DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS EN LACTOBACILOS AISLADOS DE JABALÍES.

Barrios, V[1]., Carvajal,A., Miranda, R., Estrada,O., Argüello H., García,M.,Naharro, G. Rubio,P.
Universidad de León (ULE). Facultad de Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal. Campus de Vegazana, S/N CP 24071.vladimirbarrios2009@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Nuestro grupo de investigación ha constatado que en un porcentaje muy elevado de bacterias del ácido láctico aisladas en cerdos domésticos de granjas de producción convencionales, presentan resistencia a los antibióticos (Barrios et al., 2012). Por ello, tratamos de determinar lasensibilidad a los antibióticos del mismo tipo de bacterias aisladas de jabalíes no expuestos a la contaminación farmacológica por causas humanas con el fin de obtener lactobacilos fenotípicamente sensibles a los antibióticos ylibres de genes de resistencia. El objetivo del presente trabajo fue identificar y evaluar los niveles de resistencia a los principales antibióticos de lactobacilos provenientes del tracto gastrointestinal y las heces de jabalíes. A continuación se exponen algunos resultados preliminares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se muestrearon tres hembras adultas (>70 kg) y dos crías (8-10kg) provenientes de Zamora (Castilla y León), y tres ejemplares (30-70 kg) provenientes de Tornavaca(Extremadura). Las cepas aisladas se seleccionaron primero por pruebas de tolerancia a la barrera gástrica y posteriormente se identificaron mediante la amplificación y secuenciación de la región intergénica 16S/23S del ARN ribosómico (Berthier y Ehrlich, 1998).

Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a la ampicilina, vancomicina, gentamicina, kanamicina, estreptomicina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina y cloranfenicol según los estándares del CLSI y siguiendo el protocolo de susceptibilidad para lactobacilos descrito por Klare*et al.*(2005). Se emplearon los criterios establecidos por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2012) para los puntos de corte de cada uno de los antibióticos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La identificación por PCR de las cepas seleccionadas dio los resultados que se indican a continuación. Los géneros firmemente adheridos a mucosa fueron *Lactobacillus* (92%), *Pediococcus* (2%) y *Bifidobacterium* (6%). Las especies aisladas en el contenido intestinal, heces y mucosa incluyeron *Lactobacillus fermentum* (12%), *Lactobacillus mucosae* (48%), *Lactobacillus reuteri* (12%), *Lactobacillussp. cepa NGRI* (2%), *Lactobacillus animalis* (12%), *Lactobacillus plantarum* (2%), *Lactobacillus murinus* (4%), *Bifidobacterium bifidum* (6%) y *Pediococcus pentosaceus* (6%).

Durante la determinación de las CMI solo 9 cepas (18%) no presentaron ningún tipo de resistencia a los antibióticos (Tabla 1). Otras 19 cepas presentaban un nivel de resistencia en algunos antibióticos, solo una dilución más a la establecida, las cuales consideramos como de moderado a leve (38%), mientras que 22 aislados (44%) presentaba rangos muy elevados de resistencia y/o multirresistencia.

En conclusión, a partir de muestras de jabalíes salvajes es posible obtener cepas de bacterias del ácido láctico libres de resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, se detecta un cierto nivel de resistencia a los antibióticos en estas bacterias lácticas, que pudiera tener su origen en la contaminación de los animales silvestres por actividades agroganaderas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barrios G. V., Carvajal, A., P. Rubio (2012) Rev. Crianza y Salud. 43: 34 - 43.• Berthier, F., Ehrlich S., 1998. FEMS MicrobiologyLetters 161. 97-106. • EFSA, 2012. ScientificOpinion. EFSA Journal. 10(6):2740. • Klare, I., Konstabel, C., Muller-Bertling, S., Reissbrodt, R., Huys, G., Vancanneyt, M., Swings, J., Goossens, H., Witte, W., 2005. Applied and EnvironmentalMicrobiology. 71, 12: 8982–8986.

Agradecimientos: Agencia Española de Cooperación Internacional MAEC – AECID

Tabla 1*Bacterias del ácido láctico sensibles a los antibióticos, adheridas y aisladas de la mucosa intestinal, contenido, y heces de jabalíes salvajes.*

	$CMI_{(100)}$ mg / L								
	A	**Cli**	**Es**	**Er**	**G**	**K**	**T**	**V**	**Clo**
Lactobacillus fermentum	0,125	0,125	2	0,125	0,5	16	4	0,125	4
Lactobacillus mucosae	0,125	0,125	0,5	0,25	0,125	2	4	0,125	4
Lactobacillussp. NGRI	1	0,25	1	0,125	0,125	2	2	0,5	2
Lactobacillus reuteri	0,25	0,125	1	0,125	0,125	2	8	16	4
Lactobacillus mucosae	0,125	0,125	1	0,125	0,125	2	2	0,125	4
Lactobacillus mucosae	0,125	0,125	2	0,125	0,5	8	4	0,125	2
Lactobacillus mucosae	0,125	0,125	1	0,125	0,25	2	4	0,250	4
Lactobacillus plantarum	0,125	0,125	1	0,125	0,25	2	4	0,250	4
Bifidobacterium bifidum	0,125	0,125	1	0,125	0,25	2	4	0,250	4
Media $CMI_{(100)}$	0,24	0,14	1,17	0,14	0,25	4,22	4,00	1,97	3,56

A: *ampicilina,* ***Cli:*** *clindamicina,* ***Es:*** *estreptomicina,* ***Er:*** *eritromicina,*
G: *gentamicina,* ***K:*** *kanamicina,* ***T:*** *tetraciclina,* ***V:*** *vancomicina,* ***Clo:*** *cloranfenicol*

DETERMINATION ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF VETERINARY IMPORTANCE, INLACTOBACILLI ISOLATEDFROM WILD BOARS

ABSTRACT: We isolated strains of lactic acid bacteria of the intestinal mucosa and feces of pigs of different ages, group 1: two young (8-10 kg) and three adult females weighing more than 70 kg, group 2: three adults 30 - 70 kg. The species of lactic acid bacteria isolated from the intestinal contents, and mucous stools were, *Lactobacillus (L. fermentum, L. mucosae, L. reuteri, L. NGRI, L. animalis, L. plantarum and L. murinus), Bifidobacterium bifidum* and *Pediococcus pentosaceus.* We detected high levels of resistance and multiresistance to antibiotics in 44% of the strains. Upgraded to a higher stage of selection only 9 to 18% strains of bacteria sensitive to antibiotics. We show that it is possible to get strains free antimicrobial resistance detected in wild boar and a level of antibiotic resistance very high in lactic bacteria, which may be caused by human pollution.

Keywords:*Lactobacillus*, Mucous, Wild Boars, Isolation, Antimicrobial susceptibility