

Inhibición *in-vitro* de *Campylobacter coli* por bacterias ácido lácticas de origen porcino

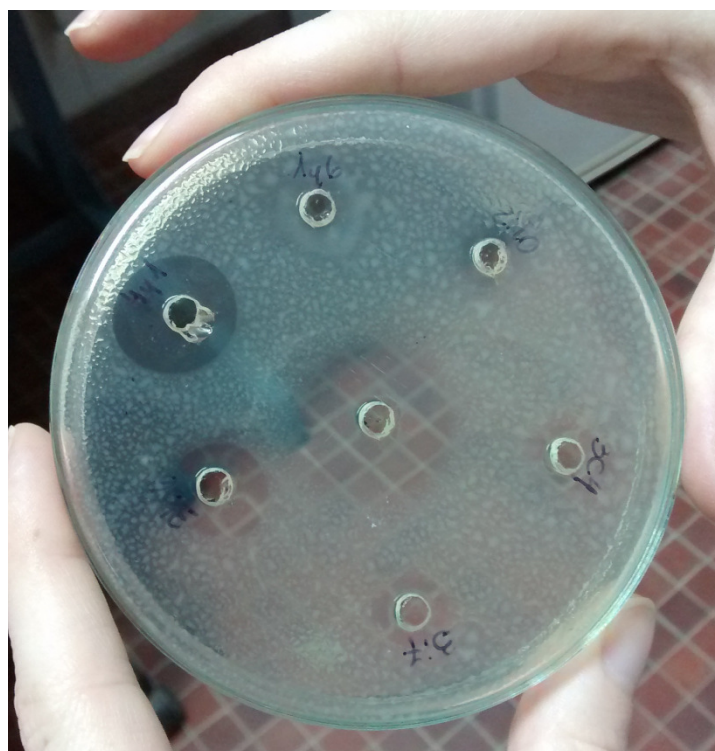
Zimmermann J.A.¹, Berisvil A.P.¹, Romero-Scharpen A.¹, Fusari M.L.², Astesana D.M.¹, Blajman J.E.¹, Rossler E.¹, Zbrun M.V.^{1,2}, Soto L.P.^{1,2}

Laboratorio de Análisis de Alimentos, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet UNL-CONICET)¹. Dpto. de Salud Pública. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL. Kreder 2805, (3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina². zimmermann.jorge@hotmail.com

La gastroenteritis es una de las principales enfermedades infecciosas que afecta a los cerdos jóvenes^{1,2}. Para algunos autores, *Campylobacter coli* sería un agente primario y secundario de la diarrea del cerdo³. Sin embargo, este agente puede ser aislado de animales sanos y enfermos. Los microorganismos probióticos, incluyendo bacterias ácido lácticas (BAL) pueden ayudar a mejorar el equilibrio microbiano intestinal y, por tanto, disminuir la capacidad de *Campylobacter* para colonizar y crecer en el intestino de los cerdos. El objetivo de este trabajo, fue evaluar la actividad anti *Campylobacter coli* del extracto libre de células (ELC) de ocho cepas de BAL de origen porcino con actividad probiótica *in vitro*. La actividad de inhibición se evaluó mediante la prueba de difusión en agar. Ocho cepas de *Lactobacillus* (*L. reuteri* DSPV002C, DSPV004C y DSPV008C; *L. agilis* DSPV005C y DSPV009C; *L. johnsonii* DSPV011C; *L. fermentum* DSPV012C; *L. salivarius* DSPV014C) se cultivaron en caldo De Man, Rogosa y Sharpe (MRS) a 37 ° C durante 24 h. Se centrifugaron los cultivos de BAL y los sobrenadantes se dividieron en ELC neutralizado (ELC_n, con ajuste del sobrenadante libre de células a pH 7,0 con NaOH 3 N) y ELC sin neutralizar (ELC_{sn}). Se utilizaron suspensiones de cuatro *C. coli* aisladas de cerdos con perfiles diferentes de PFGE (electroforesis en gel de campo pulsado). Se incubaron en agar nutritivo durante 48 h en un ambiente micro-aerófilico. La suspensión microbiana con una concentración de 10⁷ UFC/ml de *Campylobacter* fue añadida a 15 ml de agar nutritivo (0,8% de agar) y luego sembrada en placas de Petri. Se perforaron pocillos de 5 mm en el agar, y se añadieron 35 µl de ELC_{sn} y ELC_n de cada cepa de LAB. Ácido láctico diluido a ¼ se utilizó como control positivo de formación de halo. Las placas se incubaron durante 48 h a 37 °C en condiciones de micro-aerófilia. Luego de la incubación, se midió el diámetro de la zona de inhibición alrededor de cada pocillo. En todos los casos se observó el efecto antagónico tanto del ELC_{sn} y ELC_n contra las 4 *C. coli* (**tabla 1**), lo que indica que la actividad probablemente no fue ejercida solamente por el bajo pH. Los principales inhibidores producidos por BAL, son los ácidos láctico y volátiles, peróxido de hidrógeno, y compuestos tipo-antibióticos como las bacteriocinas. Mientras que el ácido láctico es el principal producto catabólico, puede estar acompañado de otras sustancias inhibidoras como las nombradas anteriormente. En este estudio, la inhibición del crecimiento de *Campylobacter* causada por la presencia de ELC_n, estaría mostrando que el efecto se podría deber a otros compuestos diferentes al ácido. *L. salivarius* DSPV014C mostró los mayores halos de inhibición frente a 2 de los cuatro *C. coli* (16 y 20 mm). *L. reuteri* DSPV004C produjo halos de inhibición en los ELC_n, con halos entre 13-14 mm. en 3 de las 4 *C. coli*. En conclusión, *L. reuteri* DSPV002C, DSPV004C y *L. salivarius* DSPV014C mostraron las mejores capacidades de inhibición contra el crecimiento de *C. coli*. En futuros estudios se llevarán a cabo pruebas para determinar la naturaleza de las sustancias inhibidoras como peróxido de hidrógeno y/o bacteriocinas producidas por BAL.

	<i>Campylobacter coli</i>							
	C567		C568		C570		C571	
	ELCn (mm)	ELCsn (mm)	ELCn (mm)	ELCsn (mm)	ELCn (mm)	ELCsn (mm)	ELCn (mm)	ELCsn (mm)
L. reuteri DSPV002C	10	14	16	8	14	10	9	7
L. reuteri DSPV004C	14	9	13	10	13	9	11	9
L. agilis DSPV005C	11,5	11	12	11	10	10	12	10
L. reuteri DSPV008C	10,5	9	14	8	8	9	11	9
L. agilis DSPV009C	8	11,5	12	10	12	10	11	8
L. johnsonii DSPV011C	10	10	11	9	11	9	10	7
L. fermentum DSPV012C	6	8	11	9	11	11	11	9
L. salivarius DSPV014C	16	10,5	20	8	10	11	9	7

Tabla 1. Halos de inhibición de Extractos libres de células neutralizados (ELCn) y extractos libres de células sin neutralizar (ELCsn) expresados en milímetros.



Pocillos con halos de inhibición en placa de Petri.

Bibliografía

1. Alexander, T.J. Piglet diarrhoea: A guide to diagnosis and control. Br. Vet. J. 137: 651-662, 1981.
2. Halgaard, C. Epidemiologic factors in piglet diarrhoea. Nord. Vet. Med. 33: 403-412, 1981.
3. Olubunmi, P.A.: D.J. Taylor. Natural and experimental infection of pigs with *Campylobacter coli*. In: International Pig Veterinary Society Congress. Selected Papers. Mexico, Ed. Pigeon. p. 49, 1982.