

RESUMEN DE LA COMUNICACIÓN

IDENTIFICACIÓN Y TIPIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS AISLADOS DE COMUNIDADES COMPLEJAS: PRODUCTOS FERMENTADOS NATURALES Y MICROBIOTA INTESTINAL

De Antoni, G. L.¹

Las interacciones bacteria-bacteria determinan la composición poblacional, la relación con el entorno y el funcionamiento de las comunidades microbianas complejas. El estudio de la composición de la microbiota del ecosistema intestinal y de alimentos fermentados funcionales, es indispensable para comprender el rol de determinados microorganismos en la salud y para diseñar y mejorar la formulación de probióticos. El logro de estos objetivos implica la utilización de diversos tipos de metodologías a los efectos de obtener información referente a la identidad y diversidad de los microorganismos involucrados. En este sentido es importante destacar que el uso de métodos microbiológicos convencionales basados en el aislamiento y cultivo de microorganismos es tan importante como la utilización de métodos basados en ácidos nucleicos para microorganismos viables no cultivables (VNC).

Con respecto a la microbiota intestinal humana debemos recordar que el adulto posee en el intestino más microorganismos que células en su cuerpo. Estos microorganismos los adquiere el neonato en el momento del parto y durante los primeros días de vida. Entre otros predominan los géneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium* y enterobacterias. Si bien la extensión de la biodiversidad de este ecosistema, que contiene 10^{14} bacterias, aún no se conoce se supone la existencia de más de 1000 especies. Este microbioma contendría 100 veces más genes que el genoma humano y es responsable del efecto barrera contra la acción de patógenos y compuestos tóxicos. La microbiota intestinal de un individuo adulto se mantiene durante toda la vida pero sufre variaciones por diversos factores

exógenos que podrían prevenirse o modificarse mediante la administración de probióticos.

La leche fermentada con gránulos de kefir se produce en forma artesanal en nuestro país a partir de leche de vaca. El kefir está descrito como un alimento en el Código Alimentario Argentino. El fermento que se utiliza para elaborar la leche fermentada es el gránulo de kefir que se obtiene a partir de gránulos preformados. Los gránulos se obtienen de personas que los cultivan para consumo personal, hasta el momento no existe ninguna publicación sobre la formación de gránulos *de novo*. El Kefir es una leche fermentada originaria del Cáucaso. Actualmente se consume principalmente en países del este europeo. Los gránulos de kefir son estructuras semejantes a las flores de la coliflor, de forma irregular, cuyo tamaño oscila entre unos pocos milímetros a 2-3 cm de diámetro. Están compuestos por una matriz, formada principalmente por polisacárido y proteína, y una microflora compleja constituida por bacterias lácticas y levaduras que se desarrollan en asociación simbiótica. Los microorganismos del gránulo se duplican y producen polisacáridos y proteínas. Así, los gránulos madre aumentan de tamaño y se producen nuevos gránulos que contienen los mismos microorganismos. La composición de los gránulos se mantiene constante durante su desarrollo. Estas características del gránulo de kefir indican una estricta selección de cepas altamente competitivas, capaces de estimularse mutuamente y capaces de impedir el desarrollo de otros microorganismos del ambiente. Asimismo, las leches fermentadas con gránulos de kefir han demostrado una alta capacidad de inhibir bacterias gram-positivas y negativas incluyendo patógenos intestinales. El alto poder inhibitorio de las leches fermen-

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA)- UNLP, CICPBA, Cátedra de Microbiología General, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, Calle 116 y 47, La Plata (CP 1900). Tel / Fax: 424-9287 / 425-4853. E-mail: gdantoni@biol.unlp.edu.ar

tadas con kefir y la estabilidad de la microbiota del gránulo indican el elevado poder selectivo y la elevada resistencia de los microorganismos propios del gránulo a diferentes condiciones ambientales.

Se ha observado que el consumo de kefir causa beneficios para la salud. Se ha administrado empíricamente para el tratamiento de personas con desórdenes metabólicos, arteriosclerosis, enfermedades alérgicas y tuberculosis. Sin embargo, poco se sabe acerca del rol de cada una de las especies bacterianas en estos efectos, sus propiedades superficiales y su capacidad de interactuar con la mucosa intestinal.

Los gránulos de kefir constituyen un nicho ecológico, del cual no se conocen todas las especies microbianas. De la colección de cepas aisladas en nuestro laboratorio podemos distinguir cepas altamente inhibitorias y otras con propiedades superficiales apropiadas para la interacción con células eucariotas y procariotas.

En el análisis de la microbiota de comunidades microbiológicas complejas se utilizan métodos

microbiológicos convencionales, que si bien son laboriosos, imprecisos y deficitarios para asignar la especie y no aplicables para VNC, son muy importantes ya que implican el aislamiento de los microorganismos en estudio y permiten el estudio de las capacidades probióticas y el desarrollo de nuevos alimentos funcionales. La utilización de métodos moleculares es imprescindible ya que los mismos son altamente específicos y sensibles y permiten asignar la especie en forma inequívoca, detectar bajas concentraciones de determinados microorganismos y detectar microorganismos VNC. En esta presentación se discutirán los resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo y otros investigadores en el estudio de la microbiota intestinal y de los gránulos de kefir mediante el uso de métodos moleculares tales como: hibridación de DNA, secuenciación de 16-23S RNA, hibridación fluorescente in situ (FISH), PCR, RT-PCR, electroforesis en geles desnaturizantes en gradiente (DGGE), polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), PFGE, AFLP, RAPD, ARDRA, ribotipificación.