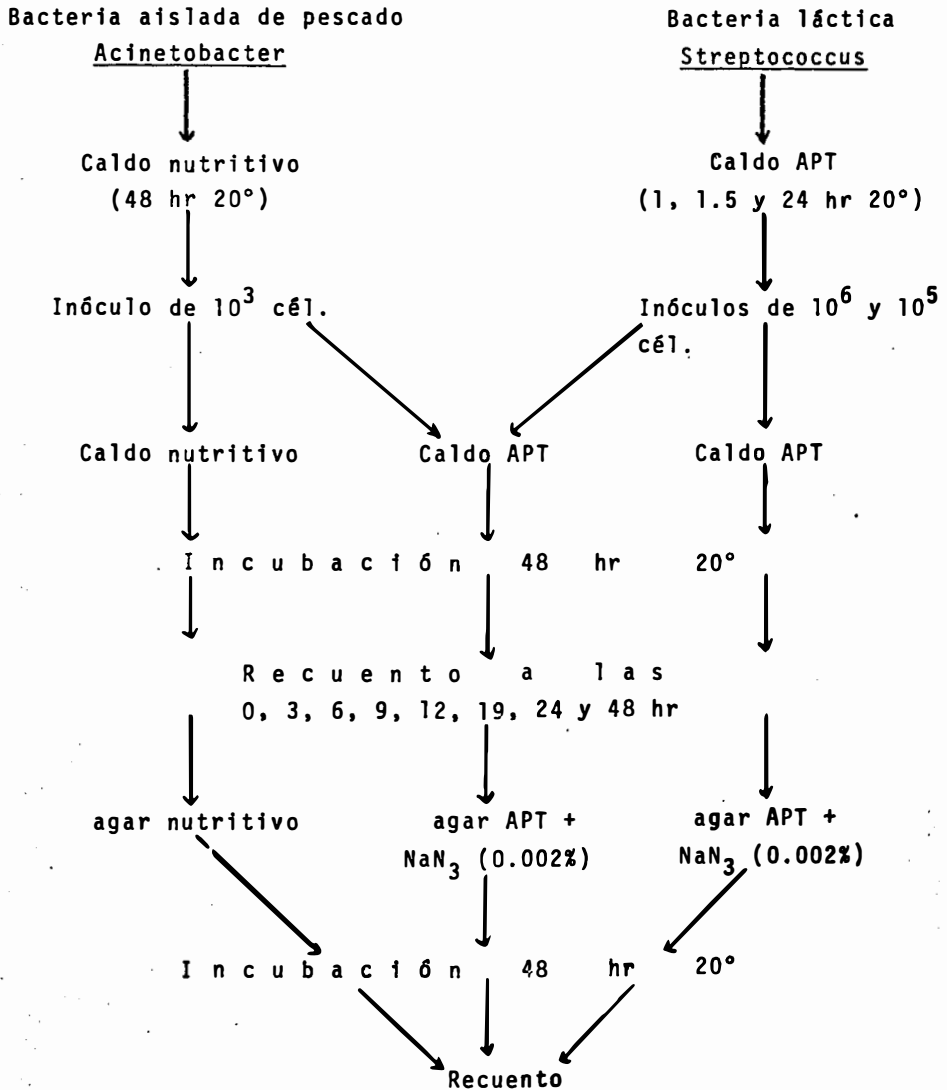


3.- Ensayo del efecto antagónico en medio líquido  
(Esquema 2)

- 3.1- Utilizar una cepa de Streptococcus y una de Acinetobacter - en caldo APT a las concentraciones finales que se indican - más abajo en la tabla.
- 3.2- Se estudió la bacteria láctica inoculada al caldo de prueba a partir de cultivos en fase Lag y fase estacionaria. Para la primera se usaron cultivos de 1 y 1.5 hr en caldo APT y para la segunda cultivos de 24 hr en el mismo medio. La cepa receptora provenía de caldo nutritivo incubado 48 hr a -20°.
- 3.3- La mezcla se incubó a 20° y se efectuó el recuento por separado de cada género en los medios de cultivo y al cabo de los períodos de incubación que se indican en la misma tabla para trazar una curva de desarrollo.
- 3.4- Simultáneamente se siguió la curva tanto de la bacteria láctica como de la bacteria receptora en cultivo puro, la primera en caldo APT y la segunda en caldo nutritivo.
- 3.5- Los recuentos de la bacteria láctica en la mezcla se efectuaron en agar APT + azida de sodio al 0.002%, con el propósito de impedir el desarrollo de la cepa receptora. El recuento de la cepa Acinetobacter en agar nutritivo puede realizarse sin interferencias, ya que el láctico no crece en este medio.

	Bacteria Láctica	Bacteria Receptora	Período de Incubación	Medio de cul- tivo para -- el recuento
Estudio A	$10^6$ células de un cultivo de 1.5 y 24 hs.	$10^3$ células	0, 6, 19, 24 y 48 - horas.	Láctico: - agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)
Estudio B	$10^6$ y $10^5$ células de un cultivo de 1 y 24 hs.	$10^3$ células	0, 3, 6, 9, 12 y - 24 horas.	Receptor: - agar nutri- tivo.

TECNICA PARA PONER DE MANIFIESTO EL EFECTO  
ANTAGONICO EN MEDIO LIQUIDO



4.- Demostración de la inhibición de la cepa receptora por los productos del metabolismo de las bacterias lácticas.

(Esquema 3)

Este estudio se efectuó con 3 cepas lácticas y 3 receptoras en la siguiente forma:

- 4.1- Preparar placas de agar pescado sin glucosa inoculadas con el germen por probar, utilizando una asa calibrada para contener  $5 \times 10^5$  células, a partir de un cultivo de 48 hr. La omisión de la glucosa impide por completo el desarrollo de la bacteria láctica, con lo cual todo efecto inhibitorio observable estará determinado por los productos del metabolismo de este microorganismo.
- 4.2- Colocar penicilindros sobre la superficie seca del medio y llenarlos con el cultivo de la bacteria láctica incubada en caldo APT.
- 4.3- Probar en cada caso y simultáneamente cultivos de bacterias lácticas de 24, 48 y 72 hr de incubación.
- 4.4- Incubar a  $20^\circ$  las placas cubiertas con tapas de porcelana durante 48 hr y registrar el diámetro de la zona de inhibición.

EFFECTO INHIBITORIO DEL CULTIVO LACTICO  
CON DIFERENTE EDAD DE CULTIVO

Bacterias aisladas de pes-  
cado ó camarón alterados.

↓  
Caldo nutritivo  
(48 hr 20°)

↓  
Inóculo en 10 ml de agar -  
pescado sin glucosa.

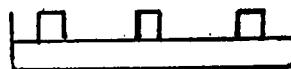
↓  
Homogeneizar, vaciar a pla-  
cas y dejar solidificar.

↓  
Colocar penicilindros sobre  
la superficie seca del medio

Bacteria láctica

↓  
Caldo APT. Incubar  
a 20° durante:

- a).- 24
- b).- 48
- c).- 72 hr.



↓  
Incubar 48 hr 20°

↓  
Lectura de halos  
de inhibición

- 5.- Influencia del calentamiento y neutralización del pH de un cultivo de Leuconostoc en la inhibición de Micrococcus, Acinetobacter y Pseudomonas. (Esquema 4)
- 5.1- Preparar placas de agar pescado sin glucosa como se indicó en 4.1.
- 5.2- Calentar un cultivo de 48 hr de Leuconostoc en baño María - a 60° por 30 min.
- 5.3- Neutralizar a pH 7.0 otra porción del cultivo láctico.
- 5.4- Calentar y neutralizar una tercera porción del cultivo, como se señala en 5.2 y 5.3.
- 5.5- Colocar penicilindros sobre la superficie del medio y llenarlos con las diferentes porciones del cultivo láctico.
- 5.6- En todos los casos incubar a 20° las placas cubiertas con - tapas de porcelana durante 48 hr y registrar el diámetro de la zona de inhibición.



## EFECTO INHIBITORIO DEL CULTIVO LACTICO CON DIFERENTE TRATAMIENTO

Pseudomonas Acinetobacter y Micrococcus

Caldo nutritivo  
(48 hr 20°)

Inóculo en 10 ml de -  
agar pescado sin --  
glucosa

Homogeneizar, vaciar a  
placas y dejar solidi-  
ficar.

Colocar penecilindros -  
sobre la superficie se-  
ca del medio

Leuconostoc

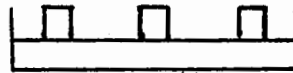
Caldo APT. Incubar  
20° 48 hr.

Calentar  
60°/ 30  
min.

Neutralización  
a pH 7

Calenta-  
miento y  
neutrali-  
zación.

Llenado



Incubar 48 hr 20°

Lectura de halos  
de inhibición.

## R E S U L T A D O S

Tabla 1

ANTAGONISMO DE 25 CEPAS DE BACTERIAS LACTICAS CONTRA 38 DE -  
BACTERIAS PROVENIENTES DE PESCADO Y CAMARON ALTERADO A 20° . .

Cepas de lácticos probadas.	Cepas de receptor	% de inhibición inóculo.	
		alto $5 \times 10^4$	bajo $5 \times 10^2$
22	38	100	100
3	7	0	100

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE BACTERIAS LÁCTICAS Y DE BACTERIAS RECEPTORAS EN EL EFECTO ANTAGONICO.

% de inhibición

Cepa receptora	Inóculo /cm <sup>2</sup>	<u>Lactobacillus</u>							<u>Streptococcus</u>								
		A y B		C		A y B			C								
		3X10 <sup>5</sup>	3X10 <sup>4</sup>	3X10 <sup>3</sup>	3X10 <sup>2</sup>	3X10 <sup>5</sup>	3X10 <sup>4</sup>	3X10 <sup>3</sup>	3X10 <sup>2</sup>	3X10 <sup>5</sup>	3X10 <sup>4</sup>	3X10 <sup>3</sup>	3X10 <sup>2</sup>				
<u>Pseudo-</u>	5X10 <sup>5</sup>	100	0	0	0	100	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0
<u>monas -</u>	5X10 <sup>4</sup>	100	0	0	0	100	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0
2 cepas	5X10 <sup>3</sup>	100	100	0	0	100	0	0	0	100	100	100	0	100	100	0	0
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	0	0	100	0	0	0	100	100	100	0	100	100	0	0
<u>Acine-</u>	5X10 <sup>5</sup>	100	0	0	0	100	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0
	5X10 <sup>4</sup>	100	0	0	0	100	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0
<u>ter 2</u>	5X10 <sup>3</sup>	100	100	0	0	100	0	0	0	100	100	100	0	100	100	0	0
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	0	0	100	0	0	0	100	100	100	100	100	100	0	0
<u>Micro-</u>	5X10 <sup>5</sup>	100	100	0	0	100	50	0	0	100	100	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>4</sup>	100	100	0	0	100	50	25	0	100	100	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>3</sup>	100	100	0	0	100	100	0	25	100	100	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	0	0	100	100	0	0	100	100	100	100	100	100	100	100

Tabla 3

ANTAGONISMO DE BACTERIAS LACTICAS\* CONTRA BACTERIAS PROVENIENTES DE CAMARON ALTERADO SOBRE AGAR APT.

Cepa receptora	Inóculo/cm <sup>2</sup>	% de inhibición		
		<u>Streptococcus</u>	<u>Lactobacillus</u>	<u>Leucostoc.</u>
<u>Pseudomonas</u> (5 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100
<u>Moraxella</u> (4 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100
<u>Acinetobacter.</u> (2 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100

\* 150,000 células/cm<sup>2</sup>

Tabla 4

INFLUENCIA DE LA GLUCOSA EN LA INHIBICION DE BACTERIAS PROVENIENTES DE CAMARON ALTERADO POR 3 GENEROS DE BACTERIAS LACTICAS\*

Cepa receptora	Inóculo/cm <sup>2</sup>	% de inhibición					
		<u>Lactobacillus.</u>		<u>Streptococcus.</u>		<u>Leucostoc</u>	
		% de glucosa en		en el medio			
		0	0.3	0	0.3	0	0.3
<u>Pseudomonas</u> (5 cepas)	5X10 <sup>4</sup> 5X10 <sup>2</sup>	0	100	0	100	0	100
		0	100	0	100	0	100
<u>Moraxella</u> (4 cepas)	5X10 <sup>4</sup> 5X10 <sup>2</sup>	0	100	0	100	0	100
		0	100	0	100	0	100
<u>Acinetobacter</u> (2 cepas)	5X10 <sup>4</sup> 5X10 <sup>2</sup>	0	100	0	100	0	100
		0	100	0	100	0	100

\* 150,000 células/cm<sup>2</sup>

Tabla 5

INFLUENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA INHIBICION POR 3 GENEROS DE BACTERIAS LACTICAS\* SOBRE 13 CEPAS DE BACTERIAS PROVENIENTES DE - PESCADO ALTERADO

Cepa receptora	Inóculo/cm <sup>2</sup>	% de inhibición					
		<u>Streptococcus</u>		<u>Lactobacillus</u>		<u>Leucostoc</u>	
		APT	AP	APT	AP**	APT	AP
<u>Pseudomonas</u> (3 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	SD	100	100	100	SD
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100	100
<u>Moraxella</u> (4 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100	100
<u>Micrococcus</u> (3 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100	100
<u>Acinetobacter</u> (1 cepa)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100	100
<u>Planococcus</u> (1 cepa)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100	100
<u>Flavobacterium</u> (1 cepa)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100	100

\* 150,000 células/cm<sup>2</sup>

\*\* agar pescado con 0.3% de glucosa

Tabla 6

ANTAGONISMO DE 25 CEPAS DE BACTERIAS LACTICAS\* CONTRA 27 DE BACTERIAS PROVENIENTES DE PESCADO ALTERADO SOBRE AGAR PESCADO CON 0.3% DE GLUCOSA

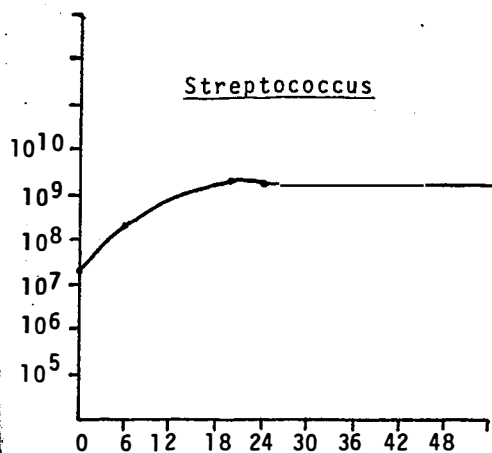
Cepa receptora	Inóculo 10/cm <sup>2</sup>	Streptococcus		Lactobacillus		Leuconostoc
		14 ce pas	1 ce pa	7 ce pas	2 ce pas	1 cepa
		% de cepas		% inhibidas		
<u>Micrococcus</u> (10 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100
<u>Pseudomonas</u> (5 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	40	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100
<u>Moraxella</u> (5 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	80	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100
<u>Acinetobacter</u> (4 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	25	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100
<u>Flavobacterium</u> (2 cepas)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100
<u>Planococcus</u> (1 cepa)	5X10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100
	5X10 <sup>2</sup>	100	100	100	100	100

\* 150,000 células/cm<sup>2</sup>

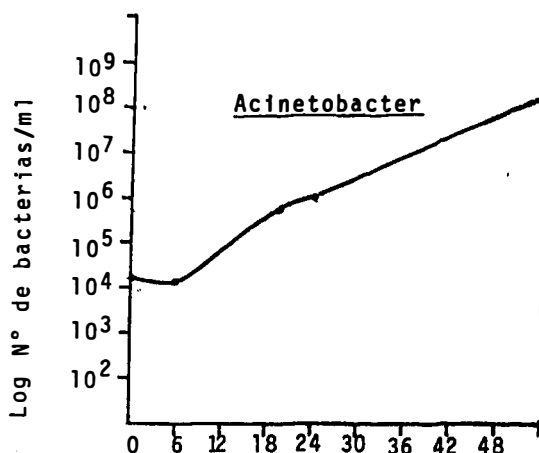
V a r i a n t e	I	Medio	T i e m p o s   d e   i n c u b a c i ó n				
			T <sub>0</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>19</sub>	T <sub>24</sub>	T <sub>48</sub>
<u>Streptococcus</u>	1X10 <sup>6</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	2.9X10 <sup>7</sup>	2.3X10 <sup>8</sup>	2.1X10 <sup>9</sup>	1.3X10 <sup>9</sup>	1.4X10 <sup>9</sup>
<u>Acinetobacter</u>	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	1.7X10 <sup>4</sup>	1.0X10 <sup>4</sup>	6.5X10 <sup>5</sup>	9.5X10 <sup>5</sup>	2.3X10 <sup>8</sup>
<u>Streptococcus</u> de 1.5 hr +	1X10 <sup>6</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	7.4X10 <sup>6</sup>	4.3X10 <sup>8</sup>	2.4X10 <sup>9</sup>	2.3X10 <sup>9</sup>	1.2X10 <sup>9</sup>
<u>Acinetobacter</u> de 48 hr	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	1.3X10 <sup>4</sup>	2.7X10 <sup>3</sup>	-100	-100	-100



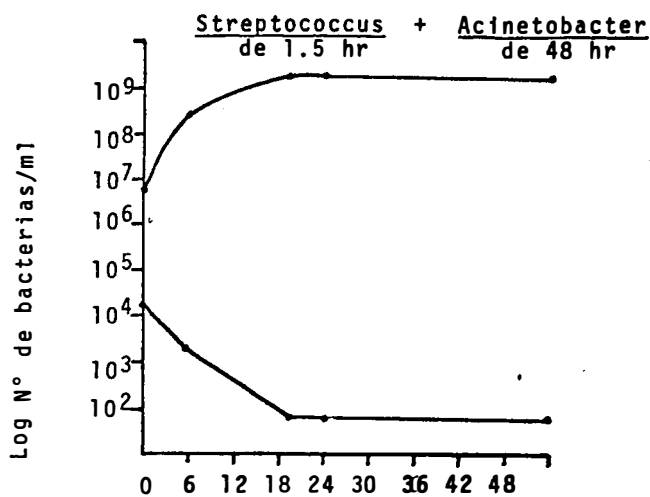
ANTAGONISMO EN MEDIO LIQUIDO DE UNA CEPA DE  
Streptococcus CONTRA Acinetobacter



tiempo en horas



tiempo en horas

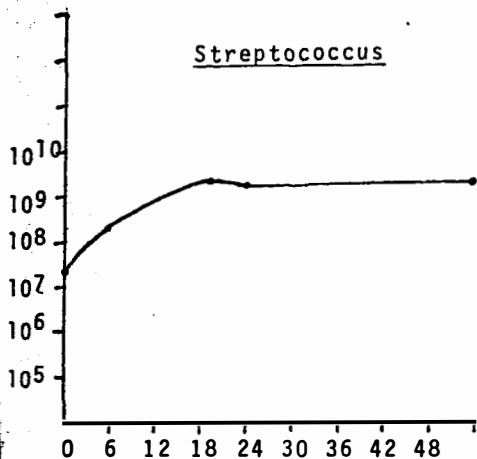


Tiempo en horas

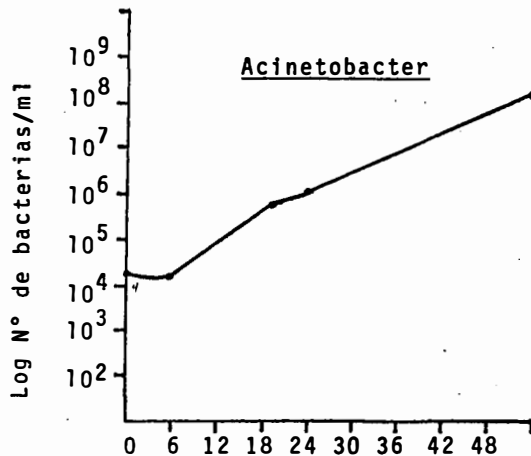
ANTAGONISMO EN MEDIO LIQUIDO DE UNA CEPA DE Streptococcus CONTRA Acinetobacter

V a r i a n t e	Inóculo	Medio	T i e m p o s   d e   i n c u b a c i ó n				
			T <sub>0</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>19</sub>	T <sub>24</sub>	T <sub>48</sub>
<u>Streptococcus</u>	1X10 <sup>6</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	2.9X10 <sup>7</sup>	2.3X10 <sup>8</sup>	2.1X10 <sup>9</sup>	1.3X10 <sup>9</sup>	1.4X10 <sup>9</sup>
<u>Acinetobacter</u>	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	1.7X10 <sup>4</sup>	1.0X10 <sup>4</sup>	6.5X10 <sup>5</sup>	9.5X10 <sup>5</sup>	2.3X10 <sup>8</sup>
<u>Streptococcus</u> de 24 hr.	1X10 <sup>6</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	1.2X10 <sup>7</sup>	1.4X10 <sup>8</sup>	2.1X10 <sup>9</sup>	1.9X10 <sup>9</sup>	1.8X10 <sup>9</sup>
+							
<u>Acinetobacter</u> de 48 hr.	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	1.3X10 <sup>4</sup>	1.9X10 <sup>3</sup>	-100	-100	-100

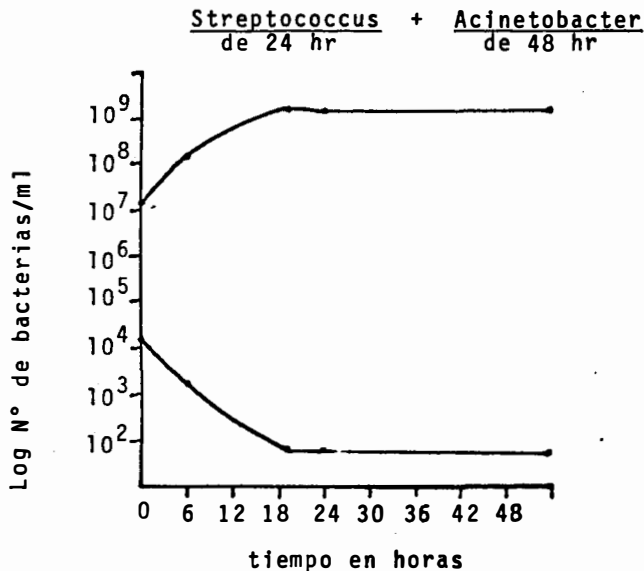
ANTAGONISMO EN MEDIO LIQUIDO DE UNA CEPA DE Streptococcus CONTRA Acinetobacter



tiempo en hr.



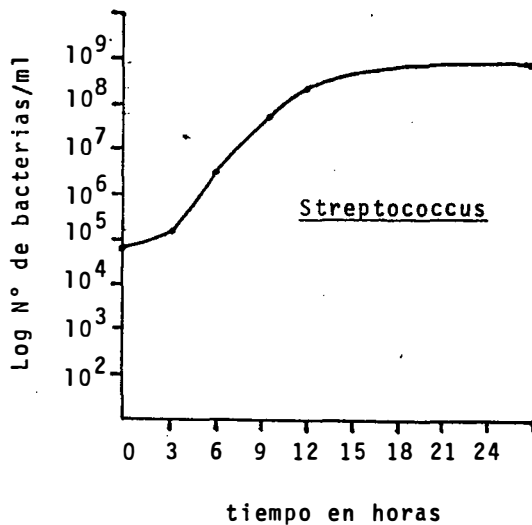
tiempo en hr.



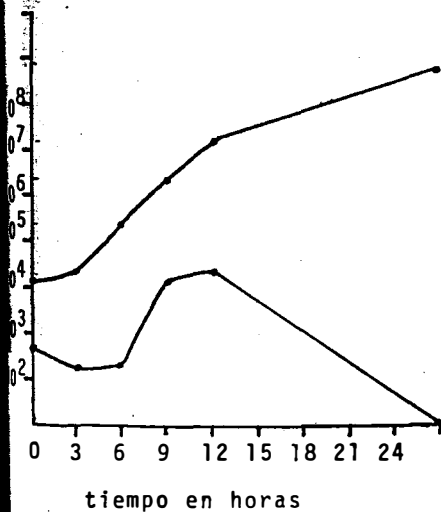
V a r i a n t e	3	T i e m p o s    d e    i n c u b a c i ó n						
		Inóculo	Medio	T <sub>0</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>12</sub>
<u>Streptococcus</u>	1X10 <sup>5</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	8.0X10 <sup>4</sup>	1.6X10 <sup>5</sup>	4.3X10 <sup>6</sup>	6.7X10 <sup>7</sup>	3.4X10 <sup>8</sup>	9.1X10 <sup>8</sup>
<u>Streptococcus</u> de 1 hr	1X10 <sup>5</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	1.2X10 <sup>4</sup>	3.7X10 <sup>4</sup>	3.7X10 <sup>5</sup>	3.2X10 <sup>6</sup>	1.5X10 <sup>7</sup>	9.3X10 <sup>8</sup>
+								
<u>Acinetobacter</u> de 48 hr	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	6.5X10 <sup>2</sup>	3.7X10 <sup>2</sup>	4.1X10 <sup>2</sup>	1.9X10 <sup>4</sup>	3.5X10 <sup>4</sup>	0
<u>Streptococcus</u> de 1 hr	1X10 <sup>6</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	7.8X10 <sup>5</sup>	2.7X10 <sup>6</sup>	6.6X10 <sup>7</sup>	2.2X10 <sup>8</sup>	3.4X10 <sup>8</sup>	3.1X10 <sup>8</sup>
+								
<u>Acinetobacter</u> de 48 hr	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	1.7X10 <sup>3</sup>	1.2X10 <sup>3</sup>	1.1X10 <sup>3</sup>	1.6X10 <sup>3</sup>	10	0

## Gráfica 3

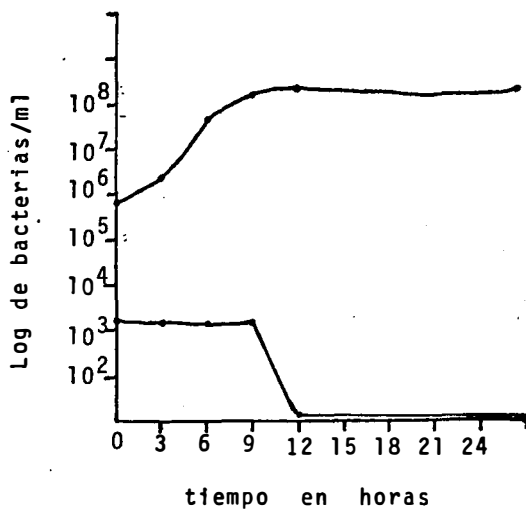
ANTAGONISMO EN MEDIO LIQUIDO DE UNA CEPA DE  
Streptococcus CONTRA Acinetobacter



Streptococcus + Acinetobacter  
 de 1 hr de 48 hr



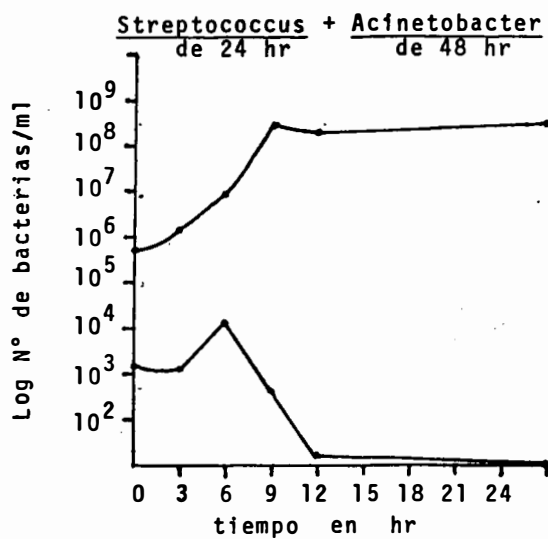
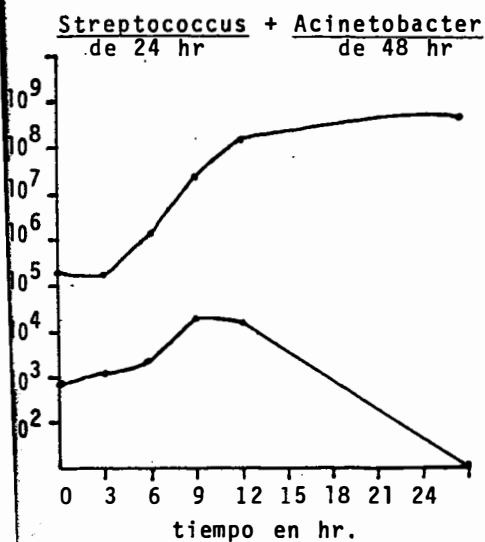
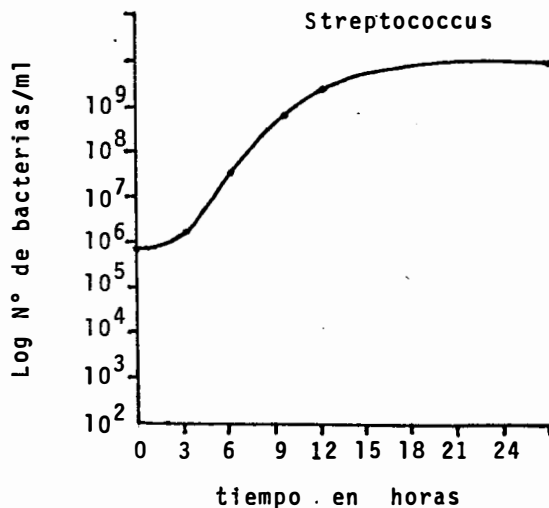
Streptococcus + Acinetobacter  
 de 1 hr de 48 hr



ANTAGONISMO EN MEDIO LIQUIDO DE UNA CEPA DE Streptococcus CONTRA Acinetobacter

V a r i a n t e	4	T i e m p o   d e   i n c u b a c i ó n						
		Inóculo	Medio	T <sub>0</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>9</sub>	T <sub>12</sub>
<u>Streptococcus</u>	1X10 <sup>6</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	8.0X10 <sup>5</sup>	6.8X10 <sup>5</sup>	1.4X10 <sup>7</sup>	2.9X10 <sup>8</sup>	3.5X10 <sup>8</sup>	5.2X10 <sup>8</sup>
<u>Streptococcus</u> de 24 hr	1X10 <sup>5</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	2.3X10 <sup>5</sup>	1.7X10 <sup>5</sup>	1.3X10 <sup>6</sup>	2.7X10 <sup>7</sup>	1.3X10 <sup>8</sup>	6.4X10 <sup>8</sup>
+								
<u>Acinetobacter</u> de 48 hr	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	9.7X10 <sup>2</sup>	1.1X10 <sup>3</sup>	3.8X10 <sup>3</sup>	2.1X10 <sup>4</sup>	1.5X10 <sup>4</sup>	0
<u>Streptococcus</u> de 24 hr	1X10 <sup>6</sup>	agar APT + NaN <sub>3</sub> (0.002%)	8.9X10 <sup>5</sup>	1.1X10 <sup>6</sup>	9.7X10 <sup>6</sup>	4.3X10 <sup>8</sup>	1.9X10 <sup>8</sup>	3.1X10 <sup>8</sup>
+								
<u>Acinetobacter</u> de 48 hr.	1X10 <sup>3</sup>	agar nutritivo	1.1X10 <sup>3</sup>	1.0X10 <sup>3</sup>	1.6X10 <sup>4</sup>	7.2X10 <sup>2</sup>	20	0

ANTAGONISMO EN MEDIO LIQUIDO DE UNA CEPA DE  
Streptococcus CONTRA Acinetobacter



INFLUENCIA DE LA EDAD DEL CULTIVO EN LA INHIBICION POR 3 GENEROS - DE BACTERIAS LACTICAS SOBRE 5 CEPAS PROVENIENTES DE PESCADO ALTERADO.

Cepa Receptora	% de inhibición								
	<u>Streptococcus</u>			<u>Leuconostoc</u>			<u>Lactobacillus</u>		
	Tiempo de incubación								
48	24	48	72	24	48	72	24	48	72
<u>Pseudo-</u> <u>monas</u> - (2 cepas)	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+	+	+
<u>Acineto-</u> <u>bacter</u> (2 cepas)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
<u>Microco-</u> <u>ccus</u> (1 cepa)	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

<u>Clave</u>	<u>Diámetro del halo</u>	<u>% de inhibición</u>
+	1.0 a 1.5 cm.	25
++	1.6 a 2.5 cm.	50
+++	2.6 a 3.5 cm.	75
++++	mayor de 3.5 cm.	100



INHIBICION DE 3 CEPAS DE BACTERIAS AISLADAS DE PESCADO ALTERADO  
 POR UNA CEPA DE Leuconostoc SEGUN EL TRATAMIENTO APLICADO.

Cepa receptora	Intensidad de la inhibición Tratamiento del cultivo			
	Ninguno	60° / 30 min.	Neutra-- lización ph	Calenta-- do y neu- tralizado
<u>Micrococcus</u>	+++	++	-	-
<u>Pseudomonas</u>	++	+	-	-
<u>Acinetobacter</u>	+++	++	-	-

<u>Clave</u>	<u>Diámetro del halo</u>	<u>% de inhibición</u>
+	1.0 a 1.5 cm.	25
++	1.6 a 2.5 cm.	50
+++	2.6 a 3.5 cm.	75
++++	mayor de 3.5 cm.	100

## DISCUSION DE RESULTADOS.

Al estudiar con la técnica del botón el antagonismo bacteriano de las 25 cepas de bacterias lácticas obtenidas a partir de leche cruda y queso fresco no pasteurizado contra las 38 de bacterias recuperadas de pescado y camarón alterados, observamos que 22 cepas de lácticos inhibieron en un 100% las bacterias receptoras, cuando la competencia se estableció entre 150,000 células del láctico contra 50,000 (inóculo alto) y 500 (inóculo bajo) células del receptor. Sólo 3 cepas de lácticos no respondieron a la prueba con 7 cepas receptoras. Las cepas lácticas que no inhibieron fueron 2 Lactobacillus y 1 Streptococcus y las cepas receptoras que desarrollaron fueron 3 Pseudomonas, 3 Acinetobacter y 1 Moraxella. (Tabla 1).

La nitidez de los resultados al utilizar esta técnica nos condujo a su aplicación en la evaluación del efecto antagónico en una lista larga de cepas y de algunos factores que influyen en ella.

El primer estudio consistió en probar 6 cepas de bacterias lácticas (3 Lactobacillus y 3 Streptococcus) a diferentes concentraciones (300,000 30,000 3000 y 300) contra 5 cepas receptoras (2 Pseudomonas, 2 Acinetobacter y 1 Micrococcus) también a diferentes diluciones (500,000 50,000 5000 y 500).

El inóculo más alto de los lácticos (300,000) inhibe sistemáticamente las cepas probadas a todas las concentraciones. Hay un efecto proporcional en la inhibición conforme al número de células receptoras aumenta. Los 30,000 lácticos inhiben a 5000 y 500 células de Pseudomonas y Acinetobacter pero no a las concentraciones de 50,000 y 500,000. Las 2 concentraciones más bajas de lácticos no mostraron efecto contra ninguna concentración de las cepas antes mencionadas. La cepa de Micrococcus muestra una marcada susceptibilidad al efecto antagónico produ-

cido por el Streptococcus siendo inhibida al 100% en todas las concentraciones empleadas.

A partir del estudio anterior se seleccionó la concentración de 150,000 células lácticas para probarse contra dos inóculos de las cepas receptoras de 50,000 (inóculo alto) y 500 células (inóculo bajo). Las 13 cepas provenientes de camarón fueron totalmente inhibidas por las 25 cepas de bacterias lácticas (Tabla 3).

La influencia de la glucosa en el medio sobre el efecto antagónico de las bacterias lácticas se ilustra claramente en la Tabla 4. Con las 3 cepas de lácticos (Streptococcus, Lactobacillus y Leuconostoc) el efecto es nulo sobre los 3 géneros de bacterias receptoras en ausencia del carbohidrato. La inhibición en cambio es total en presencia de 0.3% de glucosa. La demanda de este nutriente es pues, fundamental para el franco desarrollo de la bacteria láctica, condición decisiva para que se presente el fenómeno de antagonismo.

La influencia de la glucosa también se aprecia en la Tabla 5. El agar APT se reconoce como un medio que sostiene muy bien el desarrollo de bacterias lácticas, de ahí que sobre este medio el antagonismo se exprese de manera muy completa y sistemática. El agar pescado, no obstante en su riqueza de nutrientes nitrogenados, no actúa en los mismos términos justo por su pobreza en carbohidratos fermentesibles. La incorporación de glucosa condujo a una inhibición total en todas las cepas receptoras, aún con inóculos elevados, cuando el ensayo se realizó sobre agar pescado adicionado del carbohidrato. No hubo diferencia entre los dos medios de cultivo (agar APT y agar pescado con glucosa).

Extendiendo el estudio a 27 cepas deterioradoras el efecto inhibitorio se mantiene prácticamente con todas las bacterias lácticas en el mismo agar pescado con glucosa (Tabla 6).

Las excepciones (3 Pseudomonas, 3 Acinetobacter y 1 Moraxella)-no restan validez a la generalidad hecha.

La inhibición de un microorganismo asociado físicamente - al desarrollo de otro, puede ponerse de manifiesto como hemos - visto en un medio sólido. Sin embargo el sistema también puede funcionar si ambas cepas desarrollan simultáneamente en un medio líquido. Ambas situaciones ilustrarían habitats o substratos que en la práctica corresponderían a diferentes alimentos.- Aunque mucho más laborioso el ensayo en medio líquido, configuraría una imagen más cercana a la realidad.

La inhibición de una cepa de Acinetobacter por una de - - Streptococcus se desarrolló de una manera extrema en nuestro estudio (Tabla 7). A partir de un inóculo relativamente alto del láctico (más de 7 millones) 13,000 células de Acinetobacter en el mismo medio fueron incapaces de prosperar; más aún, estas células perdieron su viabilidad. La cepa de Acinetobacter del -- cultivo puro se multiplicó libremente en el medio de cultivo y la de Streptococcus siguió un patrón similar al observado en la mezcla.

Inóculos de láctico mayores (cultivos más viejos) no modifican el patrón de comportamiento (Tabla 8 y Gráfica 2). Sólo - al disminuir el inóculo de Streptococcus la cepa de Acinetobacter después de una fase lag de 6 hr exhibe un ligero incremento en la mezcla que alcanza su máximo a las 12 hr, y a partir de - entonces, no solo se detiene el desarrollo, sino que hay un decremento progresivo de la viabilidad (Tablas 9 y 10; Gráficas 3 y 4). Estos resultados muestran claramente el potencial antagónico de la cepa ensayada contra el microorganismo aislado de - pescado alterado.

El papel que juegan los metabolitos de las bacterias lácticas sobre las cepas receptoras puede apreciarse en los resultados que se consignan en las 11 y 12. La cepa de Micrococcus-

mostró una susceptibilidad total a los productos del metabolismo de las 3 cepas de lácticos. Para esta cepa particular no -- hay diferencia en la inhibición según se prueben cultivos de -- 24,48 y 72 hr (Tabla 11). Aunque la cepa de Pseudomonas presentó mayor resistencia al efecto inhibitorio del Lactobacillus, - en general para todas las cepas probadas, no hay diferencia en la magnitud de la inhibición en función de la edad de los cultivos. El hecho de neutralizar el pH del cultivo de la bacteria láctica anula la inhibición de las cepas receptoras (Tabla 12). El calentamiento tiene un efecto mucho más discreto. Parece -- por tanto, que al menos entre las cepas de lácticos ensayadas - el efecto inhibitorio se asocia de manera más prominente a la - acidificación que resulta del medio de cultivo.

## CONCLUSIONES

- 1.- Las bacterias lácticas (Streptococcus, Lactobacillus y Leuconostoc) aisladas de leche y queso fresco exhiben un acentuado efecto antagónico contra las bacterias provenientes de pescado y camarón alterados, tanto mediante el ensayo con la técnica del botón, como en medio líquido.
- 2.- 22 de 25 cepas de bacterias lácticas mostraron franco efecto antagónico contra las 38 cepas receptoras aisladas de pescado y camarón alterados, cuando la relación se estableció con una concentración del láctico mayor que la del receptor.
- 3.- El poder de inhibición de las bacterias lácticas fue más marcado contra Flavobacterium y disminuyó progresivamente contra Moraxella, Micrococcus, Acinetobacter y Pseudomonas.
- 4.- El tratamiento térmico de una bacteria láctica (Leuconostoc) disminuye su efecto antagónico, pero no lo elimina en contra de las cepas receptoras probadas.
- 5.- La neutralización del pH (pH 7) de una bacteria láctica (Leuconostoc) usada en el antagonismo, elimina por completo su -- efecto inhibitorio.
- 6.- El efecto antagónico de las bacteria lácticas no aumenta a medida que el tiempo de incubación se prolonga.
- 7.- La posibilidad de retardar el proceso de descomposición del pescado y camarón crudos encuentra amplio apoyo en los resultados obtenidos.

## RESUMEN.

Valoramos el efecto antagónico de cepas de bacterias lácticas (Lactobacillus, Streptococcus y Leuconostoc) sobre bacterias recuperadas de pescado y camarón descompuestos (Pseudomonas, Acinetobacter, Micrococcus, Moraxella y Flavobacterium). La técnica consistió en determinar la inhibición del desarrollo de la bacteria problema inoculada en botón sobre la superficie de agar APT y agar pescado, inoculados con una concentración conocida del cultivo láctico. De las 25 cepas de lácticos probadas 22 se mostraron muy activas contra la totalidad de las 38 cepas de ensayo. El efecto antagónico se manifiesta con mayor intensidad cuando el número de bacterias receptoras es menor. Las cepas de Pseudomonas resultaron más refractarias que las de los restantes géneros probados. Inóculos de bacterias lácticas con  $10^5$  células viables ya inhibían sistemáticamente por completo el desarrollo de la misma densidad de las bacterias implicadas en la alteración del alimento. La posibilidad de retardar el proceso de descomposición del pescado y camarón crudos encuentra amplio apoyo en los resultados obtenidos.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Babel, F. J. 1976. Antibiosis by lactic culture bacteria. J. Dairy Sci. 60 (5): 815-820.
- 2.- Barber, L. E. and R. H. Deibel. 1972. Effect of ph and -- oxygen tension on staphylococcal growth and enterotoxin -- formation in fermented sausage. Appl. Microb. 24: 891-898, citado en la referencia 8.
- 3.- Bryan, L.F. 1980. Epidemiology of foodborne diseases transmitted by fish, shellfish and crustaceans marine in the -- United States, 1970-1978. J. Food Prot. 43 (11): 859-876.
- 4.- Carr, J. G.; Cutting, C. W. and Whiting, G. C. 1975. Lactic acid bacteria in beverages and food. Acad. press Inc. 1-11, 339-347 y 351-365.
- 5.- Dahiya, R. S. and L. M. Speck. 1968. Hidrogen peroxide formation by lactobacilli and its effect on Staphylococcus aureus. J. Dairy Sci. 51: 1568-1572, citado en la referencia 8.
- 6.- Espina, F. and Packard, V. S. 1979. Survival of Lactobacillus acidophilus in spray-drying process. 42 (2): 149-152.
- 7.- Fernández-Escartin, E. 1981. Microbiología Sanitaria. --- Agua y alimentos. vol. 1. EDUG/Universidad de Guadalajara 415-468 y 37-93.
- 8.- Fernández-Escartin, E.; R. Torres-Vitela y A. Castillo-Ayala. 1984. Antagonismo de cepas de Streptococcus, Lactobacillus y Leuconostoc procedentes de quesos frescos no pasteurizados contra algunas bacterias enteropatógenas. Rev. Lat-amer. Microbiol. 26: 47-51.
- 9.- Gilliland, S. E. and M. L. Speck. 1977. Antagonist action of Lactobacillus acidophilus toward intestinal and foodborne -- pathogenes in associative cultures. J. Food Prot. 40:820-823.



## BIBLIOGRAFIA

- 10.- Gilliland, S. E. and M. L. Speck. 1972. Interaction of food starter cultures and foodborne pathogens: lactic streptococci versus staphylococci and salmonellae. J. Milk Food Technol. 35: 307-310.
- 11.- Gilliland, S.E. and M. L. Speck. 1977. Desconjugation of -- bile acid by intestinal lactobacilli. Appl. Env. Microbiol. 33 (1): 15-18.
- 12.- Hill, L. R.; Kenworthy, R. and P. Porter. 1970. Studies on the effect of dietary lactobacilli on intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning and postweaning -- diarrhea. Res. Vet. Sci. 11: 320-326. citado en referencia 8.
- 13.- Iandolo, J. J.; C. W. Clarc; L. Bluhm and Z. J. Ordal. 1965. Repression of Staphylococcus aureus in associative culture. Appl. Microbiol. 13: 646-649. citado en referencia 8.
- 14.- James, G. V.; R. C. Veomett and R. F. Riley. 1959. Antibacterial activity associated with Lactobacillus acidophilus. J. Bact. 78: 475-484.
- 15.- Martin, D. R. and Gilliland, S. E. 1980. Inhibition of psychrotropic bacteria in refrigerated milk by lactobacilli -- isolated from yoghurt. J. Food Prot. 43 (9): 675-678.
- 16.- Moon, J. N. and G. W. Reinrold. 1976. Comensalism and competition in mixed cultures of Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus. J. Milk Food Technol. 39. (5) : 337-341.
- 17.- Muralidhara, K. S.; G. G. Sheggeby; P. R. Elliker; D. C. -- England and W. E. Bandine. 1977. Effect of freeing lactobacilli on the coliform and Lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets. J. Food Prot. 40: 288 - 295.

## BIBLIOGRAFIA

- 18.- Park, H. S.; E. H. Mart and N. F. Olson. 1973. Fate of enteropathogenic strains of Escherichia coli during the manufacture and ripening of camembert chesse. J. Milk Food Technol. 36: 543-546.
- 19.- Price, R. J. and J. S. Lee. 1970. Inhibition of Pseudomonas species by hydrogen peroxide producing lactobacilli. J. Food Technol. 33: 13-18. citado en la referencia 8.
- 20.- Raccach, M. and R.C. Baker. 1978. Lactic bacteria as an antispoilage and safety factor in cooked, mechanically deboned poultry meat. J. Food Prot. 41: 703-705.
- 21.- Reddy, S. G.; R. L. Henrickson and H. C. Olson. 1970. The influence of lactic cultures on ground beef quality. J. Food Sci. 35: 787-791. citado en la referencia 8.
- 22.- Reddy, G. V. and K. M. Shahani. 1971. Isolation of an antibiotic from Lactobacillus bulgaricus. J. Dairy Sci. 54: 748. citado en la referencia 8.
- 23.- Richter, R. L.; W. S. Brank; C. W. Dill and C. A. Watts. 1979. Ascorbic acid stimulation of diacetyl production in mixed-strain lactic acid cultures. J. Food Prot. 42 (4) : 294-296.
- 24.- Rutzinski, J. L. and E. H. Marth. 1980. Behavior of Enterobacter species and Hafnia species in skim-milk during fermentation by lactic acid bacteria. J. Food Prot. 43 (9) : 720-728.
- 25.- Sandine, W. E.; K. S. Muralidhara; P. R. Elliker and D. C. England. 1972. Lactic acid bacteria in food and health: a review with special reference to enteropathogenic Escherichia coli as well as certain diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli. J. Milk Food Technol. 35: 691-702.

## BIBLIOGRAFIA

- 26.- Sandine, W.E. 1979. Roles of Lactobacillus in the intestinal tract. J. Food Prot. 42 (3): 259-262.
- 27.- Singh, J.; A. Khanna and H. Chander. 1979. Antibacterial activity of yoghurt starter in cow and buffalo milk. J. Food - Prot. 42 (8): 664-665.
- 28.- Speck, M. L. 1972. Control of foodborne pathogenes by starter cultures. J. Dairy Sci. 55: 1019-1022.
- 29.- Speck, M. L. 1981. Use of microbial cultures: dairy products. J. Food Technol. 35: 71-73.
- 30.- Tarr, H. L. A. 1954. Microbiological deterioration of fish - post mortem its detection and control. Rev. Bact. 18: 1-15.
- 31.- Speck, L. M. Editor. 1976. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American public health - association, Inc. 215-223.
- 32.- Gallardo-Cabello, M. y Laguarda-Figueras, A. 1984. Importancia y explotación nacional de los recursos pesqueros. Rev. - Ciencia y desarrollo. 58: 21-26.
- 33.- Bergey's, manual of determinative. 1974. Ed. Buchaman, R. E. and Gibbons, N. E. 8a. ed. Willian and Wilkins, Co.
- 34.- Vanderzant, C. and Nickelson, R. 1969. A microbiological examination of muscle tissue of beef, pork and lamb carcasses. J. Milk Food Technol. 32: 357-361.



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**Facultad de Ciencias**

Expediente .....

Número 684/85 .....

Sr. Pedro Javier Guerrero Medina  
P r e s e n t e . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido -  
aprobado el tema de Tesis "Inhibición de bacterias aisladas  
de pescado y de camarón por bacterias lácticas procedentes -  
de leche y quesos frescos" para obtener la Licenciatura en -  
Biología con Orientación Biomédica.

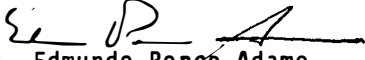
Al mismo tiempo informo a usted que ha sido ---  
aceptado como Director de dicha Tesis el Dr. Oswaldo Palaci  
cios Rivera.



**FACULTAD DE CIENCIAS**

**A T E N T A M E N T E**  
**"PIENSA Y TRABAJA"**  
Guadalajara, Jal., Noviembre 25 de 1985

El Director

  
Ing. Edmundo Ponce Adame.

El Secretario

Arq. Mario Patricio Castillo Paredes.

c.c.p. El Dr. Oswaldo Palacios Rivera, Director de Tesis.-Pte.  
c.c.p. El expediente del alumno.

'mjsd


**BOULEVARD A TLAQUEPAQUE Y CORREGIDORA, S. E.,  
GUADALAJARA, JAL.**

**TELEFONOS 17-58-29 Y 17-09-71**

Ing. Edmundo Ponce Adame.  
Director.  
Facultad de Ciencias.  
Universidad de Guadalajara.

Por la presente, nos permitimos informar de nuestra -  
entera satisfacción por el desarrollo y la terminación del trabajo  
de tesis titulado: "INHIBICION DE BACTERIAS AISLADAS DE PESCADO Y  
CAMARON POR BACTERIAS LACTICAS. PROCEDENTES DE LECHE Y QUESO FRES  
CO", realizado por el pasante de Licenciado en BIOLOGIA; PEDRO -  
JAVIER GUERRERO MEDINA.

Agradeciendo de antemano sus finas atenciones, nos des-  
pedimos de Usted.

  
\_\_\_\_\_  
Médico Osvaldo S. Palacios R.  
Director de Tesis.

  
\_\_\_\_\_  
Q.B.P. Eduardo Fernández E.  
Co-director de Tesis.

Guadalajara, Jal., 25 Febrero de 1986.