

# EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE BACTERIAS LÁCTICAS

## AISLADAS DE LECHE DE BURRA

Abarquero, D., Prieto, B., Tornadijo, M.E., Fresno, J.M.

<sup>1</sup>Grupo BALAT - Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León. email: jmfreb@unileon.es



### INTRODUCCIÓN

Cepas silvestres de bacterias lácticas (BAL) pueden contener genes de resistencia a antibióticos siendo un requisito previo a su inclusión en cultivos iniciadores comprobar la ausencia de dicha resistencia. Los genes de resistencia pueden transferirse a otras bacterias patógenas a través de la cadena alimentaria, lo que conduce a la propagación de la resistencia a los antibióticos. La EFSA establece una serie de criterios centrados en la susceptibilidad/resistencia a antibióticos para las cepas BAL de uso en alimentos (EFSA FEEDAP Panel, 2018).

### OBJETIVO

Comprobar la resistencia a antibióticos de 15 cepas de BAL aisladas de leche de burra (3 *Lactococcus lactis*, 3 *Leuconostoc mesenteroides*, 1 *Pediococcus acidilactici*, 2 *Pediococcus pentosaceus*, 2 *Lactiplantibacillus plantarum*, 1 *Levilactobacillus brevis*, 2 *Lacticaseibacillus casei* y 1 *Lacticaseibacillus zeae*).

### MÉTODOLÓGÍA

Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de 16 antibióticos (enumerados en la Tabla) fueron determinados mediante microdilución utilizando placas Sensititre EULACBI1 y EULACBI2 (Trek Diagnostic Systems, East Grinstead, Reino Unido), según la guía de la EFSA sobre el uso de microorganismos de producción (EFSA FEEDAP Panel, 2018). Las colonias individuales se suspendieron en solución salina estéril (0,9 % NaCl) hasta alcanzar una densidad equivalente a 1 en la escala de McFarland. A continuación, la suspensión se diluyó 1000 veces en caldo IsoSensitest (IST) (Oxoid) (para *Lactococcus*) o medio LSM (90% IST + 10% MRS) (para lactobacilos y *Leuconostoc*). Se añadió una alícuota de 100 µl de la suspensión a cada pocillo de las placas Sensititre y se incubó en condiciones de aerobiosis, a 32 °C, 48 h. Las CMI se definieron como la concentración más baja (µg ml<sup>-1</sup>) en la que no se observó crecimiento visible.

### RESULTADOS

Cepa	Antibióticos <sup>1</sup> (MIC µg ml <sup>-1</sup> )															
	GEN	KAN	STR	NEO	TET	ERY	CLI	CHL	AMP	PEN	VAN	SYN	LZD	TMP	CIP	RIF
<b><i>Lactococcus lactis</i></b>																
011MSE-2-1	0.5	2	8	1	64	0.015	0.03	1	0.06	0.12	< 0.25	1	0.5	64	2	2
DM-MRS084	< 0.5	2	8	1	64	0.015	0.03	1	0.06	0.12	< 0.25	1	0.5	64	2	2
DM-MRS095	0.5	16	8	0.5	64	0.015	0.03	1	4	16	128	2	1	64	32	2
Breakpoint <sup>2</sup>	32	64	32	-	4	1	1	8	2	-	4	-	-	-	n.r.	-
<b><i>Leuconostoc mesenteroides</i></b>																
011MSE-3-1	< 0.5	2	2	< 0.12	1	0.015	< 0.03	1	0.25	0.25	> 128	0.25	0.5	0.5	1	0.12
016MSE-5-2	< 0.5	4	4	0.12	2	0.03	< 0.03	2	0.5	0.5	> 128	0.5	1	1	2	0.12
DM-MRS035	< 0.5	4	4	< 0.12	2	0.03	< 0.03	2	0.5	0.5	> 128	0.5	1	0.5	2	0.25
Breakpoint	16	16	64	-	8	1	1	4	2	-	n.r.	-	-	-	n.r.	-
<b><i>Pediococcus acidilactici</i></b>																
009ROG-3-1	1	16	16	2	8	0.015	< 0.03	1	1	0.25	> 128	0.5	0.5	1	16	0.25
Breakpoint	16	64	64	-	8	1	1	4	4	-	n.r.	-	-	-	n.r.	-
<b><i>Pediococcus pentosaceus</i></b>																
007ROG-4-1	< 0.5	4	4	0.5	0.5	< 0.015	0.03	2	0.5	0.12	> 128	0.5	0.5	< 0.12	0.5	0.12
008ROG-5-2	< 0.5	2	2	0.5	0.5	< 0.015	0.03	2	0.5	0.25	> 128	0.5	0.5	< 0.12	0.5	0.12
Breakpoint	16	64	64	-	8	1	1	4	4	-	n.r.	-	-	-	n.r.	-
<b><i>Lactiplantibacillus plantarum</i></b>																
010ROG-1-1	< 0.5	4	4	0.12	4	< 0.015	< 0.03	1	1	2	> 128	0.25	0.5	< 0.12	8	0.5
013ROG-1-2	< 0.5	4	4	0.25	8	0.015	< 0.03	2	2	8	> 128	0.25	0.5	< 0.12	8	1
Breakpoint	16	64	n.r.	-	32	1	4	8	2	-	n.r.	-	-	-	n.r.	-
<b><i>Levilactobacillus brevis</i></b>																
004ROG-2-1	< 0.5	< 2	2	< 0.12	8	< 0.015	0.5	1	1	1	> 128	0.5	1	< 0.12	2	0.5
Breakpoint	16	16	64	-	8	1	4	4	2	-	n.r.	-	-	-	n.r.	-
<b><i>Lacticaseibacillus casei</i></b>																
007ROG-2-2	1	16	4	4	0.5	< 0.015	0.25	1	0.5	0.25	> 128	0.5	0.5	0.12	0.5	0.12
014ROG-2-1	0.5	4	2	0.5	0.5	< 0.015	0.03	2	0.25	0.12	> 128	0.5	0.5	< 0.12	0.5	0.12
Breakpoint	32	64	64	-	4	1	4	4	4	-	n.r.	-	-	-	n.r.	-
<b><i>Lacticaseibacillus zeae</i></b>																
004ROG-4-2	1	16	4	4	0.25	< 0.015	0.25	1	0.5	0.12	> 128	0.5	0.25	0.12	0.5	< 0.12
Breakpoint	32	64	64	-	4	1	4	4	4	-	n.r.	-	-	-	n.r.	-

<sup>1</sup> GEN, gentamicina; KAN, kanamicina; STR, estreptomina; NEO, neomicina; TET, tetraciclina; ERY, eritromicina; CLI, clindamicina; CHL, cloranfenicol; AMP, ampicilina; PEN, penicilina; VAN, vancomicina; SYN, quinupristina-dalfopristina; LZD, linezolid; TMP, trimetoprima; CIP, ciprofloxacina; RIF, rifampicina. <sup>2</sup> Breakpoint expresado en µg ml<sup>-1</sup>. Celdas en color naranja muestran MIC de antibióticos más altos que los valores de corte establecidos por la EFSA (EFSA, 2018). n.r., resistentes de manera natural; breakpoint no establecido.

### CONCLUSIONES

- Los lactobacilos, en general, fueron sensibles a tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, penicilina, ampicilina, clindamicina, quinupristina-dalfopristina, linezolid y rifampicina, e intrínsecamente resistentes a la vancomicina y la ciprofloxacina.
- Las tres cepas de *L. lactis* mostraron resistencia a la tetraciclina y 1 cepa de las tres estudiadas fue resistente a la ampicilina y vancomicina. La resistencia de las cepas de *Lc. lactis* a niveles elevados de trimetoprima se considera intrínseca.
- Tres cepas mostraron CMI iguales a los límites establecidos para separar las cepas susceptibles de las resistentes: la cepa de *Pediococcus acidilactici*, una de *Lactiplantibacillus plantarum* y la cepa de *Levilactobacillus brevis*.
- CMI iguales o superiores en una dilución a puntos de corte se consideran dentro de la variación normal del ensayo de microdilución y no son preocupantes.

AGRADECIMIENTOS: los autores desean expresar su agradecimiento a la Estación Tecnológica de la Leche de Castilla y León, a la Asociación Nacional de Criadores de Raza Asnal Zamorano-Leonesa (ASZAL) y a la Cooperativa Agropecuaria Buleza por su colaboración en este trabajo.