

# Sobrevivencia de *Brucella abortus* durante la elaboración de queso fresco enriquecido con la cepa de *Lactobacillus paracasei* JLM

Benítez Serrano J.C.<sup>1\*</sup> • Martínez Pérez L.<sup>2</sup> • Fidencio Escalante D.L.<sup>2</sup> • Hernández Castro R.<sup>3</sup>  
Palomares Resendiz G.<sup>4</sup> • Díaz Aparicio E.<sup>4</sup> • Suárez Güemes F.<sup>1</sup> • Arellano Reynoso B.<sup>1</sup>

*Palabras clave:* Probiótico, Inhibición, Brucelosis

*Key words:* Probiotic, Inhibition, Brucellosis

## Introducción

El género *Brucella* agrupa a cocobacilos patógenos Gramnegativos, causante de la brucelosis, la cual es una zoonosis, que afecta tanto a la salud pública como a la salud animal a nivel mundial. Se ha descrito que la mayor incidencia de los casos de brucelosis en humanos está asociada con el consumo de leche y derivados lácteos, contaminados con bacterias pertenecientes a este género, en donde puede sobrevivir por largos periodos de tiempo [1]. Para el control de la brucelosis en el ganado bovino, se emplea la cepa lisa atenuada de *B. abortus* S19 y en algunos países la cepa rugosa

de *B. abortus* RB51; ambas pueden causar infecciones persistentes en humanos.

Por su parte, las bacterias del género *Lactobacillus* son microorganismos Grampositivos que pertenecen al grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL), el cual está ampliamente distribuido en la naturaleza, estando presente en diferentes alimentos, suelo, tracto digestivo, boca y vagina de mamíferos, incluyendo al ser humano [2]. El género *Lactobacillus* es el más abundante dentro de las BAL y algunas de sus especies están consideradas dentro de la categoría de GRAS (*Generally*

1 Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior de Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México, 04510, México.

2 Laboratorio de Microbiología Aplicada, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

3 Departamento de Ecología de Agentes Patógenos, Hospital General "Dr. Manuel Gea González", Tlalpan, Ciudad de México, 14080, México.

4 CENID Salud Animal e Inocuidad, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Carretera Federal México-Toluca Km. 15.5, Cuajimalpa, Ciudad de México, 05110, México.

\* bsjcarlos@hotmail.com



*Recognized as Safety*) [3], por lo que pueden ser utilizadas como probióticos [4]. Su uso como probióticos se reconoce por su influencia en el tracto intestinal y el efecto antagonico frente a bacterias patógenas, ya que además de poseer la capacidad de competir por nutrientes, también son capaces de producir metabolitos con actividad antimicrobiana, tales como ácidos orgánicos, péptidos del tipo bacteriocinas, biosurfactantes y otras moléculas aun sin caracterizar.

Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la sobrevivencia de cepas de *B. abortus* durante la elaboración de queso fresco enriquecido con la cepa *Lactobacillus paracasei* JLM aislada de aguamiel.

## Metodología

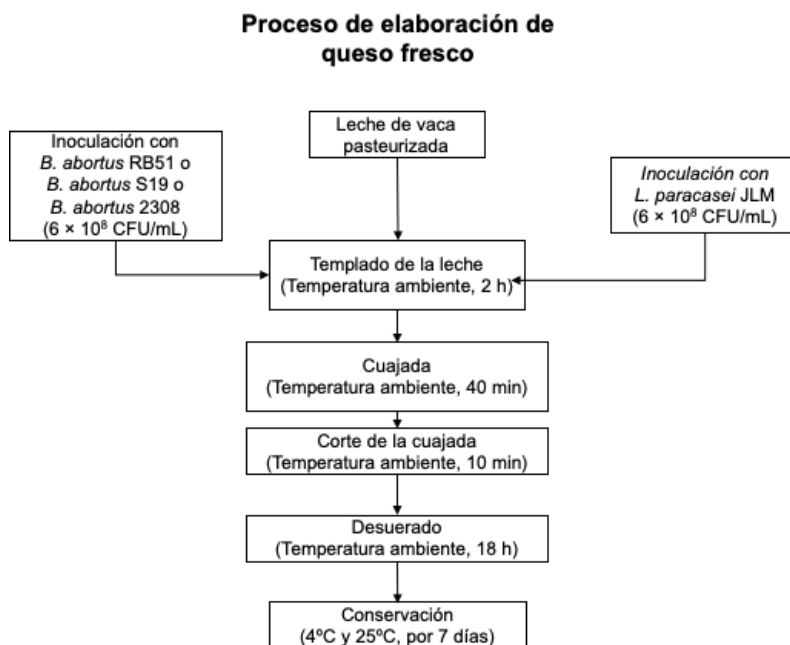
Para este experimento se elaboró un total de 18 quesos frescos. Estos se dividieron en tres grupos de seis quesos (uno por cada cepa de *B. abortus* utilizada), que luego se dividieron en dos subgrupos de 3 quesos cada uno. El primer subgrupo se conservó a 4°C y el segundo a 25°C. Todos los quesos se suplementaron con *L. paracasei* JLM aislada de aguamiel [5].

Para la elaboración de cada queso se utilizó leche fresca pasteurizada, inoculada con *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 o *B. abortus* 2308, a una concentración final de  $6 \times 10^8$  UFC/mL y el proceso consistió en 5 etapas: templado, cuajada, corte, desuerado y conservación. La elaboración de los quesos se realizó bajo condiciones asépticas a temperatura ambiente y la conservación se llevó a cabo a 4°C y 25°C, durante 7 días (Figura 1). En las diferentes etapas del proceso se determinó la sobrevivencia de las cepas de *B. abortus* mediante su recuento de UFC/mL en placas de agar Farrel [6].

Los resultados fueron analizados por ANOVA de dos vías, prueba de comparaciones múltiples Tukey y prueba de correlación de Pearson, mediante el programa GraphPad Prism 9.0®.

## Resultados y discusión

El efecto antagónico de *L. paracasei* JLM durante la elaboración de queso fresco, mostró conteos bacterianos similares para las tres cepas de *B. abortus* durante las primeras cuatro etapas del proceso, obteniéndose



**Figura 1.** Diagrama de flujo del proceso de elaboración de quesos frescos. Se indican los tiempos y temperaturas de cada etapa.

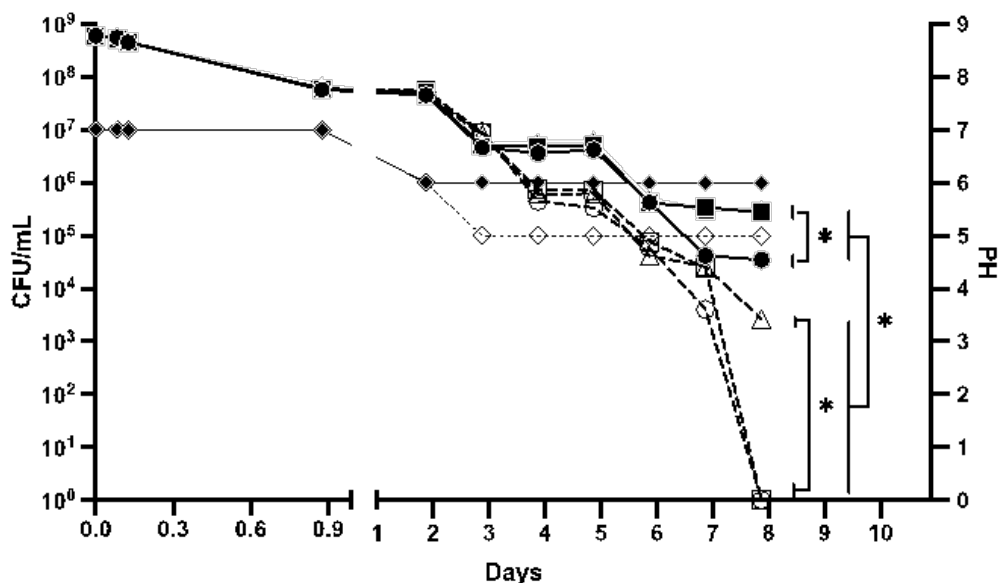
concentraciones para *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308 de  $1.28 \times 10^7$ ,  $1.56 \times 10^7$  y  $1.44 \times 10^7$  UFC/mL respectivamente, durante el día 0 de conservación.

En los quesos conservados a 4°C, las tres cepas presentaron una tendencia similar de sobrevivencia hasta el día 6 de conservación, donde se obtuvo un conteo 10 veces menor de la cepa de *B. abortus* RB51 con respecto a las cepas *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308, presentándose concentraciones de  $4.16 \times 10^4$ ,  $3.05 \times 10^5$  y  $3.49 \times 10^5$  UFC/mL, respectivamente. Para el día 7 se tuvieron conteos finales de  $3.61 \times 10^4$ ,  $2.77 \times 10^5$  y  $3.05 \times 10^5$  UFC/mL para las mismas cepas (Figura 2), encontrándose diferencias estadísticas significativas entre *B. abortus* RB51 y las cepas de *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308 ( $P < 0.0001$ ).

Para los quesos conservados a 25 °C, las concentraciones obtenidas en el día 6 fueron de  $4.05 \times 10^3$ ,  $3.44 \times 10^3$  y  $2.61 \times 10^4$  UFC/mL para *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 y *B. abortus* 2308, respectivamente, presentándose una concentración 10 veces menor por parte de las cepas *B. abortus* RB51 y *B. abortus* S19

con respecto a la cepa parental *B. abortus* 2308. Para el día 7 los conteos finales obtenidos fueron de 0, 0 y  $2.72 \times 10^3$  UFC/mL para las mismas cepas (Figura 2), encontrándose diferencias estadísticas significativas entre las cepas de *B. abortus* RB51 y *B. abortus* S19, con respecto a *B. abortus* 2308 ( $P < 0.0001$ ).

Por otra parte, los valores de pH en los quesos frescos conservados a 4°C presentaron un valor de 7 durante las primeras cuatro etapas de elaboración, teniendo un descenso en su valor durante el día 1 de la etapa de conservación a pH de 6, manteniéndose así hasta el día 7. Para los quesos frescos conservados a 25°C, se obtuvieron valores de pH de 7 durante las primeras 4 etapas, presentando un descenso a pH de 6 durante el día 1 de conservación y otro a pH de 5 durante el segundo día, manteniendo este valor hasta el día 7 (Figura 2). Los resultados demostraron que a valores cercanos al pH neutro (pH de 7), se presenta una mayor sobrevivencia por parte de las cepas de *B. abortus*, mostrando una correlación positiva entre la sobrevivencia y este valor ( $P < 0.01$ ).



**Figura 2.** Determinación del efecto antagónico de *L. paracasei* JLM frente *B. abortus* durante la elaboración del queso fresco; Sobrevivencia de las cepas *B. abortus* RB51 a 4°C (●), *B. abortus* S19 a 4°C (■), *B. abortus* 2308 a 4°C (▲), *B. abortus* RB51 a 25°C (○), *B. abortus* S19 a 25°C (□) y *B. abortus* 2308 a 25°C (△) durante la elaboración de queso fresco; valores de pH a 4°C (◆) y pH a 25°C (◇).

Cada punto representa una etapa del proceso de elaboración: 0, 2, 3 h: inoculación, templado y corte; 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días de conservación, posteriores a su elaboración. Los datos representan el promedio ( $\pm$ ) desviación estándar (DS) de tres experimentos independientes. Los \* muestran los grupos con diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

La sobrevivencia de *Brucella* en diferentes ambientes, incluidos alimentos como el queso, está en función de diversos factores ambientales como: temperatura, tiempo, exposición a luz solar, pH,  $a_w$ , presencia de bacterias competidoras, etc. En 2022 Benítez et al. demostraron que las cepas vacunales de *B. abortus* RB51, *B. abortus* S19 y la cepa parental *B. abortus* 2308, eran capaces de sobrevivir hasta por 7 días en queso fresco conservado tanto a 4°C como a 25°C. Sin embargo, en el presente trabajo se demostró que la cepa de *L. paracasei* JLM es capaz de generar sustancias antimicrobianas, frente a las cepas de *B. abortus* utilizadas. Aunque actualmente ya se ha descrito que la capacidad de las BAL para generar sustancias antimicrobianas depende de forma importante del medio de cultivo empleado, siendo el medio MRS uno de los más utilizados [7], en este trabajo se pudo demostrar que la cepa de *L. paracasei* JLM utilizada fue capaz de inhibir el crecimiento de *B. abortus* RB51 y *B. abortus*

S19 en la elaboración de queso fresco a partir del día 7 de conservación a 25°C.

## Conclusión

La cepa de *Lactobacillus paracasei* JLM es capaz de generar un efecto antagónico frente a *Brucella abortus* durante la elaboración de un producto lácteo como el queso fresco, lo que ofrece una alternativa potencial para futuras aplicaciones como probiótico.

## Agradecimientos y fuente financiera

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Posgrado en Ciencias de la producción y de la salud animal de la FMVZ.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) UNAM, por la beca posdoctoral de Juan Carlos Benítez Serrano, para la realización de este proyecto.

---

## Referencias

1. Khurana SK, Sehrawat A, Tiwari R, et al. Bovine brucellosis—a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*. 2021. doi: 10.1080/01652176.2020.1868616.
2. Tannock, GW. A Special Fondness for *Lactobacilli*. *Applied and Environmental Microbiology*. doi: 10.1128/AEM.70.6.3189-3194.2004.
3. Nishie M, Nagao J, Sonomoto K. Antibacterial peptides “Bacteriocins”: An overview of their diverse characteristics and applications. *Biocontrol Science*. 2012. doi:10.4265/bio.17.1.
4. Ried K. Gastrointestinal health. The role of pre- and probiotics in standard foods. *Australian Family Physician*. 2004.
5. Benítez-Serrano JC, Martínez-Pérez L, Rosas-Murrieta NH, et al. Isolation of a *Lactobacillus* strain from aguamiel and preliminary characterization of its antimicrobial components. *African Journal of Microbiology Research*. 2018. doi:10.5897/ajmr2018.8883
6. Benítez-Serrano JC, Palomares-Resendiz G, Díaz-Aparicio E, et al. Survival of *Brucella abortus* RB51 and S19 Vaccine Strains in Fresh and Ripened Cheeses. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2022. doi: 10.1089/fpd.2022.0001.
7. Yang E, Fan L, Yan J, et al. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*. 2018. doi:10.1186/s13568-018-0536-0.