



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Programa de Magíster en Ciencias mención Microbiología

**Caracterización de la tolerancia a pH ácido,  
tolerancia a la bilis, susceptibilidad a antibióticos  
y de la colonización en gerbos de Mongolia de las  
cepas de *Lactobacillus* gástricas 25A y 979C**

FLORENCIA ALEJANDRA MARQUEZ URRIZOLA  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2011

Profesor Guía: Apolinaria García Cancino  
Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

El término probiótico describe a un microorganismo vivo que, administrado en cantidades adecuadas, confiere efectos beneficiosos a la salud del huésped.

Las bacterias probióticas han demostrado, tanto *in vitro* e *in vivo*, su funcionalidad y beneficios sobre la salud, principalmente frente a enfermedades gastrointestinales por patógenos como *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* enteropatógenas, *Helicobacter pylori*, entre otros, alterando positivamente el balance de la microbiota normal, promoviendo la integridad y movilidad intestinal, inhibiendo bacterias patógenas y aumentando la resistencia a infecciones. Por esto, hoy en día, se encuentran frecuentemente en el mercado y son ampliamente consumidos. Las bacterias de mayor uso para la producción de alimentos probióticos pertenecen al grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL), principalmente a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y son consideradas microorganismos de grado alimenticio, denominándose GRAS (Generally Recognized As Safe), debiendo cumplir una serie de requisitos tales como: Ser preferentemente de origen humano, tener propiedades no patogénicas, producir sustancias antimicrobianas, resistir al pH ácido del estómago y secreciones biliares, adherirse a mucosas y/o células intestinales, persistir en el tracto gastrointestinal y modular el sistema inmune. En esta tesis se trabajó con 2 cepas de *Lactobacillus* de aislamiento gástrico, seleccionadas previamente por su amplio perfil probiótico, con el fin de determinar algunas propiedades no estudiadas y de completar el perfil probiótico necesario para considerarlas como tal. Mediante ensayos de exposición a pH ácido y de exposición a bilis, utilizando la técnica de la microgota para realizar los recuentos bacterianos, se estudió la capacidad de estas cepas, además de una cepa control (*Lactobacillus rhamnosus* GG), de tolerar y sobrevivir bajo condiciones de estrés, y sobre todo, de condiciones esperables en el tracto gastrointestinal, como pH ácido, altas concentraciones de sales biliares y presencia de enzimas digestivas. Se evaluó también el perfil de susceptibilidad a antibióticos, mediante la técnica de difusión de discos en agar, y la presencia de plásmidos que pudiesen codificar resistencias,

mediante extracción de ADN plasmidial. Finalmente, se trabajó con un modelo animal de gerbos de Mongolia, donde se estudió la habilidad de las cepas 25A y 979C para colonizar el estómago, después de la libre administración de las cepas en el agua disponible para consumo, durante 4 días. La colonización se evaluó a los 7, 14 y 21 días post-administración, utilizando cultivo bacteriológico y PCR. Los resultados obtenidos indican que ambas cepas son capaces de tolerar y de sobrevivir en ambientes con pH 3.0 y con concentraciones de bilis de 1.5 y 2.0%. Se determinaron ciertas resistencias a antibióticos como Vancomicina, Kanamicina y Penicilina; sin embargo, éstas no están codificadas en elementos móviles como plásmidos. En los ensayos de colonización en gerbos de Mongolia, ambas cepas fueron aisladas desde el estómago de los 3 gerbos sacrificados 7 días post-administración y sólo la cepa 979C fue aislada de los estómagos después de 14 días post-administración. Sólo el aislamiento de la cepa 25A fue confirmada con PCR convencional, mientras que la identificación de la cepa 979C fue menos concluyente.

En conclusión, las cepas de *Lactobacillus* en estudio, aisladas desde biopsias gástricas, tienen importantes propiedades probióticas como tolerancia a pH ácido y a bilis, susceptibilidad a antibióticos; no poseen plásmidos de resistencias, y son capaces de colonizar el estómago de gerbos de Mongolia, siendo por lo tanto, candidatas ideales para ser utilizadas en el desarrollo de un probiótico dirigido contra *Helicobacter pylori*.