

IMPORTANCIA DE LA EVALUACIÓN DE LACTOBACILLUS PLANTARUM ATCC 8041® MICROENCÁPSULADO PARA EL SECTOR AGROINDUSTRIAL

IMPORTANCE OF THE EVALUATION OF LACTOBACILLUS PLANTARUM ATCC 8041® MICROENCAPSULATE FOR THE AGROINDUSTRIAL SECTOR

Jhon Fredy Ceron Cordoba¹
 Juan Carlos Bolaños Bolaños²
 Henry Jurado Gámez³

Resumen

Se evaluó el efecto inhibitor de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado y su viabilidad en condiciones gastrointestinales simuladas. Se realizó reconstitución, siembra y ajuste del inóculo; antibiograma; cinética de fermentación; determinación de péptidos, aminoácidos y ácido láctico en el sobrenadante; resistencia a temperaturas de 37 y 45°C; micro-encapsulación; estudio a condiciones gastrointestinales simuladas del microencapsulado después de 90 días de almacenamiento; y producción de exopolisacáridos (EPS). Los resultados indican acción inhibitoria de la cepa *L. plantarum* frente a la bacteria patógena; fase exponencial a las 15 horas (medio de cultivo MRS) y a las 18 horas (medio de cultivo PRO), con los parámetros cinéticos en la fase exponencial de la siguiente manera: producción de proteína 2,43mg/L (MRS) y 4,86mg/L (PRO); consumo de azúcares 4,96 mg/L (MRS) y 7,68mg/L (PRO); porcentaje de acidez 1,32% (MRS) y 1,75% (PRO); pH 4,07 (MRS) y 3,86 (PRO); resultados del estudio y análisis del microencapsulado: viabilidad 100%; eficiencia 84,64%; humedad 4,0%; solubilidad 99,8%; humectabilidad 2 min con 22 segundos; actividad de agua 0,617 y tamaño de partícula entre 2,10µm y 5,28µm. Se concluyó que *L. plantarum* microencapsulado presentó propiedades inhibitorias frente a la cepa patógena y tiene adherencia in vitro.

Palabras clave: ETA, BAL, *Lactobacillus plantarum*, Prebióticos, Probióticos, *Campilobacter jejuni*.

Abstract

The inhibitory effect of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* and its viability under simulated gastrointestinal conditions were evaluated. Reconstitution, sowing and adjustment of the inoculum were carried out; antibiogram; fermentation kinetics; determination of peptides, amino acids and lactic acid in the supernatant; resistance to temperatures of 37 and 45°C; micro-encapsulation; study at simulated gastrointestinal conditions of the microencapsulate after 90 days of storage; and production of exopolysaccharides (EPS). The results indicate inhibitory action of the *L. plantarum* strain against the pathogenic bacteria; exponential phase at 15 hours (MRS culture medium) and at 18 hours (PRO culture medium), with the kinetic parameters in the exponential phase as follows: protein production 2.43mg/L (MRS) and 4, 86mg/L (PRO); sugar consumption 4.96 mg/L (MRS) and 7.68 mg/L (PRO); acidity percentage 1.32% (MRS) and 1.75% (PRO); pH 4.07 (MRS) and 3.86 (PRO); results

Recepción: 25 de Agosto de 2023/ Evaluación: 29 de Octubre de 2023 / Aprobado: 15 Noviembre de 2023

¹Investigador del Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS. Email: jhceronc@unal.edu.co. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4160-5797>.

²Investigador del Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS. Email: bjuancarlos@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2977-2317>.

³Docente tiempo completo Universidad de Nariño, director Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS. Email: henryjugam@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2118-7997>.

of the study and analysis of the microencapsulation: 100% viability; efficiency 84.64%; humidity 4.0%; solubility 99.8%; wettability 2 min 22 seconds; water activity 0.617 and particle size between 2.10 μ m and 5.28 μ m. It was concluded that microencapsulated *L. plantarum* presented inhibitory properties against the pathogenic strain and has in vitro adherence.

Keywords: ETA, LAB, *Lactobacillus plantarum*, Prebiotics, Probiotics, *Campylobacter jejuni*.

Introducción

Los problemas de seguridad alimentaria surgen a partir de la contaminación de los alimentos, que puede originarse en diversas fuentes presentes en el ambiente, como el agua, el polvo, el suelo, los insectos y las heces de mamíferos, aves y reptiles (Koohestan et al., 2018). Estos contaminantes tienen el potencial de impactar la producción agrícola, los procesos de procesamiento de alimentos y su preparación, dando lugar a enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Es importante tener en cuenta que todos los tipos de alimentos, incluidos vegetales, frutas, carne, leche y sus productos, embutidos, pescado y alimentos listos para el consumo, pueden servir como posibles vehículos para la transmisión de ETA (Mendonca et al., 2020).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que 420000 personas mueren anualmente a causa de ETA, principalmente por bacterias Gran negativas y Gran positivas (Munera, 2020). Para el 2020, en Europa, se registraron 3166 brotes de ETA, causando 22,010 enfermedades, 1,838 hospitalizaciones y 48 muertes, mientras que en los Estados Unidos para el mismo período de tiempo se reportaron 299 brotes, causando 5,987 enfermedades, 641 hospitalizaciones y catorce muertes (Zheng & Hu, 2023). En Colombia, para el año 2020, el 64.5% de los brotes de ETA fueron muestreados y se identificó el agente etiológico en el 35.2% (110/312), principalmente *Salmonella* spp, *E. coli*, *S. aureus*, coliformes fecales y coliformes totales. Los síntomas presentados en los brotes de etiología bacteriana fueron diarrea (92.9%), calambres (59.5%), náuseas y vómitos (45.2%), dolor abdominal (16.7%), dolor de cabeza (16.7%), diarrea sanguinolenta (14.3%), fiebre (9.5%), entre otros (10%) (Osorio et al. 2021).

Un brote de ETA se identifica cuando hay dos o más casos con síntomas similares y es causado por el consumo de un alimento común (Long et al., 2023). Una vez que se ingieren alimentos contaminados con ETA, las personas mayores, los niños y las mujeres embarazadas experimentan síntomas gastrointestinales y clínicos más severos, como náuseas, vómitos, diarrea, calambres abdominales, dolor articular o de espalda, y fatiga (Stewart, 2017). Es importante mencionar que existen factores biológicos relacionados con ETA, como microorganismos saprófitos o ubicuos; en general, las bacterias involucradas son *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* (Taylor et al., 2021). Los autores mencionan el desarrollo evolutivo de estos microorganismos mejor adaptados a escenarios de mayor estrés, uno de los más importantes es la resistencia antimicrobiana (RAM), especialmente *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), resistente a antibióticos betalactámicos y solo sensible a cefalosporinas de quinta generación (Khamis et al., 2021).

La ETA por *Staphylococcus aureus* se caracteriza por ser una causa importante de infecciones sistémicas, siendo el microorganismo con mayor morbimortalidad, representando un problema de salud pública creciente (De Andrade et al., 2019). En Colombia, *S. aureus* es una de las principales bacterias que causan infecciones intramamarias en el ganado lechero, donde existe un contacto cercano entre ordeñadores, ganado y el potencial zoonótico de *S. aureus* que representa una ETA (Torres et al., 2023). Además, aproximadamente el 40% de la leche cruda todavía se produce en condiciones de baja seguridad, lo que puede propagar este patógeno en la población general (Torres et al., 2020).

Las cepas de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus casei* se consideran de alta capacidad inhibitoria contra varios patógenos (Roldan et al., 2023). Las investigaciones evidencian que la liberación de péptidos con una alta actividad de unión radical y antimutagénica, la producción de ácido láctico y la exclusión competitiva son los principales herramientas para inhibir microorganismo (El-Enshasy & Yang, 2021; Salazar et al., 2017).

Los probióticos se utilizan ampliamente en la fabricación de productos lácteos fermentados, frutas, carne, embutidos, pescado y alimentos funcionales. También está aumentando como alternativa para personas intolerantes a la lactosa y en dietas vegetarianas (Hutkins, 2019). Sin embargo, la aplicación de probióticos está limitada ya que deben enfrentar varias condiciones adversas (ambientales, gastrointestinales y procesos industriales) que afectan la viabilidad y supervivencia (Rodríguez et al., 2020).

Por lo tanto, la microencapsulación de probióticos se utiliza en biotecnología y se refiere a cubrir sustancias o elementos para protegerlos contra la temperatura, el pH, la actividad enzimática y la liberación controlada de células probióticas viables (Chen, 2019). Las características de la microencapsulación pueden variar según el material o matriz microencapsulante y las matrices reconocidas como prebióticos, como la maltodextrina y la inulina, que generalmente se utilizan (Rodríguez et al., 2020; Gonzales et al., 2020).

La maltodextrina se elige como agente microencapsulante debido a su solubilidad en agua, baja viscosidad y solución clara. Además, es fácilmente digerida. Esto permite que los probióticos microencapsulados se liberen e influenciados por el sistema gastrointestinal durante la digestión. Por otro lado, la inulina, un fructooligosacárido con una estructura ligeramente ramificada, está compuesta por unidades de fructosa unidas por enlaces β -(2-1) (Gonzales et al., 2020). La inulina, parcialmente soluble en agua, resiste la digestión humana debido a sus enlaces glicosídicos. Sin embargo, apoya el crecimiento de microorganismos intestinales. En consecuencia, la inulina actúa como un biopolímero de liberación colónica, manteniendo su integridad durante el paso por el tracto digestivo superior y liberando compuestos bioactivos en el colon a través de procesos enzimáticos y fermentativos (Rodríguez et al., 2020; Gonzales et al., 2020).

Los cultivos de células intestinales son herramientas valiosas para evaluar el potencial de las bacterias probióticas y los prebióticos en cuanto a su capacidad para adherirse a las células intestinales, modular la función inmunológica y promover la salud intestinal (Fonseca et al., 2021).

La microencapsulación de bacterias ácido lácticas crea una barrera protectora para mejorar la actividad probiótica (Rodríguez et al., 2020). El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto *in vitro* inhibitorio de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado y su viabilidad en condiciones gastrointestinales simuladas.

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en el laboratorio del grupo de investigación PROBIOTEC-FORAPIS y los laboratorios especializados de la Universidad de Nariño en la ciudad de Pasto, departamento de Nariño, Colombia.

Se utilizaron las cepas de *L. plantarum* y *Campylobacter jejuni*. Las cepas fueron reconstituidas, sembradas e inoculadas de acuerdo con la casa comercial (Jurado-Gómez et al., 2014). Los cultivos se adquirieron del distribuidor MDM científica.

Para determinar antibiograma de las cepas y la inhibición de *L. plantarum* contra *C. jejuni* con los métodos: discos de agar impregnados, almohadillas de método con sobrenadante, difusión en cilindro plástico con sobrenadante y difusión en cilindro plástico de doble capa con sobrenadante. Estos métodos se realizaron bajo diversas condiciones de pH, filtrado, viabilidad a 80°C durante 10 minutos (Tagg & McGiven, 1971; Jurado-Gómez et al.,

2013). Los perfiles de resistencia a los antibióticos de las cepas de *L. plantarum* y *C. jejuni* se determinaron con antibióticos específicos (Bauer et al., 1966).

Se estudiaron las cinéticas de fermentación utilizando medio de cultivo MRS y medio PRO para el crecimiento de *L. plantarum*. Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL) (Sánchez et al., 2017), azúcares consumidos (mg/L) (Dubois et al., 1956), producción de proteínas (mg/L) (Lowry et al., 1951), pH y porcentaje de ácido láctico.

La tasa específica de crecimiento se estimó con la ecuación 1, el tiempo de duplicación celular (dt) se calculó con la ecuación 2, el tiempo de generación (g) se calculó usando la ecuación 3, la tasa de crecimiento (K) se calculó con la ecuación 4, las unidades se expresan en generaciones/hora (K), y la cosecha máxima se calculó mediante la ecuación 5.

$$y = (mx + b) \quad (1)$$

$$dt = \left(\frac{\ln 2}{v_{max}} \right) \quad (2)$$

$$g = \frac{0,693}{\mu} \quad (3)$$

$$K = \frac{1}{g} \quad (4)$$

$$M = Mt - M0 \quad (5)$$

Se llevaron a cabo la identificación de péptidos, el análisis de ácido láctico y el perfil de aminoácidos mediante HPLC. El perfil de péptidos se determinó por HPLC, mientras que el ácido láctico se midió a partir del sobrenadante filtrado. El perfil de aminoácidos se llevó a cabo para *L. plantarum* y *C. jejuni* cultivados en caldos MRS y BHI, respectivamente. Crecimiento de *L. plantarum* a 37°C y 45°C (Cai et al., 1999).

Microencapsulación de *L. plantarum* mediante secado por pulverización, estudio y caracterización. Se preparó una solución de 500 ml con una concentración del 10% p/v para *L. plantarum*. El proceso utilizó un Secador por Pulverización Bilon 6000s, funcionando a una temperatura de entrada de 170°C y una temperatura de salida de 67°C durante un ciclo de 4 horas. El producto microencapsulado resultante fue esterilizado, almacenado en bolsas ziploc metalizadas y conservado a temperatura ambiente (19±2°C) (Montes, 2013; Rodríguez et al., 2016). Para evaluar el material microencapsulado y la matriz binaria del encapsulante, se utilizaron algunos aspectos como criterios de estabilidad: viabilidad, eficiencia, humedad, actividad del agua, solubilidad, humectabilidad, morfología y tamaño de partícula. Estos parámetros se determinaron a los 90 días de almacenamiento (Montes, 2013, Gonzales et al., 2007).

El material microencapsulado se evaluó después de 90 días de almacenamiento. El porcentaje de viabilidad (Rodríguez et al., 2022) y la eficiencia (Gonzales et al., 2015) se determinaron utilizando ecuaciones específicas 6 y 7.

$$\% Viabilidad = \left(\frac{N}{N_0} \right) \times 100 \quad (6)$$

$$\% Eficiencia = \left(\frac{A - B}{A} \right) \times 100 \quad (7)$$

La humedad se midió utilizando un analizador de humedad, y la actividad del agua se determinó con el equipo Hygrolab Rotronic (Núremberg, Alemania). La solubilidad se evaluó

midiendo los sólidos restantes después de la centrifugación y mediante la ecuación 8. La humectabilidad se determinó utilizando el método estático de mojado (Rodríguez et al., 2016).

$$\%Solubility = \left(\frac{mi - mf}{mi} \right) \times 100 \quad (8)$$

L. plantarum microencapsulado se sometió a condiciones simuladas del tracto gastrointestinal para evaluar su comportamiento (Cruz et al., 2009, Cruz, 2015). El proceso implicó la exposición a la actividad de la lisozima, pepsina, NaCl, HCl, pancreatina, bilis, pH (2.5 – 6.8) y NaOH. Se evaluó la viabilidad bacteriana y se realizaron recuentos de colonias (Sanchez et al., 2017). Se examinó la producción de exopolisacáridos a diferentes temperaturas y períodos de tiempo ($28 \pm 2^\circ\text{C}/7$ días; $35 \pm 2^\circ\text{C}/48$ horas y $42 \pm 2^\circ\text{C}/24$ horas), la presencia de EPS se determinó por la aparición de colonias mucoides y se confirmó mediante la mezcla con alcohol (Guimarães et al., 1999).

Se llevarán a cabo ensayos de adhesión intestinal para evaluar la adherencia de *L. plantarum* y *C. jejuni* utilizando mucina de estómago porcino Tipo III (Sigma-Aldrich) (Serna et al., 2012). El proceso implicará la activación de cepas bacterianas, recolección y purificación de células (9000 rpm durante 10 minutos a 4°C), dilución de la biomasa con 1 mL de solución salina estéril y evaluación de la adhesión celular (80 μL de muestra preparada e incubación anaeróbica durante 24 horas a 37°C).

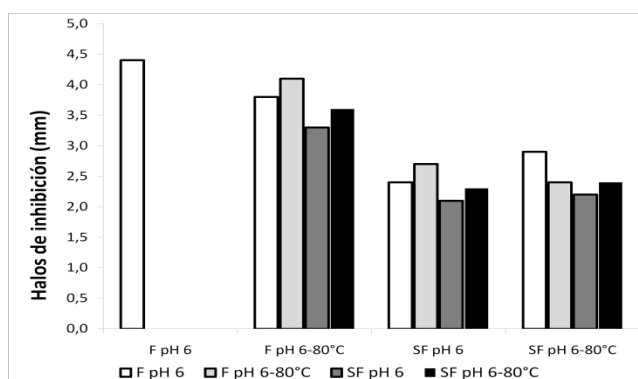
Después de la incubación, se eliminaron las bacterias no adherentes, las muestras se tiñeron con tinción de Giemsa (Cramer et al., 1972) y se observaron bajo el microscopio para analizar la adherencia a la mucina.

Diseño estadístico: estadísticas descriptivas con 4 réplicas para cada prueba: producción de gas, actividad de la catalasa, exopolisacáridos, diferentes niveles de temperatura, pruebas de inhibición y sensibilidad, condiciones gastrointestinales. Y un diseño completamente aleatorizado para viabilidad, humedad, actividad del agua, solubilidad, humectabilidad y higroscopicidad.

Resultados

Figura 1

Lado izquierdo: halos de inhibición y métodos para determinar la inhibición bajo diferentes concentraciones de *L. plantarum* en *C. jejuni*.



Lado derecho: halos de inhibición de *L. plantarum* en *C. jejuni* utilizando el método del disco de agar. F filtrado, SF sin filtrar.

Los resultados indican que el sobrenadante de la cepa probiótica posee actividad antimicrobiana bajo las condiciones y métodos probados. El método del disco de agar, con *L. plantarum* demostró un efecto inhibitorio más fuerte contra *C. jejuni*.

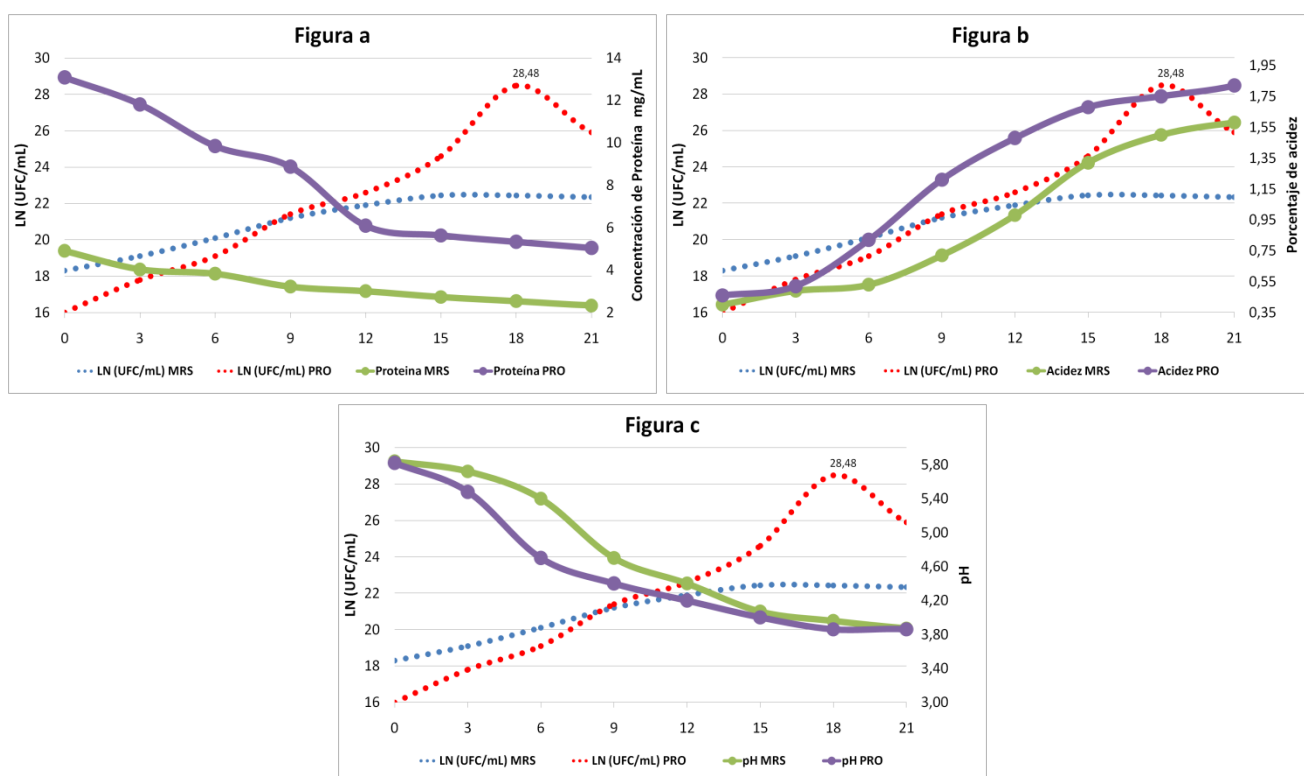
Los resultados obtenidos para el antibiograma en *C. jejuni* expresan que la cepa es resistente a Cefquinoma (CEQ 30 μ g), Penicilina (PEN 10 μ g) y sensible a Amoxicilina (AMC 30 μ g), Gentamicina (CN 10 μ g), Doxiciclina (D 30 μ g), Florfenicol (FFC 30 μ g) y Tetraciclina (TE 30 μ g). El método del disco de agar no se realizó con el sobrenadante, sino específicamente con la cepa láctica.

Los datos obtenidos para Ln UFC/ml del crecimiento de *L. plantarum* en la cinética de fermentación indican diferencias entre los medios de cultivo (PRO y MRS) ($p < 0,05$) y diferencias entre los tiempos muestreados para el medio PRO ($p < 0,05$). El medio MRS no mostró diferencias entre los tiempos ($p > 0,05$).

Para el medio MRS, la fase exponencial se alcanza a las 15 horas con 22,44 LN UFC/mL; en el medio PRO, la fase exponencial se observa a las 18 horas con 28,48 LN UFC/mL. Los resultados obtenidos de la cinética de fermentación se describen a continuación: tasa de crecimiento específico de 0,264 (MRS) y 0,698 (PRO); tiempo de duplicación celular 2,63 horas (MRS) y 0,993 horas (PRO); número de generaciones por hora 0,381 (MRS) y 1,007 (PRO); máxima cosecha 3,73 LN UFC/ml (MRS) y 9,61 LN UFC/ml (PRO), producción exponencial de proteínas 2,43 mg/L (MRS) y 4,86 mg/L (PRO) (Figura 2a); acidez 1,32% (MRS) y 1,75% (PRO) (Figura 2b); pH, 4,07 (MRS) y 3,86 (PRO), con un rango de pH entre 5,84 y 3,81 (MRS) y 5,82 y 3,74 (PRO) (Figura 2c).

Figura 2

(a) Determinación de la producción de proteínas de *L. plantarum* en medios PRO y MRS. (b) Determinación del porcentaje de acidez de *L. plantarum* en medios PRO y MRS. (c) Determinación del pH de *L. casei* en medios PRO y MRS.



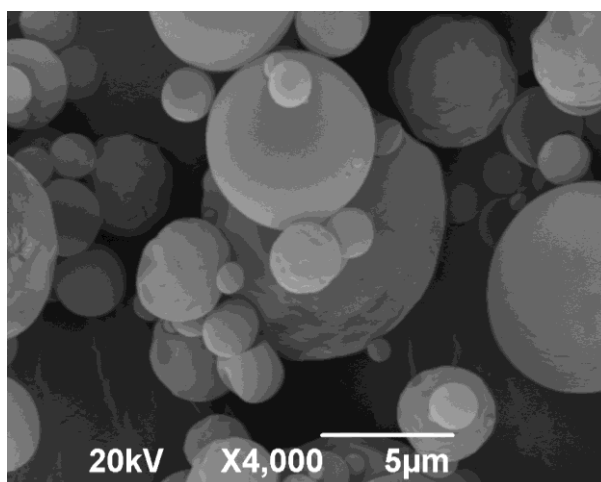
El crecimiento de *L. plantarum* a 37°C y 45°C, el análisis estadístico indicó diferencias entre las temperaturas de 37°C y 45°C ($p < 0,05$). El crecimiento bacteriano se registró para diluciones 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} y 10^{-12} , con valores entre $1,6 \times 10^1$ CFU/ml y $3,6 \times 10^{14}$ UFC/mL a 37°C y valores entre $1,6 \times 10^{12}$ UFC/mL y $1,0 \times 10^{13}$ UFC/mL a 45°C. La temperatura óptima

de crecimiento para *L. plantarum* varía entre 35°C y 40°C y puede tolerar temperaturas entre 2°C y 50°C (40,41). La fluctuación de temperatura en la producción de ácido láctico entre 29°C y 42°C para *L. plantarum* se reporta como no significativa (Flores, 2020).

La microencapsulación presentó los siguientes resultados después de 90 días de almacenamiento: 100% de viabilidad; 84,64% de eficiencia; 4,0% de humedad; 99,8% de solubilidad; 2 minutos con 22 segundos de humectabilidad; 0,617 de actividad de agua; y un tamaño de partícula que varía entre 2,1 μm y 5,28 μm (Figura 3).

Figura 3

Microfotografía electrónica de barrido (SEM) de *L. plantarum* microencapsulado.



Los resultados tras exponer *L. plantarum* microencapsulado a condiciones gastrointestinales recreadas se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1

Crecimiento bacteriano de *L. casei* microencapsulado Crecimiento bacteriano de *L. plantarum* microencapsulado en entornos gastrointestinales recreados.

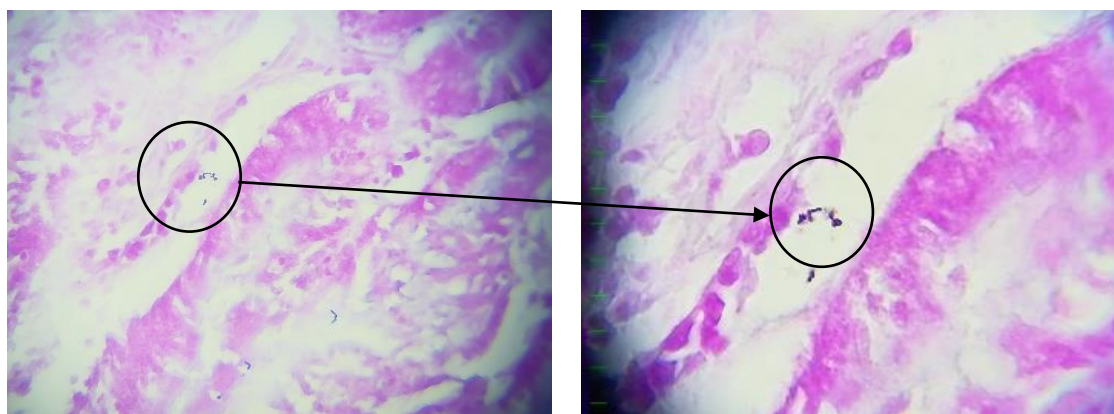
Continuum conventional CFU/ml	Discontinuous conventional		
	Lysozyme 10 min UFC/mL	Pepsin+NaCl+HCl 90 min UFC/mL	Pancreatin+bile+bilesalt +NaCl+NaOH 150 min UFC/mL
9.12×10^{11}	$1,6 \times 10^{12}$	$1,33 \times 10^{12}$	$7,58 \times 10^{11}$

La producción de exopolisacáridos de *L. plantarum* en medio MRS a diferentes temperaturas y tiempos fue positiva y se determinó por la presencia de precipitado en las muestras evaluadas.

En los ensayos realizados para evaluar la capacidad de adhesión de *L. plantarum*, se evaluó inicialmente la calidad de los controles negativos (portaobjetos sin células bacterianas) y positivos (*C. jejuni*) para verificar la pureza de los portaobjetos y la calidad de los controles negativos. Así, los resultados de adhesión de *L. plantarum* demostraron su capacidad de adhesión (Figura 4).

Figura 4

Adherencia de *L. plantarum* a la mucina del medio estomacal porcina-Tipo III (Sigma-Aldrich).



Discusión

Se han detectado bacterias del género *Lactobacillus* resistentes a ciprofloxacino, eritromicina, gentamicina y vancomicina en aislados de productos lácteos como yogur, queso blanco, queso tulum, cokelek, crema camiz y kéfir, productos lácteos que se recogieron en varios supermercados de Turquía (Erginkaya et al., 2018). Otros autores aislaron cepas lácticas de terneros neonatos (de 20 a 25 días de edad) tomadas del duodeno, el yeyuno y el colon, que, según se informó, eran resistentes a la vancomicina y las sulfonamidas (Sanchez et al., 2015). Los investigadores revelaron que algunas BAL resistentes (*L. casei*, *L. plantarum* y *L. helveticus*) a la vancomicina y la sulfonamida (Sanchez et al., 2015), la ciprofloxacina, la tetraciclina y la eritromicina portaban genes cromosómicos (*gyrA*, *tetM* y *ermB*), que confieren resistencia a dichos antibióticos, y estos genes de resistencia no son transferibles porque se encuentran a nivel cromosómico (Flores & Mayo, 2017; Guo et al., 2017). El microorganismo no es aceptado por ningún ente regulador para ser utilizado como probiótico si se demuestra que existe resistencia exógena y que es fácilmente transmisible (Sánchez et al., 2015; Flores & Mayo, 2017), ya que algunas cepas de bacterias lácticas podrían transmitir genes de resistencia antimicrobiana a bacterias patógenas (May et al., 2020).

En un estudio realizado en Valledupar (Colombia), en el que se aislaron cepas de *C. jejuni* de quesos de la costa, éstas expresaron resistencia a la tetraciclina, el cloranfenicol, la penicilina y la eritromicina (Acosta & Roenes, 2019). Se explica que el gen *mecA* integrado en el cromosoma de la cepa resistente a la meticilina es el responsable de esta característica (Schulte & Munson, 2018). Esta propiedad se ha ido mejorando y multiplicando paulatinamente, por lo que ha aumentado la infección de este microorganismo en la población (Gao et al., 2021). Los antibiogramas obtenidos en la presente investigación son similares a los mencionados anteriormente con algunas excepciones, estas excepciones se deben a que la resistencia a algunos antibióticos está determinada por el origen de las cepas evaluadas, tanto lácticas como patógenas.

La eficacia de *L. plantarum* en el control de *C. jejuni* se ha demostrado indicando que la inhibición producida por las cepas lácticas responde a diversos mecanismos de supervivencia de las BAL (Jurado-Gamez et al., 2015). Uno de los mecanismos de inhibición es el resultado de los ácidos orgánicos (ácido láctico y ácido acético), que se basa en la capacidad de la forma no disociada del ácido orgánico para atravesar la membrana celular y provocar la lisis (Rajkovic et al., 2010). Además, la identificación de la bacteriocina plantaricina producida por *L. plantarum*, que afecta a la biosíntesis de proteínas y ADN (Chen et al., 2020). *L. plantarum* tiene un efecto inhibitorio significativo sobre *C. jejuni*, siendo el método del disco de agar el más eficaz. Los perfiles de resistencia a los antibióticos son esenciales para garantizar la

seguridad de las cepas probióticas. Estos resultados respaldan la posible aplicación de *L. plantarum* como agente probiótico en la prevención de infecciones por *C. jejuni*.

Los valores de duplicación celular reportados en diferentes investigaciones son variables, 14,47 minutos para *L. plantarum* en medio MRSv (Fajardo et al., 2021), 64,38 minutos y 48,41 minutos para *L. gasseri* evaluado en medio MRS y PRO (Jurado-Gómez et al., 2016), 0,98 horas y 42,42 min para *L. plantarum* en los medios MRS y PRO (Gúzman et al., 2015). En la determinación de los parámetros cinéticos de las bacterias lácticas, los autores registran valores diferentes referentes a las condiciones de microencapsulación, período de almacenamiento y envase, ya que pueden interferir en cada uno de los ítems evaluados.

En torno a una velocidad específica, *L. plantarum* evaluada en medios bacterianos MRS y MSL (melaza, suero de leche y levadura) presentó valores de $0,61\mu_{\max}$ (h-1) y $0,56\mu_{\max}$ (h-1), respectivamente (Vera et al., 2021). Además, *L. casei* en medio de cultivo con aloe vera reportó $2,7\mu_{\max}$ (h-1) y $2,9\mu_{\max}$ (h-1) en medio MRS (32). En un medio de cultivo con inulina, se registraron valores de $0,79\mu_{\max}$ (h-1) y $0,307\mu_{\max}$ (h-1) para las cepas lácticas *L. acidophilus* y *L. casei*, respectivamente (James et al., 2017), que son datos similares a los obtenidos en este estudio.

Las generaciones por hora y la cosecha máxima son parámetros que, al igual que los mencionados anteriormente, varían en función del medio de cultivo, de la cepa bacteriana y de los factores que intervienen en el crecimiento bacteriano. Así, se han encontrado 4,62 puntos de datos para el número de generaciones por hora, con una cosecha máxima de $10,3\ln$ UFC /150 μ L (Fajardo et al., 2021).

Se han comunicado datos para la producción de proteínas y el consumo de azúcar para varias especies lácticas, como sigue: *L. gasseri* en medios de cultivo MRS y PRO de 0,66mg/L a las 20 horas y 3,12mg/L a las 16 horas (58), por otro lado, *L. plantarum* en medios de cultivo MRS y PRO de 1,61 y 1,47 mg/L a las 16 horas (54) para la producción de proteínas. Además, se registró un consumo de azúcar en los medios MRS y PRO en la fase exponencial de 1,79 mg/L (20 horas) y 2,043 mg/L (16 horas), respectivamente, para *L. gasseri* (Romero et al., 2016), y para *L. plantarum*, un consumo de azúcar de 6,98 mg/L en la fase exponencial (11:50 horas) (Fajardo et al., 2021).

Existen informes sobre el porcentaje de ácido láctico en *L. plantarum* evaluado en medio MRS que oscilan entre 0,17% en cero horas y 0,41% en 24 horas (Sinsajoa et al., 2019). Estos valores están lejos de los obtenidos en el estudio; sin embargo, se evidenció el aumento del ácido láctico. Del mismo modo, se considera que para obtener un buen crecimiento bacteriano en las BAL, el pH tiene que aproximarse a 5,5 y es posible que resistan un pH de alrededor de 2,0 (Fang & Wu, 2020). Se considera que los efectos bacteriostáticos de las BAL están relacionados con la producción de ácido láctico y acético, derivados del metabolismo fermentativo de los carbohidratos; además, el pH del medio disminuye como efecto de la concentración de ácidos orgánicos, lo que se correlaciona con la inhibición de microorganismos patógenos (Kanauchi, 2019).

Cabe señalar que el estudio compara el uso de diversas fuentes de carbono y nitrógeno; por lo tanto, las variables obtenidas de la cinética de fermentación se verán afectadas. Las diversas fuentes de nutrientes influyen en los procesos metabólicos bacterianos, afectando a la población de células bacterianas (UFC), la síntesis de bacteriocinas, los exopolisacáridos y la actividad antimicrobiana (Kunová et al., 2011; Vallejo et al., 2014).

L. plantarum indicó un péptido equivalente a la cadena VAL-TIR-VAL a una concentración de 0,56mg/ml y la detección de ácido láctico en el sobrenadante, caracterizado por sus valores medidos de 27,7g/L y 29,62g/L, similares al valor de 30,21 g/L en sobrenadante de *L. plantarum* (Jurado-Gómez et al., 2014). La cantidad de péptidos y aminoácidos producidos por fermentación puede verse afectada por diferenciaciones en el marco de los compuestos del metabolismo proteolítico, donde los requisitos nutricionales, las peptidasas

intracelulares y sus métodos de regulación afectan a la liberación al medio ambiente (Rosales et al., 2020).

Los investigadores informaron de los siguientes valores de *L. plantarum* microencapsulado: 83,3% de viabilidad, 88,4% de eficacia, 7,97% y 5,23% de humedad, 0,4% de actividad acuosa, 1 min con 56 segundos de humectabilidad, y 96% de solubilidad, y dimensiones de las microcápsulas de 35,68 μ m y 3,47 μ m (Sinsajoa et al., 2019; Cerón et al., 2021). Los resultados citados son como los reportados en la presente investigación y están dentro de rangos estables, excepto para la actividad del agua, que a pesar de tener un valor alto no afectó los resultados de los otros parámetros. La interacción entre la matriz binaria y la bacteria microencapsulada demuestra estabilidad en la composición estructural durante un período de almacenamiento de 90 días.

Los autores evaluaron la microencapsulación de *Bifidobacterium* BB-12 mediante secado por atomización utilizando leche desnatada reconstituida, inulina y oligofructosa como material de pared, los autores observaron que la inulina ejercía un efecto protector sobre las bifidobacterias en el proceso de encapsulación y lo explicaron por la posible función termoprotectora que este componente ejercía sobre las bacterias sometidas al procedimiento de secado (Paim et al., 2016).

En la revisión bibliográfica se encuentran valores próximos a los obtenidos para cepas de *L. plantarum* con crecimientos entre $2,0 \times 10^9$ UFC/150 μ L y $3,0 \times 10^{12}$ UFC/150 μ L, y para *L. reuteri* microencapsulada, un crecimiento bacteriano igual a $2,2 \times 10^{11}$ UFC/ μ L (Cerón et al., 2021) en condiciones como las evaluadas en esta investigación. Las pruebas realizadas con BL en la categoría gastrointestinal dependen de la especie animal y de su fisiología. Generalmente, las cepas probióticas deben analizarse bajo sistemas simulados del tracto gastrointestinal para determinar la tolerancia a condiciones similares a las establecidas por el medio gástrico, como enzimas antimicrobianas (lisozimas), pH bajo y sales biliares (Brodkorb et al., 2019).

En un estudio, se diseñó una nueva bebida funcional simbiótica en polvo con extractos de pulpa de uva, granada y cáscaras de remolacha, *L. casei* encapsulado (goma de membrillo y alginato sódico), la tasa de supervivencia probiótica en las bebidas funcionales en polvo que contenían *L. casei* libre fue del 42,16%, y aumentó a 86,40% y 87,56% en los polvos que contenían microcápsulas con alginato sódico y microcápsulas con probiótico alginato sódico-goma de membrillo, respectivamente. El rendimiento de la producción (10,95-13,16%), el porcentaje de humedad (4,94-5,17%), la solubilidad (85,25-88,29%) y la humectabilidad (21,56-22,12s), junto con la supervivencia bacteriana recomendada de 10^{6-7} UFC/g durante el periodo de almacenamiento de 60 días, hicieron de la bebida en polvo un producto simbiótico funcional (Sultana et al., 2023).

Las BL podían producir EPS, cuya función es proteger a las bacterias de factores como el medio ambiente y las condiciones gastrointestinales (El-Enshasy & Yang, 2021). En la industria alimentaria se destaca la importancia de las cepas productoras de EPS como polímeros que mejoran la viscosidad y textura de los productos (Korcz & Varga, 2021) y las extraordinarias propiedades de los biopolímeros que producen. No entrañan ningún peligro para la salud, son generalmente reconocidos como seguros (GRAS) y tienen actividad antioxidante, antibiótica y antitumoral (Mora et al., 2020).

Se han propuesto varias normas para la identificación de probióticos prometedores, como la capacidad de adherirse a las células intestinales. Debido a esta capacidad de adherencia, se puede potenciar la persistencia de las cepas probióticas en el intestino, lo que les permite ejercer funciones beneficiosas como equilibrar la inmunidad de la mucosa, potenciar la producción de citocinas, la secreción de IgA, la producción de sustancias inhibitorias, la fagocitosis, la maduración de las células epiteliales intestinales y la absorción de nutrientes (Alizdeh & Noshad, 2019).

Cabe señalar que la microbiota intestinal está formada por consorcios de bacterias que ejercen actividades de defensa relevantes y no están adheridas al epitelio. En su lugar, permanecen activas en la luz intestinal, contribuyendo a la eliminación de residuos y a la neutralización de toxinas y patógenos. A este respecto, varias investigaciones han indicado que las cepas de *Lactobacillus* poseen la capacidad de impedir la adhesión de patógenos dificultando su establecimiento mediante la exclusión competitiva, un mecanismo finamente ajustado que depende tanto de las cepas bacterianas probióticas como de las patógenas (Fonseca et al., 2021).

La adhesión celular es un procedimiento polifacético que abarca la interacción entre la cepa probiótica y el mucus, lo que añade complejidad a la interacción de las fuerzas electrostáticas y de van der Waals de larga distancia, además de otras interacciones a menor distancia (Alizadeh & Noshad, 2019).

Conclusiones

Lactobacillus plantarum posee las características de inhibición a patógenos y adhesión al epitelio intestinal en condiciones in vitro, lo que demuestra su viabilidad como agente probiótico.

Referencias bibliográficas

- Acosta Nieves, I., Roenes, G. (2019). Staphylococcus aureus procedentes de quesos costeños de Valledupar; susceptibilidad a antibióticos y perfil plasmídico. *Rev Méd Risaralda* 25(1):10–4. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672019000100010
- Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., Falah, F. (2019). Inhibition of Escherichia coli adhesion to human intestinal Caco-2 cells by probiotic candidate *Lactobacillus plantarum* strain L15. *Microb Pathog* 136(3): 123-134. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103677>
- Andrade, J., Alexandre, M., Da Silva, C., De Sousa Campos, R., Aires do Nascimento, FBS., Serpa Sampaio. (2019). A mechanistic approach to the in-vitro resistance modulating effects of fluoxetine against meticillin resistant Staphylococcus aureus strains. *Microb Pathog* 127(November 2018):335–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.056>
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 45(4):493–6.
- Brodkorb A, Egger L, Alminger M, Alvito P, Assunção R, Ballance S. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protoc.*14(4): 991–1014. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41596-018-0119-1>
- Cai Y, Puangpen S, Premsuda S, Benno Y. (1999). Classification and characterization of lactic acid bacteria isolated from the intestines of common carp and freshwater prawns. *J Gen Appl Microbiol* 45(4):177–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12501375/>
- Ceron-Cordoba JF, Jurado-Gómez H, Bolaños-Bolaños JC. (2021). Aplicación de un probiótico (*Lactobacillus reuteri* atcc 53608) microencapsulado en una bebida tipo sorbete a base de pulpa de fruta (banano y mango) como alimento funcional y su aplicación en la industria alimentaria. *AGLALA.* 12(2):249–63.
- Chen L, Song Z, Tan SY, Zhang H, Yuk H-G. (2020). Application of Bacteriocins Produced from Lactic Acid Bacteria for Microbiological Food Safety. *Curr Top Lact Acid Bact Probiotics* 6(1):1–8. Available from: http://www.elabp.org/archive/view_article?pid=labp-6-1-1

- Chen, W. (2019). *Lactic Acid Bacteria and Fermented Meat Products. Lactic Acid Bacteria Bioengineering and Industrial Applications*. Singapore: Springer; 211–226 p.
- Cramer A, Rogers E, Parker J, Lukes R. (1972). The use of Giemsa stain for tissue sections. *Med Bull.* 59(6):148–56.
- Cruz Pacheco K, Madrigal Mendoza GA, Valencia G, Páramo Durán E. (2009). Viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* libre e inmovilizado bajo condiciones gastrointestinales simuladas in vitro. *Lactobacillus* 4(2)1–22.
- Cruz Ramos R. (2015). *Estudio de la supervivencia de bacterias probióticas microencapsuladas bajo condiciones gastrointestinales simuladas en un sistema dinámico*. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Available from: <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx:8080/xmlui/handle/123456789/1004>
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. (2010). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal Chem*, 28(3):350–6. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60111a017>
- El-Enshasy, H., Yang, S. (2021). *Probiotics, the Natural Microbiota in Living Organisms. 1st ed. Probiotics, the Natural Microbiota in Living Organisms*. CRC Press.
- Erginkaya Z, Turhan EU, Tatli D. (2018). Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *Iran J Vet Res.* 19(1):56. Available from: <http://pmc/articles/PMC5960774/>
- Fajardo-Argoti C, Jurado-Gómez H, Parra-Suescún J. (2021). Viabilidad de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado bajo condiciones gastrointestinales simuladas e inhibición sobre *Escherichia coli* O157:H7 Viability of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* under simulated gastrointestinal conditions and inhibit. *Rev UDCA Actual Divulg Científica* 24 (1): 1-12. Available from: <http://doi.org/10.31910/rudca.v24.n1.2021.1733>
- Fang Wu Wu JW. (2020). *Caracterización de bacterias ácido lácticas (bal) aisladas de ensilados de piña como microorganismos con potencial probiótico y determinación de su aplicabilidad como cultivo bioprotector en leche agria*. Ciudad Unversitaria Rodrigo Facio, Costa Rica;
- Flores Tixicuro JM. (2020). *Optimización estadística de la producción de ácido láctico a partir de lactosuero por Lactobacillus casei*. Universidad Técnica del]. Available from: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11169>
- Flórez AB, Mayo B. (2017). Antibiotic resistance-susceptibility profiles of *Streptococcus thermophilus* isolated from raw milk and genome analysis of the genetic basis of acquired resistances. *Front Microbiol.* 22(8):1–12.
- Fonseca, H., De Sousa, D., Ramos, C., Dias, D., Schwan, R. (2021). Probiotic Properties of *Lactobacilli* and Their Ability to Inhibit the Adhesion of Enteropathogenic Bacteria to Caco-2 and HT-29 Cells. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 13(1):102–12.
- Gao L, Zhu H, Chen Y, Yang Y. (2021). Antibacterial pathway of cefquinome against *Staphylococcus aureus* based on label-free quantitative proteomics analysis. *J Microbiol* 59(12):1112–24. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12275-021-1201-x>
- González BA, Domínguez-Espinosa R, Alcocer BR. (2007). Use of Aloe vera juice as substrate for growth of *Lactobacillus plantarum* and *L. casei*. *Cienc y Tecnol Aliment.* 6(2):152–7. Available from: www.somenta.org/journal
- González, E., Gómez-Caravaca, A., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Parada, J. (2020). Role of maltodextrin and inulin as encapsulating agents on the protection of oleuropein during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chem. Apr* 25;310:125976.
- Guimarães DP, Costa FAA, Rodrigues MI, Maugeri F. (1999). Optimization of dextran synthesis and acidic hydrolysis by surface response analysis. *Journal of Animal*, 16(2):129–39.
- Guo H, Pan L, Li L, Lu J, Kwok L, Menghe B. (2017). Characterization of Antibiotic

- Resistance Genes from *Lactobacillus* Isolated from Traditional Dairy Products. *J Food Sci* 82(3):724–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28182844/>
- Gúzman-Insuasty M, Jarrín-Jarrín V, Jurado-Gámez H. (2015). Determinación De La Cinética, Pruebas De Crecimiento Microbiano y Efecto de Inhibición In Vitro de *Lactobacillus lactis* en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*. *Rev la Fac Med Vet y Zootec*, 62(2):40–56. Available from: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/article/view/51993>
- Hutkins, R. (2019). *Microbiology and Technology of Fermented Food*. Wiley Blac. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc; 618 p.
- James M, Velastegui E, Cruz MA. (2017). Evaluation of culture conditions of *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* on laboratory scale, with inulin as carbon source. *Bionatura*, 2(1):235–40. Available from: <http://revistabionatura.com/2017.02.01.4.html>
- Jurado-Gámez H, Gúzman-Insuasty M, Jarrín-Jarrín V. (2015). Determinación de la cinética, pruebas de crecimiento y efecto de inhibición in vitro de *Lactobacillus lactis* en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*. *Rev la Fac Med Vet y Zootec*, 62(2):40–56. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/article/view/51993>
- Jurado-Gámez H, Martínez-Benavides J, Morillo-Garcés JA, Orbes-Villacorte AE, Mesías-Pantoja LN. (2016). Cinética de fermentación, pruebas de desafío in vitro y efecto de inhibición de *Lactobacillus gasseri* ATCC 19992. *Vet y Zootecnia*, 10(2):72–89. Available from: <http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v10n2a07.pdf>
- Jurado-Gámez, H., Calpa-Yama, F., Chaspuengal-Tulcán, A. (2014). Determinación in vitro de la acción probiótica de *Lactobacillus plantarum* sobre *Yersinia pseudotuberculosis* aislada de *Cavia porcellus*. *Rev la Fac Med Vet y Zootec*. 61(3):241–57. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522014000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Jurado-Gámez, H., Ramírez, C., Aguirre, D. (2013). Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. *Vet y Zootecnia*. 7(2):37–53.
- Kanauchi M. (2019). *Lactic Acid Bacteria: Methods and Protocols*. Springer.
- Khamis, M., Mousa, M., Helmy, N. (2021). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in some meat products. *Alexandria J Vet Sci*. 70(1):96–105. Available from: www.alexjvs.com
- Koohestani, M., Moradi, M., Tajik, H., Badali, A. (2018). Effects of cell-free supernatant of *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Lactobacillus casei* 431 against planktonic form and biofilm of *Staphylococcus aureus*. *Veterinary research forum*, 9(4): 301–306. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.33086>
- Korcz E, Varga L. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. Vol. 110, Trends in Food Science and Technology. 2021. p. 375–84.
- Kunová G, Rada V, Lisová I, Ročková Š, Vlková E. (2011). In vitro Fermentability of Prebiotic Oligosaccharides by *Lactobacilli*. *Czech J Food Sci*. 29:49–54.
- Long, J., Du, G., Chen, J., Xie, C., Xu, J., Yuan, J. (2023). Bacteria and poisonous plants/fungi were the primary causative hazards of foodborne disease outbreaks: A five-year survey from Guangzhou, Guangdong. *Int J Food Microbiol*. 400(September 2022).
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. Nov;193(1):265–75.
- May-Torruco LA, Corona-Cruz AI, Luna-Jiménez AL, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. (2020). Sensibilidad y Resistencia a Antibióticos de Cepas Probióticas Empleadas en Productos Comerciales. *Eur Sci J*. Jun;16(18):43–60.

- Mendonca, A., Thomas-Popo, E., Gordon, A. (2020). Microbiological considerations in food safety and quality systems implementation. In: Food Safety and Quality Systems in Developing Countries. Academic P. London: Charlotte Cockle. p. 185–260.
- Montes Ramírez LM. (2013). Efecto de la microencapsulación con agentes prebióticos sobre la viabilidad de microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei* ATCC 393 y *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9469) [Internet]. Bogotá. p. 106. Available from: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11893>
- Mora-Villalobos JA, Montero-Zamora J, Barboza N, Rojas-Garbanzo C, Usaga J, Redondo-Solano M, et al. (2020). Multi-Product Lactic Acid Bacteria Fermentations: A Review. Fermentation [Internet]. 6(23):21. Available from: <https://www.ftb.com.hr/80-volume-44-issue-no-2/445-biotechnological-production-of-lactic-acid->
- Munera Cabal, G. (2020). Encapsulación de antimicrobianos naturales en sistemas nano y microestructurados: técnicas y aplicaciones en tecnología de alimentos [Internet]. [Valencia - España]: Universidad Politécnica de Valencia; [cited 2021 Dec 8]. Available from: [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/148962/Munera - Encapsulación de antimicrobianos naturales en sistemas nano y microestructurados: técnic....pdf?sequence=2](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/148962/Munera_-_Encapsulaci3n_de_antimicrobianos_naturales_en_sistemas_nano_y_microestructurados:_t3cnic....pdf?sequence=2)
- Osorio, M., Rizo-Tello, V., Sánchez, E., Prieto-Alvarado, F., Gómez, L. (2021) Brote de enfermedad transmitida por alimentos en una población especial. Cali, Colombia 2021. Interdiscip J Epidemiology Public Heal. 4(2):1–8.
- Paim DRSF, Costa SDO, Walter EHM, Tonon R V. (2016). Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* M.) juice by spray drying. Lwt [Internet]. 74:21–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.022>
- Rajkovic A, Smigic N, Devlieghere F. (2010). Contemporary strategies in combating microbial contamination in food chain. Int J Food Microbiol [Internet]. 141 Suppl (SUPPL.). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20056287/>
- Rodrigues, F., Cedran, M., Bicas, J., Sato, H. (2019). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review. Food Res Int, 37:109682. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109682>
- Rodríguez Barona S, Giraldo GI, Montes LM. (2016). Encapsulación de Alimentos Probióticos mediante Liofilización en Presencia de Prebióticos. Inf tecnológica [Internet]. 27(6):135–44. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642016000600014&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Roldán Pérez, S., Gómez Rodríguez, S., Sepúlveda, J., Simón Ruiz, O., Márquez Fernández, M., Montoya Campuzano, O. (2023). Assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from an artisanal Colombian cheese. Build Environ. 23(27): 3-34 <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2020.107386>
- Romero-Benavides DA, Morillo-Garces JA, Jurado-Gámez HA. (2016). Inhibición de *Lactobacillus gasseri* sobre *Yersinia pseudotuberculosis* bajo condiciones in vitro. Rev la Fac Med Vet y Zotec [Internet]. 63(2):95–112. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522016000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Rosales-Bravo H, Vázquez-Martínez J, Morales-Torres HC, Olalde-Portuga V. (2020). Evaluación de propiedades tecno-funcionales de cepas probióticas comerciales del género *Lactobacillus*. RIIT Rev Int Investig e innovación tecnológica [Internet]. 8(45). Available from: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-97532020000400001
- Salazar Salazar, Z., Hurtado Ayala, L. (2017). Pruebas de susceptibilidad a bacteriocinas producidas por BAL en bacterias resistentes a antibióticos. Rev Mex Ciencias Farm

- 48(1):7–17. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956614002>
- Sánchez F E, Nuñez R D, Cruz L R, Torres M, Herrera E. (2017). Simulación y Conteo de Unidades Formadoras de Colonias. *Rev electrónica Comput Informática, Biomédica y Electrónica*. 6(1):97–111. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=512253717006>
- Sánchez L, Omura M, Lucas A, Pérez T, Ferreira C de L. (2015). Cepas de *Lactobacillus* spp. con capacidades probióticas aisladas del tracto intestinal de terneros neonatos. *Rev Salud Anim*. 37(2):94–104. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v37n2/rsa04215.pdf>
- Schulte RH, Munson E. (2019). *Staphylococcus aureus* Resistance Patterns in Wisconsin: 2018 Surveillance of Wisconsin Organisms for Trends in Antimicrobial Resistance and Epidemiology (SWOTARE) Program Report. *Clin Med Res [Internet]*. 17(3–4):72–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31582419/>
- Serna Jimenez AJ. (2012). Elaboración De Jugos De Fruta Con Adición De Bacterias Ácido Lácticas Con Potencial Probiótico [Internet]. Universidad de la Sabana. Available from: [intellectum.unisabana.edu.co:8080/jspui/bitstream/10818/3633/1/Johanna Serna Jimenez_157728.pdf](http://intellectum.unisabana.edu.co:8080/jspui/bitstream/10818/3633/1/Johanna_Serna_Jimenez_157728.pdf)
- Sinsajoa-Tepud M, Jurado-Gamez H, Narváez-Rodríguez M. (2019). Evaluación de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado y su viabilidad bajo condiciones gastrointestinales simuladas e inhibición frente a *Escherichia coli* O157:H7. *Rev la Fac Med Vet y Zootec*. 66(3):231–44.
- Stewart, G. (2017). Chapter 18 - Staphylococcal Food Poisoning. *Foodborne Dis*. 367–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00018-8>
- Sultana M, Chan ES, Janarthanan P, Choo WS. (2023). Functional orange juice with *Lactobacillus casei* and tocotrienol-enriched flaxseed oil co-encapsulation: Physicochemical properties, probiotic viability, oxidative stability, and sensorial acceptability. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643823009672>
- Tagg, J., McGiven, A. (1971). Assay System for Bacteriocins. *Appl Microbiol*;21(5):943–943. Available from: <https://journals.asm.org/journal/am>
- Taylor, M., Zhu, M. (2021). Control of *Listeria monocytogenes* in low-moisture foods. *Trends Food Sci Technol*. Oct 1;116:802–14.
- Torres, G., Vargas, K., Reyes-Vélez, J., Jiménez, N., Blanchard, A., Olivera-Angel, M. (2023). High genetic diversity and zoonotic potential of *Staphylococcus aureus* strains recovered from bovine intramammary infections in Colombian dairy herds. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 93(52) 3-34
- Torres, G., Vargas, K., Sánchez-Jiménez, M., Reyes-Velez, J., Olivera-Angel, M. (2019). Genotypic and phenotypic characterization of biofilm production by *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine intramammary infections in Colombian dairy farms. *Heliyon*. 5(10): 34-45.
- Vallejo M, Ledesma P, Anselmino L, Marguet E. (2014). Efecto de las condiciones de crecimiento y composición del medio de cultivo sobre la producción de bacteriocina de *Enterococcus mundtii* Tw56 Effect of growth conditions and culture medium composition on bacteriocin production by *Enterococcus mundtii* Tw56. Vol. 16, *Rev. Colomb. Biotecnol*.
- Vera Mejía R, Sánchez Miranda L, Zambrano Gavilares P, Rodríguez Perdomo Y. (2021). Obtención de un candidato a probiótico de *Lactobacillus plantarum* 22 LMC a partir de un medio de cultivo natural con materias primas agroindustriales. *Rev Salud Anim [Internet]*, 43(3):1–6. Available from: <http://revistas.censa.edu.co/index.php/RSA/article/view/1176>
- Zheng, Y., Gracia, A., Hu, L. (2023). Predicting Foodborne Disease Outbreaks with Food

Safety Certifications: Econometric and Machine Learning Analyses. Journal Food Protein [Internet]. 86(9):100136. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2023.100136>