

UCUENCA

Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Bioquímica y Farmacia

**“Efecto antimicrobiano de bacteriocinas producidas por bacterias ácido
lácticas y su aplicación tecnológica en productos lácteos: revisión
bibliográfica”.**

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Bioquímico
Farmacéutico

Autora:

Yanara Mabel Caicedo Rodríguez

CI: 1600569436

Correo electrónico: yanaracaicedo@gmail.com

Tutora:

Bqf. Jéssica Andrea León Vizñay Mgt.

CI: 0104848098

Cuenca, Ecuador

22-septiembre-2022

RESUMEN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) se utilizan ampliamente en la producción de alimentos por su capacidad de sintetizar metabolitos que favorecen al desarrollo de características sensoriales deseadas y sustancias antimicrobianas como los ácidos orgánicos y las bacteriocinas. Las bacteriocinas de las BAL son péptidos antimicrobianos que inhiben bacterias filogenéticamente relacionadas, aunque también pueden presentar actividad de amplio espectro. Estas características han atraído al interés científico para el desarrollo de nuevos métodos de conservación de alimentos. Por tanto, se realizó una revisión bibliográfica sistematizada con el objetivo de identificar y analizar la evidencia científica disponible sobre el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas producidas por las BAL para conocer su espectro antimicrobiano y los métodos tecnológicos de aplicación en productos lácteos. Durante la fase búsqueda en las bases de datos PubMed, Sciencedirect y Scopus, se recopilaron 29 artículos que fueron sometidos al análisis y síntesis de la información. Se determinó que los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Pediococcus* son productores de bacteriocinas activas contra *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. perfringens* y *B. cereus*, bacterias patógenas que contaminan frecuentemente los lácteos. Con la aplicación de BAL bacteriocinogénicas o de sus bacteriocinas como aditivos, incorporadas en films o recubrimientos comestibles se logra inhibir efectivamente el crecimiento de patógenos causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos y agentes del deterioro a través de la liberación de bacteriocinas activas sin afectar significativamente las propiedades sensoriales y fisicoquímicas. De esta manera, la aplicación de las BAL bacteriocinogénicas constituye una alternativa a los conservantes artificiales y garantizan la conservación de los alimentos e inocuidad alimentaria.

Palabras claves: Bacteriocinas. Bacterias ácido lácticas. Antimicrobiano. Conservación. Lácteos.

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are widely used in food production for their ability to synthesize metabolites that favor the development of desired sensory characteristics and antimicrobial substances such as organic acids and bacteriocins. LAB bacteriocins are antimicrobial peptides that inhibit phylogenetically related bacteria, although they may also exhibit broad-spectrum activity. These characteristics have attracted scientific interest for the development of new methods of food preservation. Therefore, a systematized bibliographic review was carried out with the objective of identifying and analyzing the available scientific evidence on the antimicrobial effect of the bacteriocins produced by LAB in order to know their antimicrobial spectrum and the technological methods of application in dairy products. During the search phase in the PubMed, Sciencedirect and Scopus databases, 29 articles were collected and submitted to the analysis and synthesis of the information. It was determined that the *genera Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus* and *Pediococcus* are producers of bacteriocins active against *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. perfringens* and *B. cereus*, pathogenic bacteria that frequently contaminate dairy products. With the application of bacteriocinogenic LAB or its bacteriocins as additives, incorporated into edible films or coatings, it is possible to effectively inhibit the growth of pathogens that cause foodborne diseases and spoilage agents through the release of active bacteriocins without significantly affecting the sensory and physicochemical properties. In this way, LAB bacteriocins constitute an alternative to artificial preservatives and guarantee food preservation and food safety.

Keywords: Bacteriocins. Lactic acid bacteria. Antimicrobial. Conservation. Dairy products

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
AGRADECIMIENTO	10
DEDICATORIA	11
INTRODUCCIÓN	12
OBJETIVOS	15
Objetivo general.....	15
Objetivos específicos	15
1. MARCO TEÓRICO.....	16
1.1 Bacterias ácido lácticas	16
1.1.1 Características generales.....	16
1.1.2 Características morfológicas.....	16
1.1.3 Características metabólicas.....	17
- Fermentación homoláctica o vía glucolítica EMP.....	17
- Fermentación heteroláctica.....	20
1.2 Productos metabólicos de importancia tecnológica.....	21
1.2.1 Metabolismo de citrato	21
1.2.2 Producción de ácido propiónico.....	22
1.2.3 Metabolismo de proteínas y compuestos nitrogenados	22
1.3 Clasificación de las BAL	23

1.3.1 Clasificación según su metabolismo	23
- Homofermentativas.....	23
- Heterofermentativas	23
1.3.2 Clasificación según la temperatura de crecimiento	23
- Mesófilas.....	23
- Termófilas	24
1.4 Bacteriocinas.....	24
1.4.1 Clasificación de las bacteriocinas	24
Clase I	24
Clase II.....	25
1.5 Leche y sus derivados	26
1.6 Métodos de conservación de lácteos.....	29
1.6.1 Métodos físicos	29
1.6.2 Métodos químicos.....	30
1.6.3 Métodos biológicos.....	30
2. METODOLOGÍA	31
2.1 Tipo de investigación.....	31
2.2 Fases de la investigación.....	31
2.2.1 Búsqueda.....	31

- Parámetros de inclusión y exclusión	32
2.2.2 Evaluación.....	33
2.2.3 Análisis	35
2.2.4 Síntesis	35
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
3.1 Lactococcus.....	37
Espectro: bacterias gram positivas.....	38
Espectro: bacterias gram negativas	38
3.2 Lactobacillus	42
Espectro: bacterias gram positivas.....	43
Espectro: bacterias gram negativas	43
3.3 Streptococcus	44
3.4 Pediococcus.....	46
3.5 Estabilidad de las bacteriocinas de BAL	49
3.6 Factores que limitan el efecto antimicrobiano in situ	50
3.7 Aplicaciones tecnológicas de BAL bacteriocinogénicas en lácteos	51
a) Recubrimientos comestibles a base de biopolímeros	52
b) Making powder con bacteriocinas.....	55
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	57

4.1 Conclusiones	57
4.2 Recomendaciones	58
5. BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXOS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Proceso de elaboración de queso	27
Figura 2 Procedimiento general de la elaboración de yogur.....	28
Figura 3 Vía glucolítica	19
Figura 4 Fase fermentativa	20
Figura 5 Flujograma de las fases de búsqueda y evaluación de los estudios recuperados	34
Figura 6 Frecuencia con la que se presentaron los principales géneros de BAL productoras de bacteriocinas	36
Figura 7 Síntesis del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas producidas por el género Lactococcus.....	40
Figura 8 Queso sin recubrimiento y con recubrimiento de alginato-maltodextrina-glicerol	54
Figura 9 Polvo (making powder) que contiene pediocina PA-1 y su actividad en el recuento de carga microbiana total	56

ÍNDICE DE TABLAS

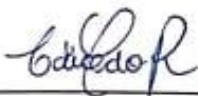
Tabla 1 Número de artículos recuperados en cada base de datos	32
Tabla 2 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género Lactococcus y sus aplicaciones	37
Tabla 3 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género Lactobacillus y sus aplicaciones	43
Tabla 4 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género Streptococcus y sus aplicaciones	45
Tabla 5 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género Pediococcus y sus aplicaciones	46
Tabla 6 Estabilidad de las bacteriocinas producidas por las BAL	50

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

YANARA MABEL CAICEDO RODRÍGUEZ en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación *"Efecto antimicrobiano de bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación tecnológica en productos lácteos: revisión bibliográfica"*, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 22 de septiembre de 2022



Yanara Mabel Caicedo Rodríguez

C.I: 1600569436

Cláusula de Propiedad Intelectual

YANARA MABEL CAICEDO RODRÍGUEZ, autora del trabajo de titulación *"Efecto antimicrobiano de bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación tecnológica en productos lácteos: revisión bibliográfica"*, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 22 de septiembre de 2022



Yanara Mabel Caicedo Rodríguez

C.I: 1600569436

AGRADECIMIENTO

A mis padres,

Quienes me apoyaron durante todo el proceso de formación y creyeron en mí desde el primer día. Gracias por cada palabra de aliento, cada abrazo y por su amor incondicional.

A los docentes que supieron inspirar a través de su enseñanza, lograron en mí la motivación para ampliar mi conocimiento y desarrollar las habilidades que me acompañarán toda mi vida. En especial, a la dra. Jessica León, quien me acompañó en el proceso de elaboración de este trabajo como tutora.

A mis compañeros y amigos que fueron parte de mi vida estudiantil, quienes se quedaron en los buenos y malos momentos y me ayudaron ante las adversidades que se presentan al vivir lejos del hogar. Fueron y son mi familia.

DEDICATORIA

Dedico este logro a mis padres, Daly y Mery, pues, lucharon incansablemente para sostenerme y guiarme en cada paso hasta llegar a ser profesional. Es por ellos que soy una mujer fuerte y capaz de lograr mis metas.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) han sido empleadas por siglos en la producción de alimentos por su capacidad de generar características sensoriales deseadas, incrementar la digestibilidad e inhibir microorganismos causantes de deterioro y patógenos (Tulini et al., 2016). Conforman un grupo heterogéneo de bacterias gram positivas con metabolismo fermentativo que liberan moléculas con propiedades antimicrobianas como: ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, acetoína, diacetilo y bacteriocinas (Georgalaki et al., 2013; Ribeiro et al., 2014). Las bacteriocinas de las BAL son compuestos antimicrobianos proteínicos sintetizados a través de ribosomas como mecanismo de defensa que generalmente inhiben o eliminan a otras bacterias de su grupo, aunque también pueden presentar actividad de amplio espectro (Georgalaki et al., 2013; Tulini et al., 2016). En la producción de derivados lácteos fermentados o madurados se añaden diferentes cultivos iniciadores de BAL, por lo tanto, la aplicación de cepas bacteriocinogénicas constituye un método de conservación favorecedor debido a que simultáneamente al proceso de fermentación producen bacteriocinas. Por otro lado, estas también pueden ser purificadas o semipurificadas y aplicadas directamente en la formulación del alimento como aditivo (Silva, Silva, & Ribeiro, 2018).

En América Latina, cada año se pierde alrededor del 18% de los productos lácteos incluso antes de que lleguen al mercado (Gustavsson, Cederberg, Sonesson, Otterdijk, & Meybeck, 2011). Las causas del deterioro incluyen la manipulación deficiente, el transporte o almacenamiento inadecuados, la falta de capacidad de la cadena de frío (FAO, 2020), dando lugar a contaminación y desarrollo de microorganismos productores de enzimas proteolíticas y lipolíticas que confieren al producto final un sabor amargo, rancio, afrutado y coagulan la caseína (Iramain et.al, 2005).

Además, la producción de gas es causante del efecto de “hinchamiento tardío” en los productos lácteos envasados (Reginensi et.al., 2014).

En la actualidad, con el fin de controlar la calidad microbiológica de los lácteos, efectivamente se utilizan procesos como: pasteurización, refrigeración, y el uso de conservantes químicos (FAO, 2011). Con esto, se ha logrado evitar la proliferación de microorganismos agentes del deterioro, así como, aquellos que son causantes de infecciones o intoxicaciones alimentarias. No obstante, debido a los problemas de salud atribuidos a los aditivos alimentarios de origen químico, la tendencia de consumo de productos con ingredientes naturales se encuentra en auge. Asimismo, existe un aumento de la demanda de alimentos mínimamente procesados que aseguren las propiedades nutritivas y sensoriales (Settier et al., 2020).

En los últimos años, la aplicación de BAL bacteriocinogénicas han atraído al interés científico, pues, demuestran un papel funcional en la conservación de múltiples alimentos, incluidos los derivados lácteos por su capacidad de inhibir una variedad de microorganismos gram positivos y negativos dentro de los cuales se encuentran los agentes del deterioro y patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) (Fernández, Chanci, Wilches, & Cardona, 2014) (Silva et al., 2018).

Es relevante ampliar el conocimiento sobre el uso de las bacteriocinas, pues, además de que únicamente la nisina está comercialmente disponible y ha sido designada como sustancia generalmente reconocida como segura (GRAS) por la Administración de alimentos y medicamentos (FDA), su aplicación no se ha extendido y se continúan utilizando aditivos químicos (Sonbol et al., 2020). A pesar de los beneficios de la nisina, existen algunas limitaciones en su aplicación, como la disminución de estabilidad y, por lo tanto, la pérdida de actividad a pH de 7.0

a 5.0 (un rango común para los productos lácteos); además, su eficacia contra bacterias gram negativas es baja (Liu et al., 2016) por lo que su uso no garantiza completamente la inocuidad de los alimentos.

Por todo lo expuesto anteriormente, se realizó una revisión bibliográfica sistematizada con el objetivo de identificar y analizar la evidencia científica disponible sobre el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas producidas por BAL en lácteos para conocer su espectro antimicrobiano y los métodos tecnológicos de aplicación. Con esto, se pretende establecer el uso de las bacteriocinas de BAL como una alternativa a los conservantes artificiales que garantiza efectivamente la conservación de los alimentos e inocuidad alimentaria.

OBJETIVOS

Objetivo general

Revisar la evidencia científica disponible sobre el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y los métodos de aplicación desarrollados en los últimos 10 años para conservar productos lácteos.

Objetivos específicos

- Identificar los géneros de BAL que producen bacteriocinas con efecto antimicrobiano frente a microorganismos causantes del deterioro y de agentes etiológicos de enfermedades transmitidas por alimentos que se encuentran principalmente en lácteos.
- Exponer los métodos tecnológicos de aplicación de las BAL productoras de bacteriocinas en productos lácteos (leche, queso, yogur).
- Sintetizar la información obtenida mediante la sistematización de la búsqueda y análisis de estudios científicos originales que reporten el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas de BAL y/o su aplicación.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Bacterias ácido lácticas

1.1.1 Características generales

Las BAL conforman un grupo heterogéneo de bacterias grampositivas que tienen en común la propiedad metabólica de producir ácido láctico (Coelho et al., 2014). Se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza en ambientes ricos en nutrientes, sobre todo, en alimentos crudos (Abbasiliasi et al., 2012), pueden ser aisladas de la tierra, e incluso en el tracto digestivo y vaginal de algunos mamíferos. Las BAL pertenecen al phylum Firmicutes, el cual, está conformado por alrededor de 20 géneros, de los cuales destacan: *Aerococcus*, *Alloinococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactosphaera*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weisella*. Siendo los más importantes en la producción de alimentos: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc* (Ramírez, Velázquez, Ulloa, & Arce, 2011).

Son bacterias no toxigénicas, no producen oxidasa, catalasa y no reducen nitratos (Sánchez & Tromps, 2014). Su requerimiento nutricional consiste en aminoácidos, carbohidratos simples como glucosa y lactosa, ácidos nucleicos y vitaminas del grupo B, por lo tanto, crecen en medios de cultivo complejos (Parra, 2010)

1.1.2 Características morfológicas

En cuanto a la morfología, la mayor parte de los géneros de este grupo son cocos o bacilos gram positivos, no formadores de esporas, que son inmóviles y carecen de flagelos (Parra, 2010). Macroscópicamente las colonias formadas en medios de cultivo sólidos como agar de Man, Rogosa & Sharpe (MRS) (pH de 6.5 ± 0.2) a 37 °C en condiciones anaerobias por 24 h, presentan

una gran variedad morfológica: bordes circulares o irregulares, ondulados o lisos; la superficie convexa o plana; son de color blanco, amarillento o rojizo; y de aspecto pueden ser opacas, cremosas o brillantes (Morales, Adriano, Gálvez, Rosas, & Vázquez, 2020).

1.1.3 Características metabólicas

Las BAL son microorganismos quimiótrofos, es decir que, la obtención de energía se basa en la oxidación de compuestos químicos, principalmente azúcares simples como las hexosas. Su metabolismo es anaeróbico facultativo, en el que mediante la fermentación de carbohidratos se produce ácido láctico como metabolito principal. No poseen actividad respiratoria debido a la carencia de enzimas citocromo, por lo que no utilizan la fosforilación oxidativa con oxígeno como aceptor de electrones. Pese a su metabolismo anaerobio, algunos géneros son aerotolerantes o microaerófilos, pues, son capaces de formar colonias en medios de cultivo sólidos aún en presencia de oxígeno. A partir de los carbohidratos fermentables utilizados como fuente de energía, producen ácido láctico mediante la degradación de hexosas a lactato (metabolismo homofermentativo) y otros metabolitos como el acetato, etanol, formato, succinato y dióxido de carbono (metabolismo heterofermentativo) (Parra, 2010).

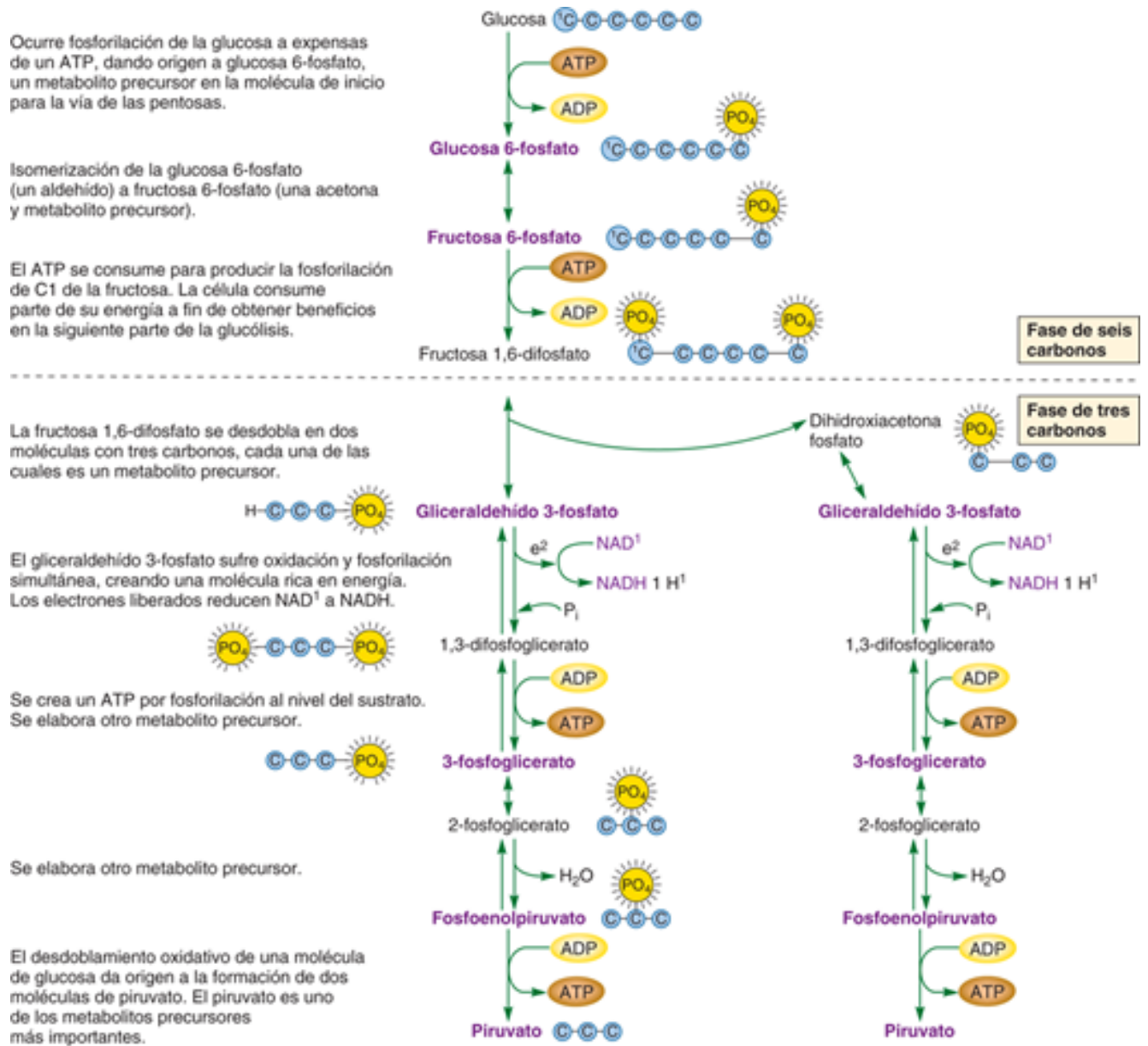
Las rutas metabólicas de las BAL para la fermentación de carbohidratos son básicamente dos: la fermentación homoláctica, o también denominada ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) y la fermentación heteroláctica (Cervantes, 2020).

- Fermentación homoláctica o vía glucolítica EMP

Se trata de un proceso metabólico en el que se catabolizan glúcidos en ausencia de oxígeno para obtener energía, sin oxidar totalmente la molécula hasta dióxido de carbono y agua, sino que, se obtienen productos fermentativos. Básicamente en este proceso se transforma la glucosa en

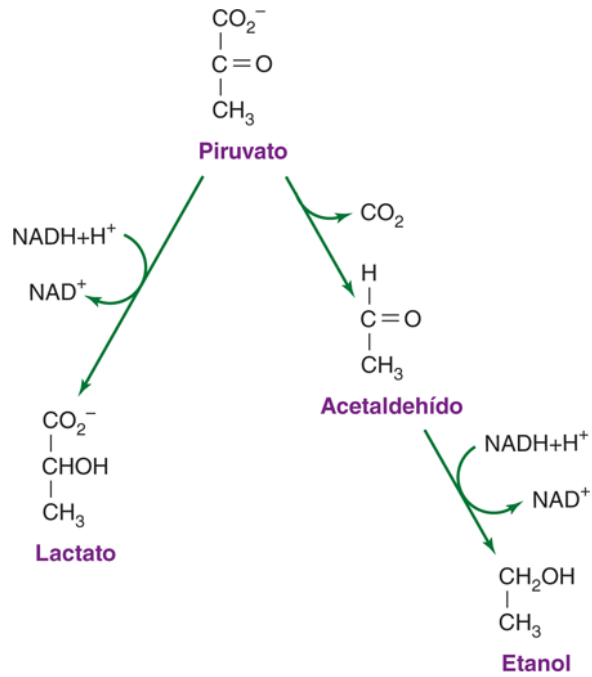
piruvato, el cual, puede seguir las distintas rutas metabólicas; en este caso, la fermentación homoláctica (Fig. 3). En la primera fase de esta vía se da la glucólisis mediada por las enzimas cinasa y aldolasa, donde la glucosa es transformada en una hexosa fosfato y luego, a dos moléculas de triosa fosfato. Posteriormente, se desarrollan 4 reacciones de fosforilación que forman dos moléculas de piruvato a partir de las dos triosas fosfato, a su vez, debido a la oxidación de este paso el cofactor NAD^+ se reduce a NADH. Siguiendo con la fase fermentativa (Fig.4), NADH dona los electrones captados y se oxida a NAD^+ para obtener el equilibrio redox, y mediante la lactato deshidrogenasa el piruvato se reduce a lactato. De manera alternativa, puede darse la descarboxilación del piruvato para formar acetaldehído y por oxidación de NADH se transforma a etanol (Cervantes, 2020) (Carroll et al., 2016).

Figura 1 Vía glucolítica. Fuente: Carroll et al., (2016)



Fuente: Karen C. Carroll, Stephen A. Morse, Timothy A. Mietzner, Steve Miller: Microbiología médica, 27e: www.accessmedicina.com
Derechos © McGraw-Hill Education. Derechos Reservados.

Figura 2 Fase fermentativa. Fuente: Carroll et al., (2016)

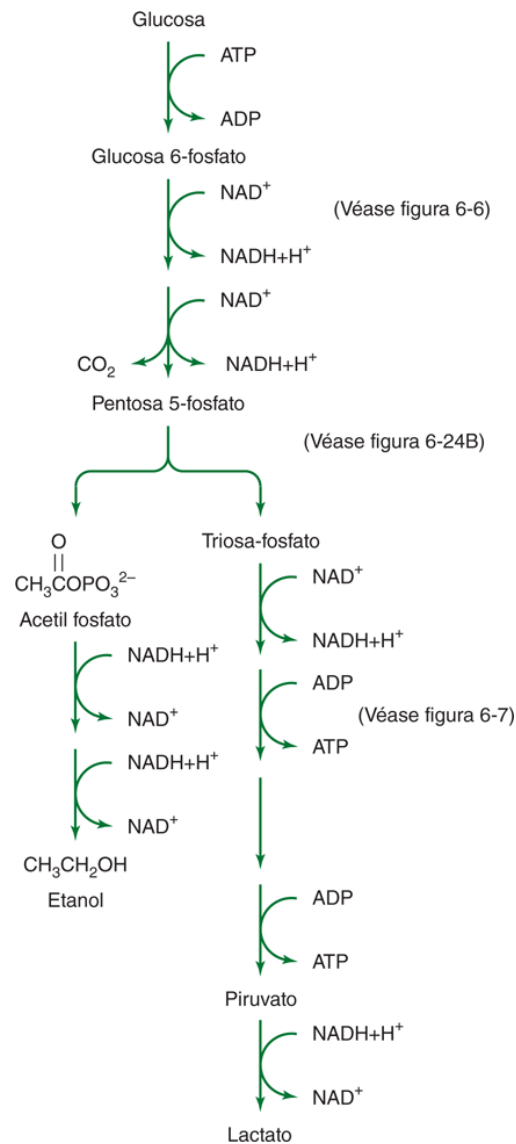


Fuente: Karen C. Carroll, Stephen A. Morse, Timothy A. Mietzner, Steve Miller:
Microbiología médica, 27e: www.accessmedicina.com
 Derechos © McGraw-Hill Education. Derechos Reservados.

- Fermentación heteroláctica

Esta ruta depende de la enzima fosfoacetolasa que interviene en el desdoblamiento de la pentosa fosfato (proveniente de la descarboxilación de glucosa 6-fosfato) para formar acetil fosfato y triosa fosfato, moléculas que se transforman en etanol y lactato, respectivamente, mediante subsecuentes reacciones fosforolíticas y de reducción (Fig. 5) (Carroll et al., 2016).

Figura 5 Reacciones de la fermentación heteroláctica. Fuente: Carroll et al., (2016)



Fuente: Karen C. Carroll, Stephen A. Morse, Timothy A. Mietzner, Steve Miller: *Microbiología médica*, 27e: www.accessmedicina.com
Derechos © McGraw-Hill Education. Derechos Reservados.

1.2 Productos metabólicos de importancia tecnológica

1.2.1 Metabolismo de citrato

Se da mediante fermentación heteroláctica donde la degradación del ácido cítrico resulta en la formación de productos finales metabólicos como diacetilo, acetaldehído, acetoína, 2,3-butanodiol y dióxido de carbono, que influyen significativamente en el aroma y la textura de los

alimentos fermentados (Ribeiro et al., 2014), además los productos de la fermentación del citrato presentan efecto antimicrobiano. Especies como *Leuconostoc citrovorum* y *Streptococcus diacetilactis* presentan esta capacidad metabólica y es aprovechada en la producción de mantequilla y quesos madurados. No todas las BAL tienen la capacidad de metabolizar citrato, por lo que este comportamiento puede diferir entre especies y cepas (Parra, 2010).

1.2.2 Producción de ácido propiónico

BAL heterofermentativas son utilizadas por su capacidad de transformar ácido láctico en ácido propiónico y acético, desprendiendo dióxido de carbono. Este último produce la forma ahuecada de algunos quesos (Parra, 2010).

1.2.3 Metabolismo de proteínas y compuestos nitrogenados

La actividad proteolítica de las BAL es limitada y depende de la cepa que se utilice en el cultivo iniciador. Por lo tanto, se necesita la adición de aminoácidos al medio de cultivo, pues, la mayoría de BAL depende de por lo menos un aminoácido esencial para su crecimiento (Cervantes, 2020).

Algunas BAL son capaces de hidrolizar proteínas mediante un sistema proteolítico conformado por: proteinasas ligadas a la pared celular, sistemas de transporte de oligopéptidos y aminoácidos y peptidasas intracelulares; transformando así los péptidos en aminoácidos libres, lo que les permite asimilarlos, por ende, se desarrollan en alimentos proteicos. Esta característica resulta de interés en la industria de alimentos, sobre todo en la industria láctea, debido a que los productos de la proteólisis de la caseína son moléculas que producen aroma como alcoholes, ésteres, ácidos y compuestos sulfurados (Cervantes, 2020). Es así que, junto con la actividad lipolítica permite la formación de compuestos responsables de sabor y aroma en algunas

variedades de quesos madurados, mediante la transformación enzimática de aminoácidos y la formación de ácidos orgánicos como el ácido acético, propiónico e isobutírico (Parra, 2010).

1.3 Clasificación de las BAL

1.3.1 Clasificación según su metabolismo

En base a lo expuesto en la sección anterior, las BAL pueden clasificarse según las rutas metabólicas que utilizan en: homofermentativas y heterofermentativas.

- ***Homofermentativas***

Son aquellas BAL que utilizan la ruta EMP para transformar 1 mol de glucosa en 2 moles de ácido láctico y 2 ATP. Las BAL homofermentativas carecen de fosfatocetolasa, por lo que, únicamente pueden utilizar la vía de EMP para la asimilación de carbohidratos. Este grupo está conformado por los géneros: *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Streptococcus* y algunos *Lactobacillus* (Cervantes, 2020) (Parra, 2010).

- ***Heterofermentativas***

Son BAL que utilizan la vía heterofermentativa o vía de las pentosas fosfato para desdoblar la glucosa y producir ácido láctico, a su vez, cantidades significantes ácido acético y/o etanol y dióxido de carbono. Los géneros clasificados en este grupo son: *Oenococcus*, *Weisella*, *Carnobacterium*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* y *Lactobacillus* (Parra, 2010)(Ramírez, Velázquez, Ulloa, & Arce, 2011).

1.3.2 Clasificación según la temperatura de crecimiento

- ***Mesófilas***

Son aquellas BAL que tienen su temperatura óptima de crecimiento en el rango de 20-25°C. Entre las especies de esta clasificación están: *Lactococcus lactis subsp lactis*, *Lactococcus*

lactis subsp cremoris, *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris*, mismas que, pueden ser utilizadas en la producción de kumis y quesos semi madurados (Parra, 2010).

- **Termófilas**

Su temperatura ideal de incubación es de 40-45°C. Incluyen las especies: *Lactobacillus delbrueki subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, las cuales, pueden ser utilizadas en la producción de yogur y quesos madurados (Parra, 2010).

1.4 Bacteriocinas

Son péptidos o polipéptidos antimicrobianos de bajo peso molecular sintetizados ribosómicamente por múltiples bacterias, incluidas las BAL. Generalmente acceden a las células diana uniéndose mediante receptores de la superficie celular (Todorov, 2018). Se ha encontrado que varias cepas de BAL producen bacteriocinas con espectro frente a bacterias grampositivas y gramnegativas (Liu et al., 2016; Rahmeh et al., 2020).

1.4.1 Clasificación de las bacteriocinas

Clase I

Son péptidos termoestables pequeños (<5 kDa) que presentan modificaciones postraduccionales. Comúnmente, son denominados como lantibióticos debido a la presencia de anillos de lantionina y β -metilantionina que surgen por la condensación entre el grupo sulfhidrilo de cisteína y una molécula de serina deshidratada (dehidroalanina) o con treonina deshidratada (dehidrobutirina), respectivamente (Renyé & Somkuti, 2015).

Los lantibióticos son subclasificados en base a su estructura y su modo de acción; la clase Ia corresponde a péptidos alargados, anfifílicos, catiónicos que actúan mediante la formación de poros en la membrana celular de las células diana; dentro de esta clasificación está la nisina, que es un péptido catiónico de 3,5 kDa producido por *Lactococcus lactis subsp. lactis* (Goyal et al., 2018). Existen dos variantes: nisina A y nisina Z, las cuales, tienen ligeras diferencias en su solubilidad y su espectro inhibitorio debido a alteraciones en la distribución de carga dentro de la molécula, donde el aminoácido modificado de la nisina Z altera su carga eléctrica y se vuelve polar, presentando un espectro inhibitorio más alto que la nisina A debido a su mayor capacidad de difusión (Perin et al., 2012).

Por otro lado, la clase Ib incluyen péptidos pequeños, globulares con carga negativa o sin carga neta y se ha propuesto que actúan a través de la inhibición de enzimas específicas (Renye & Somkuti, 2015).

Clase II

Este grupo de bacteriocinas se caracterizan por ser péptidos pequeños (<10kDa), termoestables que no sufren modificaciones postraduccionales. Su actividad antimicrobiana radica en su naturaleza catiónica, la cual, permite interacciones con lípidos aniónicos de la membrana celular de las células diana, resultando en la formación de poros y la subsecuente disipación de la fuerza protón motriz, depleción de ATP, fuga de nutrientes y metabolitos (Renye & Somkuti, 2015).

Las bacteriocinas de clase II han sido agrupadas según su estructura y su modo de acción, de esta manera, la clase IIa consiste en péptidos similares a pediocina que comparten una alta especificidad por inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes*; la mayoría de las bacteriocinas de

clase IIa matan a las células diana mediante la permeabilización de la membrana y la fuga sucesiva de metabolitos intracelulares (Sip et al., 2012). La pediocina PA-1 forma parte de la clase IIa, es eficaz contra *L. monocytogenes* mediante el reconocimiento del receptor de superficie celular del lípido II y su modo de acción se basa en la formación de poros en la membrana celular del microorganismo diana (Martínez et al., 2013). La clase IIb se define como bacteriocinas de dos componentes, las cuales, requieren la presencia de dos péptidos distintos para presentar actividad antimicrobiana óptima. La clase IIc corresponde a péptidos cíclicos y la clase IId a péptidos lineales simples no similares a pediocina (Renyé & Somkuti, 2015).

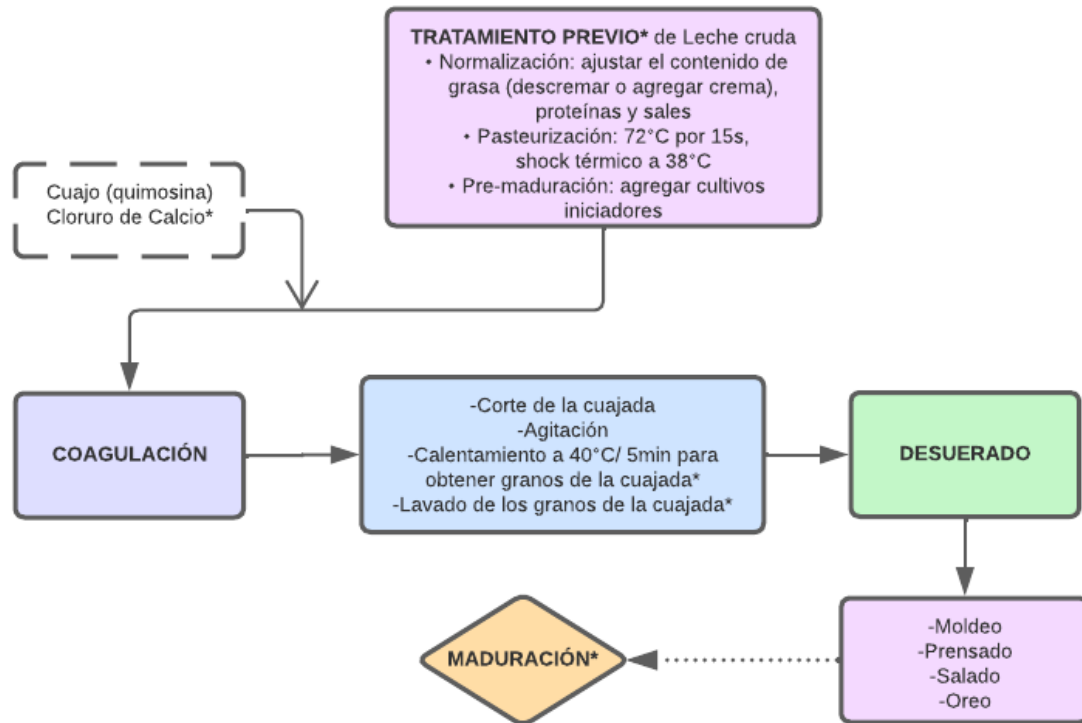
1.5 Leche y sus derivados

La leche es el “producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo” (INEN, 2012). A partir de la obtención de la leche cruda, pueden ser aplicados diferentes tratamientos para la obtención de un derivado lácteo, que por definición es: el producto obtenido mediante la transformación de la leche por diferentes métodos, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para su elaboración (FAO, 2022). Dentro de este grupo de alimentos se encuentran el queso y el yogur, que son los productos lácteos destinados a la revisión en este trabajo.

El queso es un derivado lácteo que se obtiene mediante la coagulación de las proteínas de la leche (caseína) y su separación del suero (FAO, 2022). El proceso de elaboración del queso puede partir con el tratamiento previo de la leche (pasteurización, normalización, pre-maduración) aunque esta fase es opcional; posteriormente se dan dos etapas básicas que son: la coagulación y

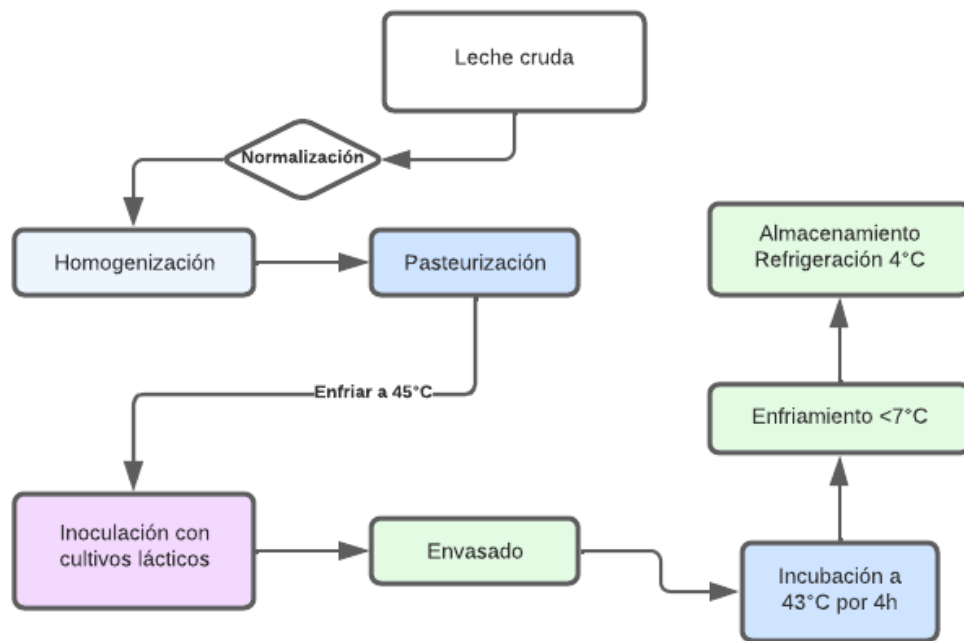
el desuerado, para pasar al moldeado y prensado. Por último, dependiendo del tipo de queso se puede proceder con el afinado o maduración (Fig.1) (Gobierno de España, 2013) (FAO, 2011).

Figura 3 Proceso de elaboración de queso. Fuente: FAO, (2011). Nota. *:opcional.



El yogur es un tipo de leche fermentada obtenida por medio de fermentación láctica, que según el Codex Alimentarius puede ser elaborado a partir de productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en su composición, por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (Fig. 2). Dichos microorganismos pueden ser viables hasta la fecha de duración mínima, a menos que se aplique tratamiento térmico al culminar la fermentación. Los cultivos simbióticos de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* son empleados esencialmente para la producción de yogur (OMS, 2011).

Figura 4 Procedimiento general de la elaboración de yogur. Fuente: (Ruiz & Ramírez, 2009)



Debido a que la leche presenta una actividad acuosa elevada (aproximada a 0,98) (López & Barriga, 2016) y a su composición nutricional, constituye un medio óptimo para el desarrollo microbiano. La contaminación con microorganismos psicrótrofos como: *Pseudomonas spp.* que producen enzimas proteolíticas y lipolíticas termoestables, capaces de resistir la pasteurización, confieren al producto final un sabor amargo, rancio, afrutado y coagulan la caseína (Iramain et.al, 2005). Por su parte, géneros como *Clostridium spp.*, y *Bacillus spp.*, son agentes de descomposición productores de esporas y gas que se consideran causantes del efecto de “hinchado tardío” (Reginensi et.al., 2014).

La leche y sus derivados también pueden presentar agentes etiológicos de ETA como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Brucella abortus* y *Streptococcus*

agalactiae (Aguilera, Urbano, & Jaimes, 2014), los cuales son capaces de producir: diarrea grave, infecciones debilitantes como la meningitis, intoxicaciones agudas y enfermedades crónicas (OMS, 2020).

1.6 Métodos de conservación de lácteos

1.6.1 Métodos físicos

- Refrigeración: es una técnica de conservación a corto plazo basada en la aplicación de frío (0-4°C) con el fin de disminuir la actividad enzimática y el crecimiento microbiano, permitiendo conservar los lácteos durante al menos una semana (Juliarena & Gratton, 2003).
- Pasteurización: consiste en la aplicación de calor a una temperatura inferior a 100°C. Puede realizarse de dos maneras; a alta temperatura: 72-80°C durante 15 segundos y a baja temperatura: alrededor de 62°C por 30 minutos. Mediante este proceso se destruyen microorganismos patógenos y parcialmente los demás microorganismos presentes en la microbiota. Posterior al tratamiento se debe mantener en refrigeración, logrando conservarse hasta por 15 días (Salvatierra, 2019).
- Esterilización: aplicación de calor a temperaturas superiores a 100°C durante 15-20 segundos, eliminando todos los microorganismos presentes en la leche. Brinda un tiempo de conservación de 6 meses. Dentro de este método se categoriza la ultrapasteurización (UHT), que consiste en el calentamiento instantáneo en flujo continuo a 140-150°C durante 2-5 segundos que permite la destrucción completa de todos los microorganismos (Juliarena & Gratton, 2003).

1.6.2 Métodos químicos

A pesar de que generalmente en la manufactura de derivados lácteos se utiliza leche pasteurizada, el uso de ingredientes antimicrobianos representa una excelente oportunidad para mejorar la seguridad de los mismos cuando no se aplican medidas de protección posterior al procesamiento (Lourenço et al., 2017).

Se utilizan como aditivos sustancias químicas que presentan propiedades antimicrobianas, dependiendo del tipo de producto lácteo. Según el Codex Alimentarius, en leches fermentadas, como el yogur, se emplea ácido benzoico y sus sales de sodio, calcio, potasio y también el ácido sórbico, sorbato de sodio, sorbato de calcio y sorbato de potasio; mientras que en quesos pueden utilizarse: ácido sórbico, sorbato de potasio, sorbato de calcio, ácido propiónico, propionatos de calcio, sodio y de potasio y nitratos (FAO, 2011).

1.6.3 Métodos biológicos

Son aquellos que emplean la actividad fermentativa y la producción de otros metabolitos antimicrobianos provenientes de hongos, bacterias o levaduras para la conservación de los alimentos (Juliarena & Gratton, 2003). Dentro de este grupo, destacan las BAL.

2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de investigación

Se realizó una revisión bibliográfica sistematizada empleando las fases de Búsqueda, Evaluación, Análisis y Síntesis en base a las instrucciones del manual Methodological Expectations of Cochrane Intervention Reviews (MECIR) versión 2021.

2.2 Fases de la investigación

2.2.1 Búsqueda

Las bases de datos digitales: PubMed, Sciencedirect y Scopus fueron empleadas para la búsqueda de artículos de investigación originales. Para ejecutar ecuaciones de búsqueda con el uso de formularios de las bases de datos (búsqueda avanzada) se estableció el concepto nuclear: bacteriocinas y los conceptos de anclaje: efecto antimicrobiano, aplicación, bacterias acidolácticas, lácteos, yogur, queso; en sus equivalentes en idioma inglés.

La búsqueda aplicada fue de tipo combinada (parametrizada y booleana) y se formularon las siguientes ecuaciones según cada base de datos:

- **PubMed:** bacteriocin AND (acid lactic bacteria) AND (antimicrobial OR inhibition) AND (preservation) AND (dairy OR yogurt OR cheese) NOT (meat)
- **ScienceDirect:** bacteriocin AND (acid lactic bacteria) AND (antimicrobial OR inhibition) AND (preservation) AND (dairy OR yogurt OR cheese) NOT (meat)
- **Scopus:**
 - a) (TITLE (bacteriocin*) AND TITLE-ABS-KEY ("lactic acid bacteria") AND TITLE-ABS-KEY (antimicrobial) OR TITLE-ABS-KEY (inhib*) OR TITLE-ABS-KEY (preserv*) AND TITLE-ABS-KEY (dairy) OR TITLE-ABS-KEY (cheese)

OR TITLE-ABS-KEY (yogurt) AND NOT TITLE-ABS-KEY (meat)) AND
PUBYEAR > 2011 AND PUBYEAR < 2023;

b) (TITLE-ABS-KEY (bacteriocin*) AND TITLE-ABS-KEY ("lactic acid bacteria")
AND TITLE-ABS-KEY (antimicrobial) OR TITLE-ABS-KEY (preserv*) AND
TITLE-ABS-KEY (application) AND TITLE-ABS-KEY (dairy) OR TITLE-ABS-
KEY (cheese) OR TITLE-ABS-KEY (yoghurt)) AND PUBYEAR > 2011 AND
PUBYEAR < 2023

A partir de la aplicación de las ecuaciones presentadas se recuperaron en total 572 artículos, 26 en PubMed, 268 en ScienceDirect y 178 en Scopus (Tabla 1).

Base de datos	Número de artículos recuperados
PubMed	26
ScienceDirect	368
Scopus	178
TOTAL	572

Tabla 1 Número de artículos recuperados en cada base de datos.

- Parámetros de inclusión y exclusión

La revisión bibliográfica se limita a la obtención de información que abarque el papel funcional de las bacteriocinas de BAL en la conservación de alimentos lácteos y la inhibición de microorganismos patógenos y alterantes que frecuentemente se asocian a estos. Se incluyeron los artículos de investigación originales que: reporten el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas de BAL que tengan aplicación en la manufactura de productos lácteos, estén redactados en inglés o español, hayan sido publicados en los últimos diez años (2012-2022); estudios en los que se haya realizado el aislamiento de BAL y/o la purificación de bacteriocinas por distintos métodos, así como, pruebas de sensibilidad a las bacteriocinas de bacterias gram positivas y negativas patógenas o microorganismos causantes del deterioro.

Se excluyeron: referencias correspondientes a revisiones sistemáticas, metaanálisis, resúmenes de conferencias, capítulos de libros; estudios realizados en matrices alimenticias diferentes a los lácteos; estudios que no reporten con resultados concluyentes sobre el efecto inhibidor de las bacteriocinas de BAL o de su aplicación; artículos que reporten propiedades funcionales de las BAL en nutrición. Finalmente, se excluyó la información relacionada con la producción de bacteriocinas por el género *Enterococcus* que, aunque forma parte del grupo de BAL, generalmente presenta múltiples factores de virulencia y no puede ser aplicable directamente en cultivos para la producción de alimentos.

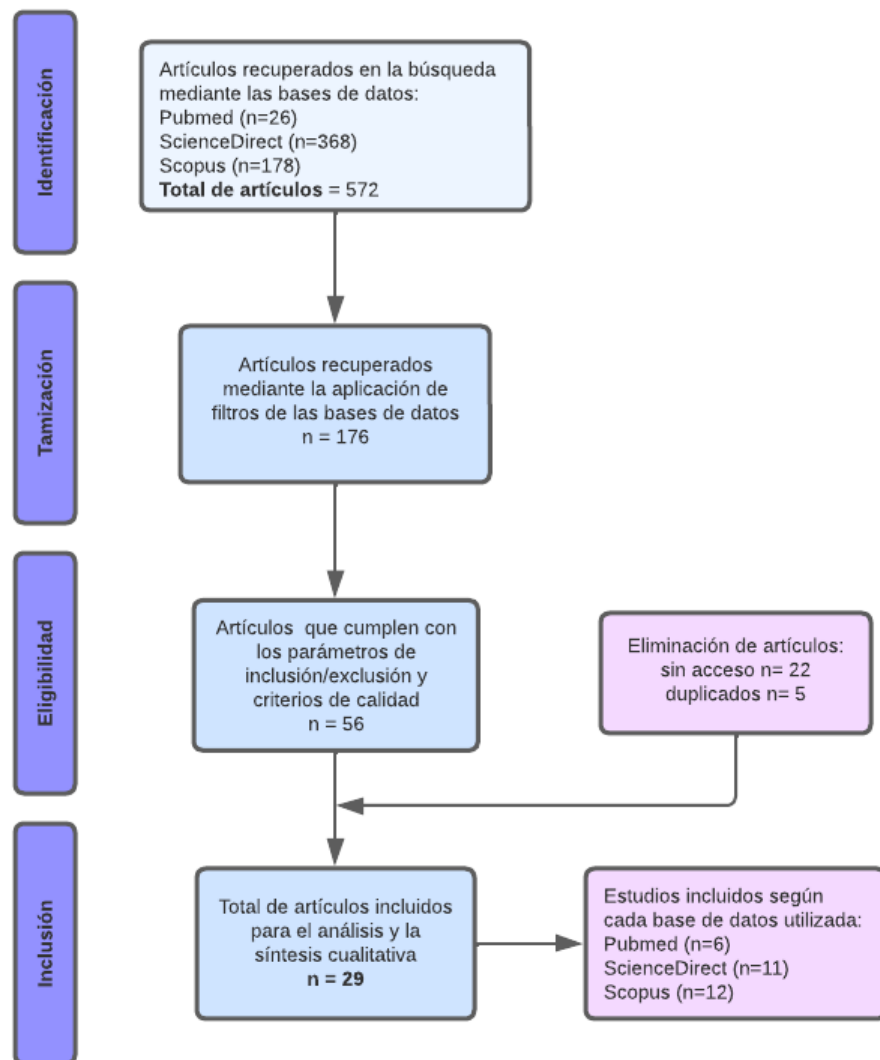
Los 572 artículos identificados por la aplicación de las ecuaciones de búsqueda fueron sometidos a un tamizaje basado en 2 de los criterios de inclusión y exclusión (publicación en el rango de años 2012-2022, tipo de estudio) mediante los filtros de la búsqueda avanzada de las bases de datos, obteniéndose 176 artículos elegibles, con los que se procedió con la lectura del título y resumen para seleccionar aquellos que cumplen con el resto de parámetros y continuar con la siguiente fase.

2.2.2 Evaluación

Aquellos artículos obtenidos en la fase anterior fueron sometidos al análisis de calidad mediante la adaptación del checklist de The Critical Appraisal Skills Program (CASP) para investigaciones cualitativas (Anexo 1) con el objeto de dar un juicio de valor sobre el nivel de evidencia científica. Esta lista consta de 10 preguntas sobre la validez de la metodología y de los resultados obtenidos en los estudios experimentales presentados en artículos científicos, sin embargo, las preguntas 4 y 6 no fueron aplicadas ya que se relacionan con estudios clínicos (estrategia de reclutamiento, relación entre el investigador y participantes). De los 176 artículos

recuperados en la primera fase, 56 artículos cumplieron con todos los parámetros de inclusión/exclusión y los criterios de calidad del CASP, sin embargo, 22 no tienen acceso y 5 consistían en duplicados, por lo que el total de artículos incluidos para la revisión fueron 29 (fig. 5).

Figura 5 Flujograma de las fases de búsqueda y evaluación de los estudios recuperados. Fuente: autora.



2.2.3 Análisis

Los artículos obtenidos fueron exportados al gestor bibliográfico Mendeley para su revisión. La extracción de la información fue almacenada en una base de datos diseñada en Microsoft Excel en la que se codificó cada uno de los artículos y se registraron las siguientes variables: BAL (Género/especie/cepa), Matriz alimenticia analizada, Bacteriocina aislada, Método de análisis de sensibilidad microbiana, Mecanismo de acción, Espectro, Aplicación en lácteos (Anexo 2).

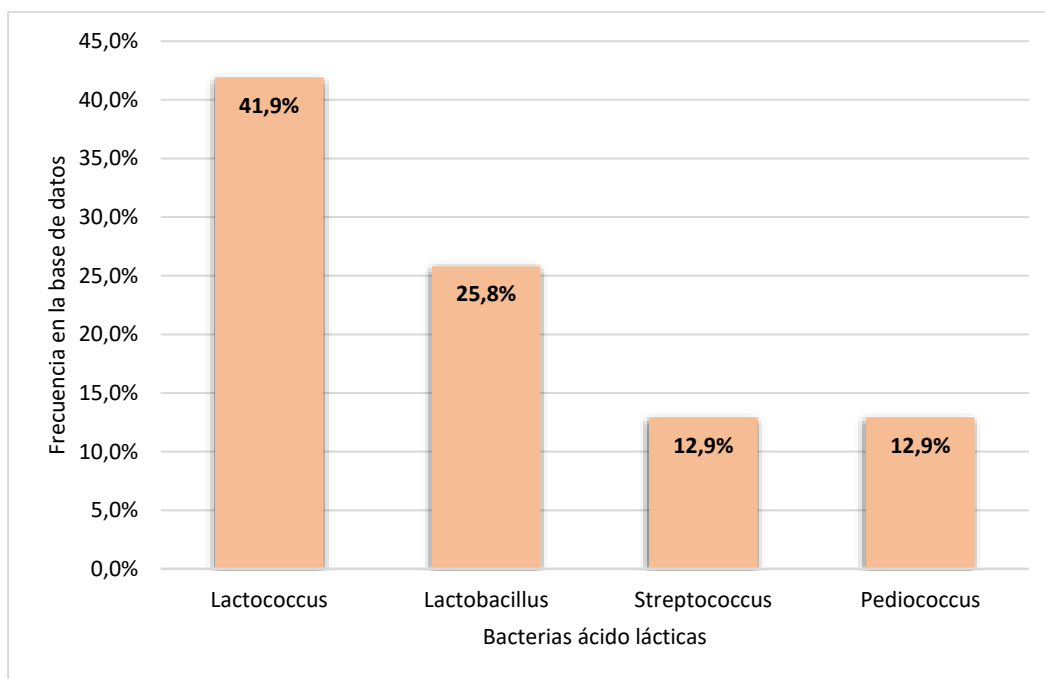
2.2.4 Síntesis

Se realizó la redacción mediante síntesis cualitativa de los datos extraídos, reportando el efecto antimicrobiano por cada género de BAL considerando su espectro y las características tecnológicas que hacen viable su uso, así como los métodos de aplicación de las BAL o de sus bacteriocinas mediante la organización de la información en tablas y esquemas. Para determinar los géneros de BAL bacteriocinogénicas más frecuentemente reportados en los últimos 10 años se emplearon gráficos de barras.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del análisis de los 29 artículos, se encontró que los géneros de BAL más estudiados para la conservación de lácteos mediante la producción de bacteriocinas son: *Lactococcus* (41,9%), *Lactobacillus* (25,8%), *Streptococcus* (12,9%), *Pediococcus* (12,9%) (Fig. 6); mismos que fueron aislados sobre todo de productos lácteos artesanales, principalmente en leche, distintos tipos de quesos, leches fermentadas y suero lácteo. Muchos alimentos fermentados tradicionales y artesanales son un nicho ecológico rico para la detección de BAL con actividades antimicrobianas dado que estos alimentos son frecuentemente producidos sin el uso de cultivos iniciadores, solo por la microbiota autóctona presente en la leche y el medio ambiente (Sip et al., 2012).

Figura 6 Frecuencia de aplicación de BAL productoras de bacteriocinas en la conservación de lácteos.



A continuación, se presenta la síntesis de la evidencia sobre efecto antimicrobiano de las bacteriocinas producidas por las BAL según su género.

3.1 Lactococcus

Este género ha sido reportado mayoritariamente como productor de bacteriocinas con aplicación tecnológica en lácteos, dentro del cual, las especies: *Lc. lactis*, *Lc. garvieae* y *Lc. mesenteroides* producen múltiples bacteriocinas y presentan diferentes espectros antimicrobianos (Tabla 2) (Fig. 7).

Tabla 2 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género *Lactococcus* y sus aplicaciones. Nota. BLS: Bacteriocin like substances, bacteriocinas no identificadas.

BAL analizada: Género/ especie	Bacteriocina	Espectro	Aplicación en lácteos	Autores
<i>Lc. lactis</i>	BLS	<i>L. monocytogenes</i> <i>C. perfringens</i>	Cultivos protectores	Ribeiro et al., 2014
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i>	Nisina	<i>L. monocytogenes</i>	Films hidrosolubles	Settier et al., 2020
<i>Lc. lactis</i> L3A21M1	Nisina	<i>Aerobios mesófilos</i> <i>L. monocytogenes</i>	Recubrimiento comestible antimicrobiano	Silva et al., 2022
<i>Lc. garvieae</i> SJM17	Garvicina			
<i>Lc. lactis subsp. cremoris</i> 40FEL3	Nisina A Nisina Z Lacticina	<i>L. monocytogenes</i>	Cultivos iniciadores	Dal Bello et al., 2012
<i>Lc. garvieae</i> 428Lab	Bacteriocinas clase IIa	<i>L. monocytogenes</i>	Cultivos iniciadores o protectores	Sip et al., 2012
<i>Lc. mesenteroides</i> 25Lab				
<i>Lc. lactis</i> NZ9000	Ent35-MccV (enterocina híbrida)	<i>L. monocytogenes</i> <i>E. coli</i>	Cultivos protectores	Acuña et al., 2020
<i>Lc. lactis</i>	BLS	<i>Listeria spp.</i>	Suero como medio de cultivo	Chaves et al., 2017
<i>Lactococcus spp.</i>	Nisina Z Nisina A	<i>Listeria spp</i> <i>S. aureus</i> BAL	Cultivos protectores	Perin et al., 2012
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i>	Nisina Z	<i>L. monocytogenes</i> <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. coli</i> <i>Yersinia</i> <i>Citrobacter</i> <i>Proteus</i> <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Serratia</i>	Cultivos protectores	Goyal et al., 2018
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i> BGBU1-4	Lactolisterina BU	<i>L. monocytogenes</i> <i>S. aureus</i> Mohos y levaduras	Cultivos protectores	Mirkovic et al., 2020
<i>Lc. lactis</i>	BLS	<i>L. monocytogenes</i>	Cultivos protectores	Coelho et al., 2014
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i> A15	Nisina Z	<i>L. monocytogenes</i>	Cultivos protectores	El-Ghaish et al., 2016

Espectro: bacterias gram positivas

Lc. lactis exhibe una gran capacidad productora de bacteriocinas categorizadas dentro de la clase I tipo A (lantibióticos) como son: nisina (Lourenço et al., 2017; Settler et al., 2020) y sus variedades: nisina A y nisina Z, así como de la clase II: lacticina (Dal Bello et al., 2012; Goyal et al., 2018), las cuales presentan un marcado efecto inhibitorio contra bacterias grampositivas, sobre todo frente a *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y otras BAL (Coelho et al., 2014; Goyal et al., 2018; Perin et al., 2012; Ribeiro et al., 2014). Estudios recientes corroboran la actividad antimicrobiana in situ de *Lc. lactis* contra diferentes cepas de *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Lactobacillus plantarum* PFC339, *Enterococcus faecalis* PFC340, *Lactobacillus delbrueckii subsp lactis* PFC34 (Kaya & Simsek, 2019).

Otras especies de lactococos productoras de bacteriocinas son *Lactococcus garvieae* y *Lactococcus mesenteroides*, también con actividad contra *L. monocytogenes*, sin embargo, las bacteriocinas producidas por estas pertenecen a la clase IIa (Sip et al., 2012).

Espectro: bacterias gram negativas

La actividad inhibitoria de *Lc lactis* contra bacterias gram negativas parece ser limitada y depende de la cepa. Se ha encontrado que *Lc. lactis subsp. lactis* IL1403 produce nisina Z, la cual, en su forma semipurificada mediante precipitación con sulfato de amonio es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias gram positivas (las anteriormente mencionadas) y gram negativas: *E. coli*, *Yersinia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Serratia* (Goyal et al., 2018). La insensibilidad de las bacterias gram negativas frente a lantibióticos se debe a la presencia de una membrana externa protectora que cubre la membrana citoplasmática y la capa de peptidoglicano;

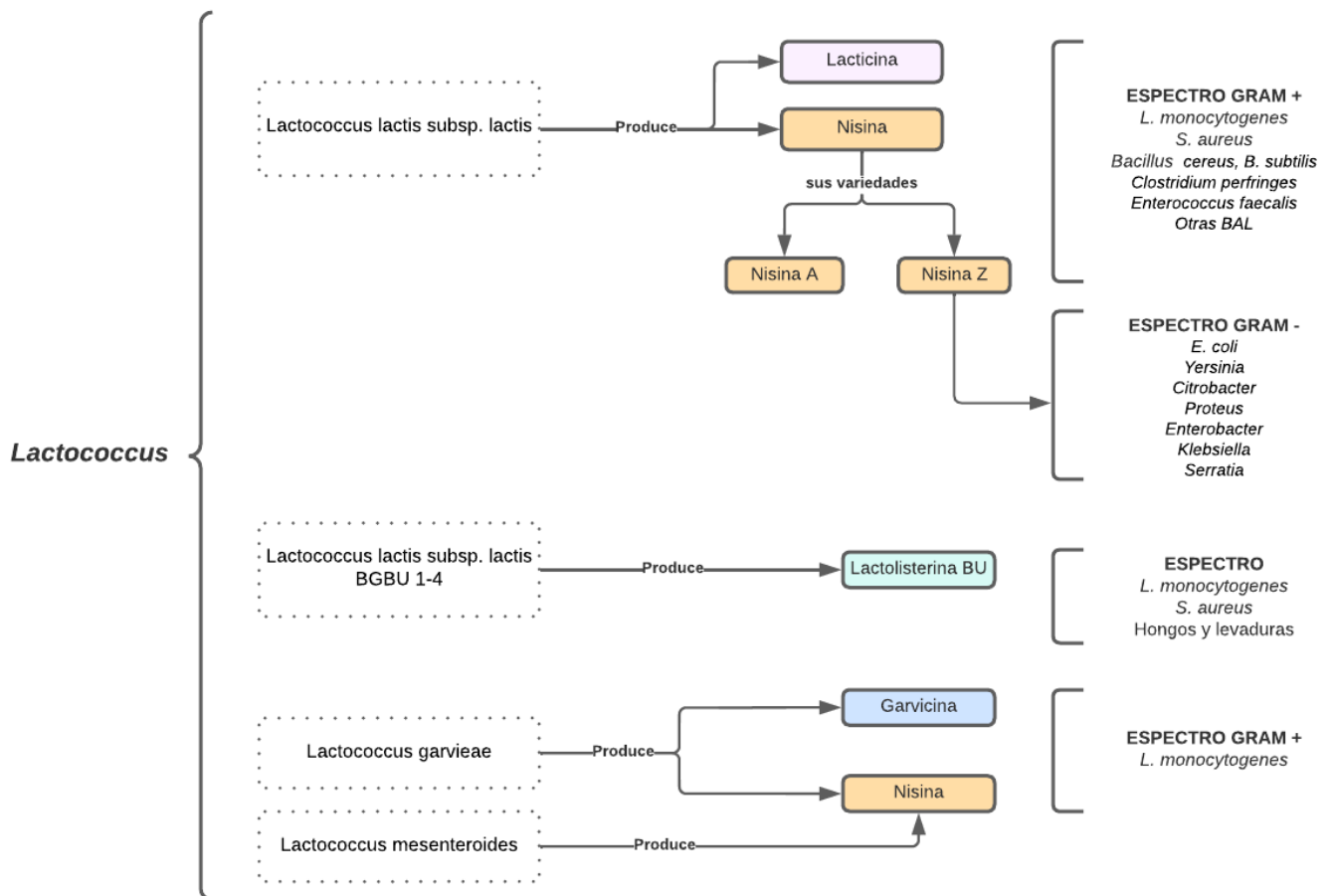
está constituida por un polímero aniónico heterocíclico que forma una capa hidrófila apretada y excluye al dominio hidrófobo N-terminal atacante de la nisina y, por lo tanto, no puede alcanzar su objetivo (Helander & Mattila, 2000). De esta manera, con una concentración mayor de nisina Z disponible se consigue la permeabilización de la membrana citoplasmática de las bacterias gram negativas de forma más eficiente en comparación con la forma no purificada.

No obstante, la actividad antagónica de las bacteriocinas contra bacterias gram negativas no solo se atribuye a la purificación de estas, sino que también puede inducirse mediante bioingeniería como lo afirman Acuña et al., (2020), quienes diseñaron genéticamente un plásmido recombinante (pRUK) para transformar a la cepa de *Lc. lactis* NZ9000 en productora de una bacteriocina híbrida, proveniente de la combinación de genes relacionados con la enterocina CRL35, producida por *Enterococcus mundtii* CRL35 y con la microcina lineal V, producida por *E. coli*. Esta bacteriocina híbrida denominada Ent35-MccV reúne en una sola molécula la acción derivada de sus péptidos antimicrobianos parentales mostrando amplio espectro. *Lc. lactis* NZ9000 (pRUK) es capaz de disminuir el crecimiento de *L. monocytogenes* y *E. coli* en leche descremada debido a la producción de Ent35-MccV, siendo la primera bacteriocina lineal modificada genéticamente producida in situ en lácteos que se utiliza de forma eficaz para controlar patógenos gram negativos y gram positivos transmitidos por los alimentos.

Hallazgos recientes coinciden con que diferentes cepas de *Lc. lactis* (*Lc. lactis* MS22333 y MS22337) son capaces de reducir la población de bacterias gram negativas, entre 0.9 y 6.0 log UFC/ml de *Salmonella Typhimurium* DT12, *Escherichia coli* O157:H7 VT y *Klebsiella pneumoniae* en leche cruda y pasteurizada (Bragason et al., 2020).

Con respecto al amplio espectro, la lactolisterina BU producida por la cepa *Lc. lactis subsp. lactis* BGBU1-4 es capaz de inhibir *L. monocytogenes*, *S. aureus*, además mohos y levaduras durante su almacenamiento por 21 días a 4°C en queso blando (Mirkovic et al., 2020). Lo que sugiere que la cepa BGBU1-4 utilizada como cultivo adjunto potencia el biocontrol de dichos microorganismos patógenos en la producción de queso, que además previene la multiplicación temprana de mohos y levaduras en la superficie de estos, lo que conlleva a un incremento del tiempo de vida útil y la conservación de características sensoriales.

Figura 7 Síntesis del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas producidas por el género *Lactococcus*.



En cuanto a las características tecnológicas, gran parte de las cepas de *Lc. lactis* productoras de bacteriocinas presentan propiedades de: crecimiento a 4-30°C, resistencia a altas concentraciones de sal (hasta 10% de NaCl), acidificación lenta (requiere 48h para alcanzar pH<5); producción de enzimas lipolíticas (esterasas), diacetilo y capacidad autolítica (Ribeiro et al., 2014), lo que indica su viabilidad para la aplicación como cultivos adjuntos.

Estos resultados corroboran otros estudios que informan una pobre producción de ácido por parte de *Lc. lactis*, la ausencia de factores de virulencia, así como la eficacia de inhibición del crecimiento de *L. monocytogenes* (Coelho et al., 2014; El-Ghaish et al., 2017; Lourenço et al., 2017). Sumado a esto Coelho et al., (2014) afirman que las cepas de *Lc. lactis* no alteran las características sensoriales significativamente y que, debido al estatus GRAS de la especie su aplicación en alimentos es idónea.

Sin embargo, se han aislado cepas de *Lc. lactis subsp. lactis* que producen nisina y lacticina con excelentes propiedades de cultivo iniciador que incluyen: una buena actividad acidificante, alta actividad proteolítica extracelular y resistencia a los bacteriófagos (Dal Bello et al., 2012). Como fue demostrado por Ayad et al., (2004) el 2% de las cepas de *Lactococcus* probadas, principalmente *Lc. lactis subsp. lactis*, muestran rápida acidificación. Esto quiere decir que, si bien la producción de ácido del género *Lactococcus* en general es baja, presenta variabilidad, por lo que su aplicación como cultivo iniciador o adjunto depende de la cepa.

3.2 Lactobacillus

El género *Lactobacillus* exhibe una mayor actividad antimicrobiana que otras BAL (Geremew et al., 2015), por lo que, generalmente su espectro incluye: bacterias gram positivas, gram negativas e inclusive hongos deteriorantes. Las especies reportadas como productoras de bacteriocinas son: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* y *Lactobacillus paracasei* (Tabla 3).

BAL analizada: Género/ especie	Bacteriocina	Espectro	Aplicación en lácteos	Autores
<i>Lactobacillus</i> spp.	BLS	<i>Shigella flexneri</i> <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>E. coli</i>	Cultivos iniciadores	Geremew et al., 2015
<i>Lactobacillus</i> spp.	BLS	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> <i>L. innocua</i>	Cultivos iniciadores	Heredia et al., 2015
<i>Lb. acidophilus</i>	BLS	<i>Aspergillus niger</i>	Film de celulosa bacteriana	Motalebi et al., 2020
<i>Lb. acidophilus</i> NX2-6	Bacteriocina NX371	<i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Listeria</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Enterobacter</i>	Cultivos iniciadores	Meng et al., 2021
<i>Lb. plantarum</i>	Plantaricina Q7	<i>L. monocytogenes</i> ATCC19111 <i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> ATCC25922 <i>Pseudomonas fluorescens</i> AS1.1802 <i>Pseudomonas</i> <i>putida</i> AS1.1819 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CICC21636 <i>Shigella flexneri</i> ATCC12022 <i>Shigella sonnei</i> ATCC25931 <i>Salmonella enterica</i> serovar <i>typhimurium</i> ATCC140	Cultivos iniciadores Aditivo (forma purificada de la bacteriocina)	Liu et al., 2016
<i>Lb. plantarum</i> LpU4	Plantaricina LpU4	<i>S. aureus</i> SARM	Cultivos iniciadores	Milioni et al., 2015
<i>Lb. plantarum</i> ST71KS	BLS (tipo IIa)	<i>L. monocytogenes</i> <i>Enterococcus</i> <i>Lactobacillus</i>	Cultivos iniciadores	Ruiz et al., 2013
<i>Lb. sakei</i> subsp. <i>sakei</i> 2a	Sakacina P y sakacina Q	<i>L. monocytogenes</i>	Cultivos iniciadores	Ruiz et al., 2015

<i>Lb. paracasei</i> KC39	BLS	<i>Aspergillus parasiticus</i> <i>A. carbonarius</i>	Cultivos iniciadores	Shehata et al., 2018
------------------------------	-----	---	-------------------------	-------------------------

Tabla 3 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género *Lactobacillus* y sus aplicaciones. Nota. BLS: Bacteriocin like substances, bacteriocinas no identificadas.

Espectro: bacterias gram positivas

Las bacteriocinas de *Lb. plantarum* manifiestan un espectro contra las bacterias gram positivas: *L. monocytogenes*, *E. faecium*, *E. faecalis*, otras BAL (*Lb. delbrueckii*, y *Lb. paracasei*) (Martínez et al., 2013). También se ha reportado el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas de *Lb. plantarum* LpU4 frente a cepas de *S. aureus* que presentan fenotipos de resistencia a los antibióticos, incluido *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM); así como, contra otras BAL mediante un modo de acción bacteriostático (Miloni et al., 2015). El efecto inhibitorio está mediado por la producción de bacteriocinas de tipo IIa como pediocina PA-1 y plantaricina (Martínez et al., 2013).

Espectro: bacterias gram negativas

La cepa de *Lb. plantarum* ATCC14917 presenta un espectro inhibitorio que incluye: *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella entérica serovar typhimurium* mediante la producción de plantaricina Q7 (Liu et al., 2016).

Otra especie del género *Lactobacillus* que exhibe un amplio espectro es *Lb. acidophilus*. Meng et al., (2021) afirman que una nueva bacteriocina de clase III producida por *Lb. acidophilus* NX2-6 ejerce una importante actividad antimicrobiana in situ contra patógenos gram positivos (*Listeria*, *Staphylococcus*) y gram negativos, como: *E. coli*, *Salmonella* y *Enterobacter* (reducción de 3.5–4.0 log de bacterias en leche y 5.0–7.0 log en queso). Su mecanismo de acción se relaciona

con el daño de la pared celular y la alteración de la estructura de la membrana, lo que provoca una fuga de ATP intracelular.

Además, mediante el uso de la especie *Lb. paracasei* KC39 se ha logrado la actividad antifúngica in vitro contra dos especies de hongos toxigénicos: *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus carbonarius* mediante la producción de una nueva bacteriocina identificada como KC39. Anteriormente, varias especies de lactobacilos, pediococos y lactococos han sido descritas como LAB antifúngicas (Pandey et al., 2019)

El amplio espectro de este género se muestra en concordancia con lo reportado por Geremew et al., (2015); Zhang et al., (2020), pues, a partir de extractos crudos de bacteriocinas (ajustados a pH 6,5 y tratados con catalasa para eliminar el efecto del ácido o peróxido de hidrógeno) se ha demostrado que la actividad antimicrobiana de *Lactobacillus spp.* es efectiva frente a distintas bacterias gram positivas como: *L. innocua*, *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. faecium*; y gram negativas como: *E. coli*, *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexneri*.

3.3 Streptococcus

Este género es un componente esencial de diversos cultivos iniciadores naturales y comerciales utilizados en la fabricación de múltiples tipos de quesos y leches fermentadas, el cual, también presenta cepas capaces de producir bacteriocinas. Dentro de la información analizada, se encontró que las especies *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus macedonicus* y *Streptococcus uberis* presentan esta propiedad (Tabla 4).

BAL analizada: Género/ especie	Bacteriocina	Espectro	Aplicación en lácteos	Autores
<i>Streptococcus uberis</i>	BLS	<i>L. innocua</i> <i>L. monocytogenes</i> BAL (<i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Carnobacterium maltaromaticum</i>)	Cultivos iniciadores	Tulini et al., 2015

<i>Streptococcus macedonicus</i> ACA-DC 198	Macedovicina	<i>Clostridium tyrobutyricum</i> <i>Clostridium sporogenes</i> <i>Listeria welschimeri</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	Cultivos iniciadores	Georgalaki et al., 2013
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Termofilina 9	<i>S. aureus</i> P310 <i>E. faecium</i> ET17 <i>E. coli</i> LMG 806 BAL iniciadoras termófilas	Cultivos iniciadores o protectores	Rossi et al., 2013
<i>Streptococcus thermophilus</i> ACA-DC 004	Termofilina T	<i>Coliformes</i> y <i>Micrococcus</i>	Cultivos iniciadores o protectores	Kaminarides et al., 2018

Tabla 4 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género *Streptococcus* y sus aplicaciones. Nota. BLS: Bacteriocin like substances, bacteriocinas no identificadas.

La cepa de *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198 es capaz de producir los lantibióticos: macedocina y macedovicina. El efecto inhibitorio de la macedovicina mediante el ensayo de difusión en pozos se limita a: otras BAL, dos especies de *Clostridium* (*Clostridium tyrobutyricum* y *Clostridium sporogenes*), *Listeria welschimeri* 15008 y *Bacillus licheniformis* FMCC B-91. Esta producción múltiple de bacteriocinas puede contribuir a su dominio de ciertos ecosistemas (Georgalaki et al., 2013).

Streptococcus uberis es otra especie que demuestra actividad contra bacterias gram positivas, pues, resulta capaz de inhibir fuertemente el crecimiento de *Listeria* (*L. innocua*, *L. monocytogenes*) y dos especies de BAL (*Lactobacillus sakei*, *Carnobacterium maltaromaticum*) in vitro mediante la producción de sustancias proteínicas similares a las bacteriocinas (“BLS”) (Tulini et al., 2016).

Se ha reportado que varias cepas de *Streptococcus thermophilus* aisladas de derivados lácteos inhiben el crecimiento de bacterias gram positivas como: *S. aureus* P310, *E. faecium* ET17, BAL iniciadoras termófilas y gram negativas: *E. coli* LMG 806, mediante la producción de termofilina 9 (in vitro). El efecto inhibitorio podría depender de la formación de poros en la membrana del microorganismo diana (Rossi et al., 2013). Asimismo, la cepa de *Streptococcus thermophilus* ACA-DC0040 es capaz de producir una bacteriocina termotolerante denominada

termofilina T. Una concentración de 7,82 log UFC/g de esta cepa ejerce un efecto bacteriostático frente a coliformes y micrococos cuando se utiliza como cultivo iniciador en la producción de queso de suero durante su almacenamiento por 15 días a 4°C, sin modificar las características organolépticas (textura, sabor, color) (Kaminarides et al., 2018).

En cuanto al espectro inhibitorio, Ladero et al., (2012) manifiestan que ciertas especies de *Streptococcus* revelan rasgos similares a los descritos en esta sección. Debido a su capacidad de reducir la población de enterococos, coliformes, y a su actividad anticlostridial, la aplicación de este género como bioconservante previene el efecto de hinchado tardío por producción de gas (Rossi et al., 2013); por lo tanto, la seguridad y calidad de los lácteos se puede mejorar a través del uso de cepas de *Streptococcus spp.* bacteriocinogénicas.

Además, la selectividad hacia cepas individuales de bacterias iniciadoras, podría permitir el desarrollo de otras cepas de la misma especie encontradas en un cultivo natural complejo, garantizando así la correcta progresión de la fermentación y maduración (Rossi et al., 2013).

3.4 *Pediococcus*

Dentro del género *Pediococcus* se han identificado únicamente dos especies como productoras de bacteriocinas con espectro antimicrobiano para gram positivas que son: *Pediococcus acidilactici* y *Pediococcus pentosaceus* (tabla 5).

BAL analizada: Género/ especie	Bacteriocina	Espectro	Aplicación en lácteos	Autores
<i>Pediococcus acidilactici</i>	BLS	<i>L. monocytogenes</i>	Cultivos iniciadores o protectores	Abbasiliasi et al., 2015
<i>Pediococcus pentosaceus</i> NCDC 27	Pediocina A-1	<i>S. aureus</i> BAL	Cultivos iniciadores	Verma et al., 2017
<i>Pediococcus pentosaceus</i> NCDC 27	Pediocina A-1	<i>Estafilococos</i> BAL	Polvo antimicrobiano a base de suero	Pandey et al., 2019
<i>Pediococcus pentosaceus</i> 147	BLS	<i>L. monocytogenes</i>	Cubierta comestible para queso fresco	Jutinico et al., 2020

Tabla 5 Resultados del espectro antimicrobiano de las bacteriocinas del género *Pediococcus* y sus aplicaciones. Nota. BLS: Bacteriocin like substances, bacteriocinas no identificadas.

Cepas de *Pediococcus acidilactici* aisladas a partir de lácteos fermentados producen BLS implicadas en la inhibición de *L. monocytogenes*. Esta especie es un probiótico potencial, debido a su tolerancia a las sales biliares (0,3%) y a condiciones ácidas (pH 3), por lo tanto, puede ejercer efectos beneficiosos sobre la microbiota intestinal (Abbasilasi et al., 2012)

La actividad anti-*Listeria* in vitro de cepas bacteriocinogénicas de *Pediococcus acidilactici* ha sido reportada recientemente. Estas fueron aisladas a partir de queso artesanal, demostrando una alta actividad inhibidora contra varias cepas de *L. monocytogenes* y *Enterococcus spp.*, pero no contra la mayoría de las BAL probadas. Las bacteriocinas producidas presentaron un modo de acción bactericida (Todorov, Holzapfel, & Nero, 2020).

Con respecto a la especie *Pediococcus pentosaceus*, Verma et al., (2017) afirman que con el uso de la cepa NCDC 27 en la producción de suero que contiene pediocina A-1 se consigue una disminución significativa del recuento de microorganismos viables totales, *S. aureus* y el recuento de otras BAL en leche cruda.

No se encontraron reportes del efecto antimicrobiano del género *Pediococcus* contra bacterias gram negativas dentro de la información recopilada para este trabajo.

En contraste con los resultados presentados anteriormente, según Kaur & Tiwari, (2018) *Pediococcus pentosaceus* LB44 presenta un amplio espectro antimicrobiano frente a *Lb. delbrueckii* NRRL B-4525, *Lb. plantarum* NRRL B-4496, *Lb. acidophilus* NRRL B-4495, *Enterococcus hirae* LD3, *Weissella confusa* LM85, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 27137, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Proteus vulgaris* ATCC 29905. Esto podría indicar que el espectro para bacterias gram negativas

de *Pediococcus spp.* depende específicamente de la cepa y que además se requiere ampliar el conocimiento sobre la capacidad bacteriocinogénica de este género.

La importancia de la inhibición de los microorganismos gram positivos por los géneros de BAL presentados, radica en su amplia distribución en el ambiente de producción de los derivados lácteos y que constituyen agentes etiológicos de ETA, sobre todo *L. monocytogenes*, que presenta gran resistencia a condiciones a las que otros patógenos no sobreviven como: temperaturas de crecimiento de 1 a 45°C, alta tolerancia a la sal (hasta el 12 %), pH cercano a 4,5 y a una *aw* de aproximadamente 0,92 logrando sobrevivir en una variedad de alimentos durante largos períodos de tiempo (Sip et al., 2012). Asimismo, al impedir la proliferación de patógenos infecciosos, principalmente, los gram negativos más frecuentes en lácteos como *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas spp.* y otros gram positivos toxígenos (*S. aureus*, *E. faecalis*, *C. perfringens*, *B. cereus*), se mantiene la inocuidad, así como los defectos mediados por los productos de su metabolismo (enzimas proteolíticas y lipolíticas; producción de gas). Como se vio, mediante el efecto bacteriostático o bactericida de las bacteriocinas se puede disminuir la carga microbiana incluso hasta 7 log UFC cuando se aplica in situ, no obstante, una reducción de dos logaritmos en el nivel de contaminación es importante desde el punto de vista de la salud pública (Martínez et al., 2013).

3.5 Estabilidad de las bacteriocinas de BAL

Según los análisis de la naturaleza fisicoquímica de las bacteriocinas producidas por las BAL se determina que son sustancias proteínicas, por lo tanto, su actividad se ve afectada por enzimas proteolíticas como: tripsina, proteinasa K, entre otras. Comúnmente son moléculas no glicosiladas, de esta manera, la α -amilasa no influye en su efecto antimicrobiano (Abbasiliasi et al., 2012). Su actividad es estable a temperaturas que van de 60°C/30 minutos a 100°C/30 minutos e incluso a 121° C/15 minutos (Meng et al., 2021)(Sip et al., 2012); también ante un amplio intervalo de pH que incluyen valores desde 2.0 hasta 12.0 (Martínez et al., 2013), lo que brinda un extenso rango de acción debido a su naturaleza ácida (Goyal et al., 2018).

En base a los datos sobre la estabilidad de la actividad de las bacteriocinas, se evidencia que generalmente no se ven afectadas por altas temperaturas, incluso a temperatura de esterilización. Estos resultados son consistentes con Lu et al. (2014) quienes demostraron la termoestabilidad de bacteriocinas producidas por *Lactobacillus casei* (caseicina TN-2) resistente al tratamiento térmico de 121 °C/20 min, lo que se atribuye a la estructura simple y al bajo peso molecular de los lantibióticos.

Desde el punto de vista tecnológico, las bacteriocinas termoestables pueden ser utilizadas como bioconservantes para alimentos que se someten a tratamiento térmico como la pasteurización, como es el caso de la leche. Además, la estabilidad a un amplio rango de pH hace posible su aplicación en múltiples alimentos, como los productos lácteos fermentados. Esto determina el potencial de las BAL para ser utilizadas como cultivos iniciadores o protectores de los sistemas alimentarios, según las características tecnológicas y de estabilidad de cada género (Tabla 6).

Género	Especie	Bacteriocina	Mecanismo de acción	Termoestabilidad	Estabilidad pH	Autores
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc. lactis subsp. lactis</i>	Nisina	Formación de poros en la membrana celular	100°C/30min – 121° C/15 min	2.0-8.0	Sip et al., 2012
		Nisina Z		90°C/10min	3.0-9.0	Goyal et al., 2018
	<i>Lc. garviae</i>	Garvicina		121° C/15 min	2.0-8.0	Sip et al., 2012
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	Pediocina PA-1	Daño de la pared celular y la alteración de la estructura de la membrana: fuga de ATP intracelular	121°C/20 min	2.0-12.0	Martinez et al., 2013
		Plantaricina		121°C/20 min	2.0-12.0	Martinez et al., 2013
		Plantaricina Q7		121°C/20 min	3.0-12.0	Liu et al., 2016
	<i>Lb. acidophilus</i>	Bacteriocina NX371		60°C/30min	3.0-8.0	Meng et al., 2021
		Bacteriocina KC39		70 °C/15 min	hasta 7.0	Shehata et al., 2018
<i>Streptococcus</i>	<i>St. thermophilus</i>	Termofilina 9	Formación de poros en la membrana celular	hasta 100°C	---	Rossi et al., 2013
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>	BLS		---	2.0-9.0	Abbasiliasi et al., 2012

Tabla 6 Estabilidad de las bacteriocinas producidas por las BAL.

3.6 Factores que limitan el efecto antimicrobiano in situ

El efecto antimicrobiano de las bacteriocinas puede ser mayor al analizarse in vitro en comparación cuando son aplicadas directamente al alimento (in situ). Se plantea que las diferencias con respecto a la inhibición podrían deberse a factores relacionados con la composición de la matriz alimenticia, entre los que destacan: el contenido de grasa, la degradación proteolítica (proteasas y renina), la partición en componentes polares o no polares de los alimentos y las concentraciones de cloruro de sodio (Dal Bello et al., 2012), lo que se muestra en concordancia con lo que reporta Mirkovic et al., (2020) que además incluye al pH como factor que interviene en la actividad de las bacteriocinas en lácteos. Por otro lado, debido a la naturaleza aniónica de la mayoría de las bacteriocinas, estas pueden unirse fuertemente a los grupos fosfato de la caseína (adsorción) minimizando su actividad (Coelho et al., 2014).

3.7 Aplicaciones tecnológicas de BAL bacteriocinogénicas en lácteos

Las bacteriocinas de las BAL pueden utilizarse directamente como aditivos o producirse in situ en el alimento. La producción in situ se puede realizar de varias formas, según (Acuña et al., 2020):

- Cultivo iniciador: uso de una BAL bacteriocinogénica como fermentadora
- Cultivo adjunto: BAL bacteriocinogénica acompaña al cultivo iniciador, pero no interviene en la fermentación
- Cultivo protector: BAL que produce bacteriocinas en un alimento que no requiere fermentación

Según Dal Bello et al., (2012) las bacterias iniciadoras podrían definirse como aislados que producen suficiente ácido para reducir el pH de la leche a 5.3 en 6 horas a 30–37 °C. Para el uso de las BAL bacteriocinogénicas como cultivo iniciador se requiere que estas lleven a cabo el proceso de fermentación y produzcan cantidades suficientes de bacteriocina para conservar el alimento. Dentro de esta categoría se encuentran las BAL pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Pediococcus*. En cambio, si la cepa productora de bacteriocinas se añade como cultivo adjunto en un alimento fermentado, no se requiere su participación en el proceso de fermentación, y la cepa no debería interferir con este (Acuña et al., 2020), rasgos que generalmente presentan las BAL del género *Lactococcus*. Es decir que, los cultivos iniciadores y adjuntos son aplicables en la manufactura de alimentos fermentados o sometidos a maduración como los quesos maduros y leches fermentadas (yogur).

Debido a la baja capacidad acidificante de algunas BAL como las del género *Lactococcus*, serían aplicables en productos no fermentados como la leche y quesos frescos que no requieren

pasar por un proceso de fermentación para obtener el producto final, por lo tanto, es necesario emplear cepas que no alteren significativamente las características sensoriales. El uso de este tipo de cultivo adjunto se conoce como cultivo protector (Mirkovic et al., 2020).

a) Recubrimientos comestibles a base de biopolímeros

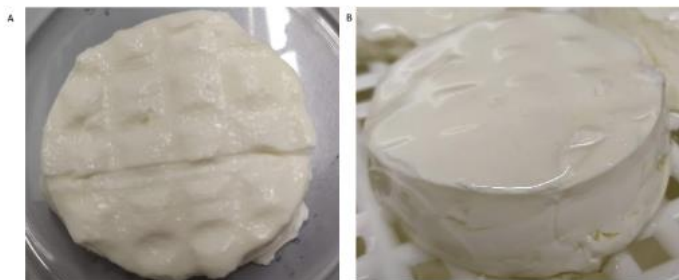
Con el fin de obtener alimentos más seguros, se han propuesto varios recubrimientos comestibles formulados a partir de una amplia variedad de polímeros. El uso de compuestos hidrocoloides como proteínas y polisacáridos es muy común ya que permite la formación de una matriz continua y cohesiva, con propiedades mecánicas adecuadas (Silva et al., 2022).

En este sentido, Settler et al., (2020) elaboraron films con propiedad anti-*Listeria* a base de alcohol polivinílico (PVOH) incorporando una mezcla de *Lc. lactis* y proteínas (hidrolizados de gelatina y caseinato de sodio) en una proporción de masa de 1:0,125. Con esto, se consigue la viabilidad celular posterior al secado de los films y un efecto bacteriostático in vitro sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* durante el almacenamiento a 4 °C. No obstante, puede encontrarse un descenso leve del pH de la leche debido a la producción de ácidos orgánicos, por lo que Settler et al., (2020) plantean que debe considerarse el uso de buffers cuando se usan films de PVOH que incorporan *Lc. lactis* para envasar productos no fermentados con el fin de evitar la acidificación del medio o la sinéresis. De esta manera, los films formulados son capaces de ejecutar su efecto inhibitorio a temperatura de refrigeración, por tanto, podrían aplicarse en el diseño de envases activos para alimentos no fermentados como la leche, con el propósito de controlar el crecimiento de microorganismos patógenos psicrófilos como bacterias del género *Listeria*.

Silva et al., (2022) han desarrollado un recubrimiento comestible con BAL bacteriocinogénicas incorporadas en una matriz hidrocoloide para su aplicación en queso fresco

(fig.7). Las bacteriocinas de *Lc. lactis* L3A21M1 y *Lc. garvieae* SJM17 (lacticina y garvicina, respectivamente) incorporadas en una mezcla de alginato-maltodextrina-glicerol permiten el control del crecimiento de *L. monocytogenes* y bacterias aeróbicas mesófilas. Mediante inmersión del queso fresco en la mezcla a base de alginato (200mL) durante 2 horas en baño de hielo, y la posterior gelificación a temperatura ambiente, se obtiene un recubrimiento con características aptas para mantener la viabilidad de las BAL en niveles estables y altos (10^6 – 10^7 UFC/g) durante 10 días de almacenamiento a 4°C y 10°C en ausencia de nutrientes, lo que indica gran resistencia de las cepas y el efecto no tóxico de la formulación sobre las BAL. Adicionalmente, se evidencia la migración del 10% de la población inicial de BAL del recubrimiento hacia el queso, proporcionando un efecto protector adicional, evitando o retrasando el desarrollo de bacterias indeseables, de hecho, la inhibición del crecimiento de *L. monocytogenes* y aerobios mesófilos fue evidente (reducción de 1.2–1.3 unidades logarítmicas). Además, este tipo de recubrimiento actúa como una barrera física que evita la contaminación con *Listeria* en el queso postproducción. Las cepas de lactococos no influyen en el pH del queso debido a su baja producción de ácido y la reducida migración del ácido desde el recubrimiento. Cabe destacar que los valores de pH moderadamente altos (> 5,5) permiten la estabilidad de la matriz a base de alginato, ya que el pH ácido impediría que el alginato forme enlaces con los iones de calcio, alterando la estructura del recubrimiento y evitando la gelificación de la matriz. Por lo tanto, el uso de cepas de *Lactococcus* asegura la compatibilidad con la formulación de la matriz (Silva et al., 2022).

Figura 8 Queso sin recubrimiento (izquierda) y con recubrimiento de alginato-maltodextrina-glicerol (derecha).
Fuente: Silva et al., (2022)



Con el objetivo de mantener la viabilidad de las BAL utilizadas como cultivo adjunto, la encapsulación y posterior inmovilización en una matriz biopolimérica parece ser una opción efectiva. De esta manera, Motalebi et al., (2020) afirman que los films a base de celulosa bacteriana con cepas de *Lb. acidophilus* La-5 y *Bifidobacterium animalis subsp.lactis* Bb-12 encapsuladas mediante una solución de alginato (2%) para la aplicación en la superficie de queso sometido a maduración (45 días) demuestran un efecto antifúngico sin modificar el pH (4.4 normal para queso maduro), el contenido de sal y humedad. El uso de estos films durante el almacenamiento es eficaz para la inhibición de *A. niger*, siendo el efecto inhibidor de *Lb. acidophilus* mayor que el de *B. lactis*, lo que podría atribuirse a su alta supervivencia durante el almacenamiento, por lo tanto, una mayor producción de metabolitos antimicrobianos.

Por su parte, Jutinico et al., (2020) formularon un recubrimiento comestible basado en quitosano (4g de quitosano diluido en solución de ácido láctico al 1%, más glicerol y Tween 80), incorporando en la matriz bacteriocinas parcialmente purificadas de *Pediococcus pentosaceus* 147 para la inhibición de *Listeria monocytogenes* en queso fresco.

El recubrimiento de quitosano con bacteriocinas demuestra mayor eficacia que un recubrimiento basado únicamente en quitosano, pues, a los 21 días de almacenamiento es capaz

de reducir 6,21 Log UFC/g en comparación con 3,32 Log UFC/g, correspondientemente; lo que apunta a la capacidad inhibitoria de ambos componentes (quitosano y bacteriocinas) ejerciendo un efecto sinérgico (Jutinico et al., 2020).

Previamente, ya se han desarrollado con éxito films y recubrimientos antimicrobianos incorporando BAL viables en matrices poliméricas para la conservación de diferentes alimentos (Massani et al., 2014; Esposti et al., 2018; Iseppi et al., 2008)

La inclusión de BAL en películas comestibles puede conducir a la inhibición de patógenos a través de la competencia por el espacio y los nutrientes, además, el procedimiento de atrapamiento en una matriz gelificada puede causar un estado de estrés para las células bacterianas que conduce a respuestas de resistencia y defensa, como la producción de moléculas antimicrobianas (Leonard et al., 2015) (Silva et al., 2018), de esta manera, se deduce que la producción de bacteriocinas es el principal factor responsable del efecto antimicrobiano y que constituye una potencial alternativa de conservación de los productos lácteos.

b) Making powder con bacteriocinas

Pandey et al., (2019) desarrollaron un polvo para la fabricación (making powder) (Fig. 8) de queso blando que contiene pediocina PA-1 a partir de la fermentación de suero lácteo por *P. pentosaceus* NCDC 273 y su posterior deshidratación a 55°C. Con la progresión del crecimiento ($8,7 \pm 0,4$ log UFC ml⁻¹ a las 16 horas), también se encontró que el pH del medio bajó de 7,0 a $4,26 \pm 0,4$ a las 16 horas. La actividad de pediocina PA-1 se mantuvo constante durante todo el proceso de fabricación, lo que indica que no hay pérdida de actividad de pediocina PA-1 durante el proceso de secado.

La aplicación del making powder en la producción de queso blando (“paneer”) permite una disminución significativa en el recuento total en placa, el recuento de bacterias ácido lácticas, de estafilococos y de coliformes durante el almacenamiento a 4°C. Estos resultados indican la potencia del making powder que contiene pediocina PA-1 para reducir la carga microbiana total y extender la vida útil del queso de 8 días a 14 días (incremento en un 75%). Cabe mencionar que, el producto final presenta aceptación significativa en todos los parámetros sensoriales (sabor, cuerpo, textura, color y apariencia) durante el tiempo de almacenamiento (14 días), además, el contenido de humedad y de grasa no se ve afectado (Pandey et al., 2019). Resultados similares fueron reportados cuando se empleó un polvo liofilizado de *E. durans* bacteriocinogénico en la formulación de queso crema (Estilarte et al., 2021)



Figura 9 Polvo (making powder) que contiene pediocina PA-1 y su actividad en el recuento de carga microbiana total.
Fuente: Pandey et al., (2019).

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Mediante la presente revisión bibliográfica se ha demostrado que existe evidencia científica contundente sobre la actividad antimicrobiana del grupo de bacterias ácido lácticas a través de la síntesis de bacteriocinas capaces de inhibir múltiples microorganismos patógenos y causantes del deterioro en productos lácteos, demostrando un espectro que puede ser estrecho o amplio que depende específicamente de la cepa.
- Los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Pediococcus* han sido reportados mayoritariamente como productores de bacteriocinas activas contra las bacterias gram negativas: *E. coli*, *Salmonella spp*, *Yersinia spp*, *Pseudomonas spp*. y gram positivas: *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. perfringens* y *B. cereus*, mismas que son agentes de ETA y que frecuentemente contaminan los productos lácteos. Mediante su inhibición, se asegura la inocuidad alimentaria y la calidad sensorial, al prevenir su proliferación y el deterioro mediado por los productos de su metabolismo.
- En cuanto a la aplicación tecnológica, se puede determinar que el uso de las BAL como: cultivos iniciadores o protectores, de sus bacteriocinas como aditivos alimentarios o incorporadas en films y recubrimientos comestibles permite inhibir efectivamente el desarrollo de patógenos y agentes del deterioro a través de la liberación de bacteriocinas sin afectar de manera significativa las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de los productos lácteos. De esta manera, la bioconservación mediante el uso de BAL bacteriocinogénicas constituye una alternativa tecnológica relevante que permite mejorar la seguridad e incrementa la vida útil de los derivados lácteos.

4.2 Recomendaciones

- Para la aplicación de una cepa de BAL bactericinogénica o de sus bacteriocinas purificadas en la formulación de un producto lácteo en específico, deben tomarse en cuenta las propiedades tecnológicas de la misma (capacidad acidificante, tolerancia a la sal, actividad proteolítica y autolítica, entre otras) así como la estabilidad de las bacteriocinas al pH y tratamiento térmico al que van a ser sometidas, para asegurar la compatibilidad con la matriz alimenticia, la obtención de las características organolépticas deseadas y el efecto antimicrobiano.
- Es necesario que se amplíe el conocimiento sobre la actividad antimicrobiana de los géneros *Streptococcus* y *Pediococcus*, pues se encontró información limitada, sobre todo, en las aplicaciones tecnológicas. Posiblemente, los métodos presentados para los demás géneros podrían ser aplicables para estos, por lo tanto, se requieren análisis que repliquen las formulaciones de films, recubrimientos o making powder con el uso de estas BAL.
- Las aplicaciones tecnológicas presentadas podrían ser evaluadas para el uso en matrices alimenticias diferentes de los lácteos como por ejemplo cárnicos, frutas o vegetales.
- Debido a que varias BAL son probióticos reconocidos, sería interesante que se continúe con la investigación sobre el uso de BAL con esta propiedad que además de aportar funcionalidad al alimento permita su conservación.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Abbasiliasi, S., Tan, J. S., Ibrahim, T. A. T., Ramanan, R. N., Vakhshiteh, F., Mustafa, S., Ling, T. C., Rahim, R. A., & Ariff, A. B. (2012). Isolation of *Pediococcus acidilactici* Kp10 with ability to secrete bacteriocin-like inhibitory substance from milk products for applications in food industry. *BMC Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-260>
- Acuña, L., Corbalán, N., Quintela-Baluja, M., Barros-Velázquez, J., & Bellomio, A. (2020). Expression of the hybrid bacteriocin Ent35-MccV in *Lactococcus lactis* and its use for controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* in milk. *International Dairy Journal*, 104. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2020.104650>
- Aguilera, A., Urbano, E., & Jaimes, C. (2014). *Pathogenic bacteria in raw milk: A public health and*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5191851.pdf>
- Ayad, E. H. E., Nashat, S., El-Sadek, N., Metwaly, H., & El-Soda, M. (2004). Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiology*, 21(6), 715–725. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.02.009>
- Blanco Massani, M., Molina, V., Sanchez, M., Renaud, V., Eisenberg, P., & Vignolo, G. (2014). Active polymers containing *Lactobacillus curvatus* CRL705 bacteriocins: Effectiveness assessment in Wieners. *International Journal of Food Microbiology*, 178, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.013>
- Bragason, E., Berhe, T., Dashe, D., Sørensen, K. I., Guya, M. E., & Hansen, E. B. (2020). Antimicrobial activity of novel *Lactococcus lactis* strains against *Salmonella Typhimurium*

- DT12, Escherichia coli O157:H7 VT– and Klebsiella pneumoniae in raw and pasteurised camel milk. *International Dairy Journal*, 111. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104832>
- Carroll K.C., & Hobden J.A., & Miller S., & Morse S.A., & Mietzner T.A., & Detrick B., & Mitchell T.G., & McKerrow J.H., & Sakanari J.A.(Eds.), (2016). *Metabolismo microbiano. Microbiología médica*, 27e. McGraw Hill. Recuperado de: <https://accessmedicina.mhmedical.com/Content.aspx?bookid=1837§ionid=12895615>
- Cervantes, A. (2020). *Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas aisladas del cacao con actividad antigénica*. Obtenido de <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/2524/1/2020%20Angel%20Arturo%20Cervantes%20Ilizaliturri.pdf>
- Coelho, M. C., Silva, C. C. G., Ribeiro, S. C., Dapkevicius, M. L. N. E., & Rosa, H. J. D. (2014). Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 191, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.029>
- Dal Bello, B., Cocolin, L., Zeppa, G., Field, D., Cotter, P. D., & Hill, C. (2012). Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1–2), 58–65. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2011.10.016>
- Degli Esposti, M., Toselli, M., Sabia, C., Messi, P., de Niederhäusern, S., Bondi, M., & Iseppi, R. (2018). Effectiveness of polymeric coated films containing bacteriocin-producer living bacteria for *Listeria monocytogenes* control under simulated cold chain break. *Food Microbiology*, 76, 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.05.005>

- El-Ghaish, S., Khalifa, M., & Elmahdy, A. (2017). Antimicrobial Impact for *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A15 and *Enterococcus faecium* A15 Isolated from Some Traditional Egyptian Dairy Products on Some Pathogenic Bacteria. *Journal of Food Biochemistry*, 41(1). <https://doi.org/10.1111/jfbc.12279>
- Estilarte, M. L., Tymczynszyn, E. E., Serradell, M. de los Á., & Carasi, P. (2021). Freeze-drying of *Enterococcus durans*: Effect on their probiotics and biopreservative properties. *LWT*, 137. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2020.110496>
- FAO. (2011). *Codex Alimentarius Leche y Productos Lácteos*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/i2085s/i2085s.pdf>
- FAO. (2011). *Procesos para la elaboración de productos lácteos*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/bo954s/bo954s.pdf>
- FAO. (2022). *Leche y productos lácteos*. Obtenido de <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/es/>
- Fernández, K., Chanci, I., Wilches, L., & Cardona, J. (2014). *CARACTERIZACIÓN DE LOS METABOLITOS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS Y EFECTO INHIBIDOR DE LAS BACTERIOCINAS EN MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN ALIMENTOS: REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA, 2008-2012*. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502014000100006
- Georgalaki, M., Papadimitriou, K., Anastasiou, R., Pot, B., van Driessche, G., Devreese, B., & Tsakalidou, E. (2013). Macedovicin, the second food-grade lantibiotic produced by *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198. *Food Microbiology*, 33(1), 124–130. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2012.09.008>

- Geremew, T., Kebede, A., & Andualem, B. (2015). The role of spices and lactic acid bacteria as antimicrobial agent to extend the shelf life of metata ayib (traditional Ethiopian spiced fermented cottage cheese). *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5661–5670. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1694-y>
- Gil, J., Yacanto, P., Muratona, S., Abaca, C., & Esquenoni, S. (2016). *INFLUENCIA DE LA COMPOSICION DE LA LECHE EN POLVO SOBRE LA ACTIVIDAD DE AGUA APLICANDO EL MODELO DE GAB*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3236/323644962005.pdf>
- Goyal, C., Malik, R. K., & Pradhan, D. (2018). Purification and characterization of a broad spectrum bacteriocin produced by a selected *Lactococcus lactis* strain 63 isolated from Indian dairy products. *Journal of Food Science and Technology*, 55(9), 3683–3692. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3298-4>
- Gobierno de España. (2013). Obtenido de <https://www.alimentosdespana.es/es/estrategia-alimentos-espana/gastronomia/bloc/quesos/detalle/etapas-elaboracion-queso.aspx>
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Otterdijk, R., & Meybeck, A. (2011). *Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/i2697s/i2697s.pdf>
- Helander, M., & Mattila, T. (2000). *Permeability barrier of the gram-negative bacterial outer membrane with special reference to nisin*. Obtenido de 10.1016/s0168-1605(00)00307-x
- Heredia-Castro, P. Y., Méndez-Romero, J. I., Hernández-Mendoza, A., Acedo-Félix, E., González-Córdova, A. F., & Vallejo-Cordoba, B. (2015). Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus* spp.

- isolated from artisanal Mexican cheese. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8285–8293.
<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10104>
- INEN. (2012). *LECHE CRUDA. REQUISITOS*. Obtenido de
<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/9-5.pdf>
- Iseppi, R., Pilati, F., Marini, M., Toselli, M., de Niederhäusern, S., Guerrieri, E., Messi, P., Sabia, C., Manicardi, G., Anacarso, I., & Bondi, M. (2008). Anti-listerial activity of a polymeric film coated with hybrid coatings doped with Enterocin 416K1 for use as bioactive food packaging. *International Journal of Food Microbiology*, 123(3), 281–287.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.015>
- Juliarena, P., & Gratton, R. (2003). *Conservación de los alimentos*. Obtenido de
<https://users.exa.unicen.edu.ar/catedras/tecnoambiente/CAP03.pdf>
- Jutinico-Shubach, A., Gutiérrez-Cortés, C., & Suarez, H. (2020). Antilisterial activity of chitosan-based edible coating incorporating cell-free supernatant from *Pediococcus pentosaceus* 147 on the preservation of fresh cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9).
<https://doi.org/10.1111/jfpp.14715>
- Kaminarides, S., Aktypis, A., Koronios, G., Massouras, T., & Papanikolaou, S. (2018). Effect of ‘in situ’ produced bacteriocin thermophilin T on the microbiological and physicochemical characteristics of Myzithra whey cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 213–222. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12448>
- Kaur, R., & Tiwari, S. K. (2018). Membrane-acting bacteriocin purified from a soil isolate *Pediococcus pentosaceus* LB44 shows broad host-range. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 498(4), 810–816. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.03.062>

- Kaya, H. I., & Simsek, O. (2019). Characterization of pathogen-specific bacteriocins from lactic acid bacteria and their application within cocktail against pathogens in milk. *LWT*, 115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108464>
- Leonard, L., Degraeve, P., Gharsallaoui, A., Saurel, R., & Oulahal, N. (2014). Design of biopolymeric matrices entrapping bioprotective lactic acid bacteria to control *Listeria monocytogenes* growth: Comparison of alginate and alginate-caseinate.
- Liu, H., Zhang, L., Yi, H., Han, X., & Chi, C. (2016). Identification and characterization of plantaricin Q7, a novel plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* Q7. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 386–390. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.04.009>
- Lourenço, A., Kamnetz, M. B., Gadotti, C., & Diez-Gonzalez, F. (2017). Antimicrobial treatments to control *Listeria monocytogenes* in queso fresco. *Food Microbiology*, 64, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.014>
- López, A., & Barriga, D. (2016). *La leche, composición y características*. Obtenido de <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa/registro-servifapa/436502c6-f47c-42ab-a053-f3ab26dee712/download>
- Lü, X., Hu P., Dang, Y. y Liu, B., 2014. Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* TN-2 isolated from fermented camel milk (Shubat) of Xinjiang Uygur Autonomous region, China. En: *Food Control*, 43, pp.276-283.
- Martínez, R. C. R., Wachsmann, M., Torres, N. I., LeBlanc, J. G., Todorov, S. D., & Franco, B. D. G. de M. (2013). Biochemical, antimicrobial and molecular characterization of a noncytotoxic bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST71KS. *Food Microbiology*, 34(2), 376–381. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.01.011>

- Meng, F., Zhu, X., Zhao, H., Nie, T., Lu, F., Lu, Z., & Lu, Y. (2021). A class III bacteriocin with broad-spectrum antibacterial activity from *Lactobacillus acidophilus* NX2-6 and its preservation in milk and cheese. *Food Control*, 121. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2020.107597>
- Milioni, C., Martínez, B., Degl'Innocenti, S., Turchi, B., Fratini, F., Cerri, D., & Fischetti, R. (2015). A novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LpU4 as a valuable candidate for biopreservation in artisanal raw milk cheese. *Dairy Science and Technology*, 95(4), 479–494. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0230-9>
- Mirkovic, N., Kulas, J., Miloradovic, Z., Miljkovic, M., Tucovic, D., Miocionovic, J., Jovcic, B., Mirkov, I., & Kojic, M. (2020). Lactolisterin BU-producer *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BGBU1-4: Bio-control of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in fresh soft cheese and effect on immunological response of rats. *Food Control*, 111. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107076>
- Morales, E., Adriano, L., Gálvez, D., Rosas, R., & Vázquez, A. (2020). *Características físicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de queso crema elaborado con adición de bacterias ácido lácticas como cultivo iniciador*. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-14562020000100093&script=sci_arttext#B39
- Motalebi Moghanjoui, Z., Rezazadeh Bari, M., Alizadeh Khaledabad, M., Almasi, H., & Amiri, S. (2020). Bio-preservation of white brined cheese (Feta) by using probiotic bacteria immobilized in bacterial cellulose: Optimization by response surface method and characterization. *LWT*, 117. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108603>

OMS. (2011). *Codex Alimentarios*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/i2085s/i2085s00.pdf>

Pandey, K. K., Sood, S. K., Verma, S. K., Kumar, S., Rani, S., & Ganguli, S. (2019). Bioutilization of paneer whey waste for production of paneer making powder containing pediocin PA-1 as a biopreservative to enhance shelf life of paneer. *LWT*, 113. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.06.010>

Parra, R. (2010). *Review. Bacterias acidolácticas: Papel funcional en los alimentos*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>

Perin, L. M., Moraes, P. M., Viçosa, G. N., Silva Júnior, A., & Nero, L. A. (2012). Identification of bacteriocinogenic Lactococcus isolates from raw milk and cheese capable of producing nisin A and nisin Z. *International Dairy Journal*, 25(1), 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.12.010>

Ramírez, J. R., Velázquez, M., Ulloa, J., & Arce, F. (2011). *Bacterias acidolácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud*. Obtenido de <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>

Rahmeh, R., Akbar, A., Alonaizi, T., Kishk, M., Shajan, A., & Akbar, B. (2020). Characterization and application of antimicrobials produced by Enterococcus faecium S6 isolated from raw camel milk. *Journal of Dairy Science*, 103(12), 11106–11115. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-18871>

Renye, J. A., & Somkuti, G. A. (2015). Bacteriocins of Food Grade Lactic Acid Bacteria in Hurdle Technology for Milk and Dairy Products. *Emerging Dairy Processing Technologies: Opportunities for the Dairy Industry*, 267–306. <https://doi.org/10.1002/9781118560471.ch10>

- Ribeiro, S. C., Coelho, M. C., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. M., Dapkevicius, M. L. E., & Silva, C. C. G. (2014). Technological properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from Pico cheese an artisanal cow's milk cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 116(3), 573–585. <https://doi.org/10.1111/jam.12388>
- Rossi, F., Marzotto, M., Cremonese, S., Rizzotti, L., & Torriani, S. (2013). Diversity of *Streptococcus thermophilus* in bacteriocin production; inhibitory spectrum and occurrence of thermophilin genes. *Food Microbiology*, 35(1), 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.02.006>
- Ruiz, J., & Ramírez, A. (2009). *Elaboración de yogurt con probióticos (Bifidobacterium spp. y Lactobacillus acidophilus) e inulina*. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182009000200006#:~:text=Para%20la%20elaboraci%C3%B3n%20del%20yogurt,la%20fermentaci%C3%B3n%20l%C3%A1ctica%20de%20manera
- Ruiz, M. (2019). *Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas con actividad inhibitoria de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos*. Obtenido de <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/2096/Tesis%20doctoral%20Mar%20c3%ada%20Julia%20Ruiz.PDF?sequence=1&isAllowed=y>
- Salvatierra, I. (2019). *Manual de conservación de alimentos*. Obtenido de http://www.inacap.cl/web/material-apoyocedem/profesor/Gastronomia/Manuales/Manual_Conseervacion_de_Alimentos.pdf
- Sánchez, L., & Tromps, J. (2014). *Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v36n2/rsa08214.pdf>

- Silva, C., Silva, S., & Ribeiro, S. (2018). *Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation*. Obtenido de doi: 10.3389/fmicb.2018.00594
- Settier, L., López, G., Gavarra, R., & Hernández, P. (2020). PVOH/protein blend films embedded with lactic acid bacteria and their antilisterial activity in pasteurized milk. *International Journal of Food Microbiology*, 322. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108545>
- Shehata, M. G., Badr, A. N., & el Sohaimy, S. A. (2018). Novel antifungal bacteriocin from lactobacillus paracasei KC39 with anti-mycotoxigenic properties. *Bioscience Research*, 15(4), 4171–4183.
- Silva, C. C. G., Silva, S. P. M., & Ribeiro, S. C. (2018). Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation. *Frontiers in Microbiology*, 9(APR). <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.00594>
- Silva, S. P. M., Ribeiro, S. C., Teixeira, J. A., & Silva, C. C. G. (2022). Application of an alginate-based edible coating with bacteriocin-producing Lactococcus strains in fresh cheese preservation. *LWT*, 153. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112486>
- Sip, A., Wieckowicz, M., Olejnik-Schmidt, A., & Grajek, W. (2012). Anti-Listeria activity of lactic acid bacteria isolated from golka, a regional cheese produced in Poland. *Food Control*, 26(1), 117–124. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2012.01.014>
- Sonbol, F. I., Abdel Aziz, A. A., El-Banna, T. E., & Al-Fakhrany, O. M. (2020). Antimicrobial activity of bacteriocins produced by Enterococcus isolates recovered from Egyptian homemade dairy products against some foodborne pathogens. *International Microbiology*, 23(4), 533–547. <https://doi.org/10.1007/s10123-020-00127-z>

- Todorov, S. D. (2018). What bacteriocinogenic lactic acid bacteria do in the milk? *Raw Milk: Balance Between Hazards and Benefits*, 149–174. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-810530-6.00008-0>
- Todorov, D., Holzapfel, H., & Nero, L. (2020). *Safety evaluation and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus acidilactici* strains isolated from artisanal cheeses*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110550>
- Vélez, J., Aguayo, S., Montalvo, M., Jara, F., Vélez, P., Velarde, G., . . . Torres, P. (2021). *Lactato: fisiología, bioquímica y metabolismo de la producción energética celular*. Obtenido de <https://doi.org/10.31790/inspilip.v5i1.6>
- Tulini, F. L., Hymery, N., Haertlé, T., le Blay, G., & de Martinis, E. C. P. (2016). Screening for antimicrobial and proteolytic activities of lactic acid bacteria isolated from cow, buffalo and goat milk and cheeses marketed in the southeast region of Brazil. *Journal of Dairy Research*, 83(1), 115–124. <https://doi.org/10.1017/S0022029915000606>
- Verma, S. K., Sood, S. K., Saini, R. K., & Saini, N. (2017). Pediocin PA-1 containing fermented cheese whey reduces total viable count of raw buffalo (*Bubalis bubalus*) milk. *LWT - Food Science and Technology*, 83, 193–200. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.02.031>
- Zhang, X., Ali Esmail, G., Fahad Alzeer, A., Valan Arasu, M., Vijayaraghavan, P., Choon Choi, K., & Abdullah Al-Dhabi, N. (2020). Probiotic characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from cheese and their antibacterial properties against gastrointestinal tract pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3505–3513. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.022>

ANEXOS

Anexo 1. Checklist del CASP para la evaluación de la calidad de la evidencia científica.



Paper for appraisal and reference:

Section A: Are the results valid?

1. Was there a clear statement of the aims of the research?

Yes ☐ Can't Tell ☐ No ☐

HINT: Consider
 • what was the goal of the research
 • why it was thought important
 • its relevance

Comments:

2. Is a qualitative methodology appropriate?

Yes ☐ Can't Tell ☐ No ☐

HINT: Consider
 • If the research seeks to interpret or illuminate the actions and/or subjective experiences of research participants
 • Is qualitative research the right methodology for addressing the research goal

Comments:

Is it worth continuing?

3. Was the research design appropriate to address the aims of the research?

Yes ☐ Can't Tell ☐ No ☐

HINT: Consider
 • if the researcher has justified the research design (e.g. have they discussed how they decided which method to use)

Comments:

4. Was the recruitment strategy appropriate to the aims of the research?

Yes	☐
Can't Tell	☐
No	☐

HINT: Consider

- If the researcher has explained how the participants were selected
- If they explained why the participants they selected were the most appropriate to provide access to the type of knowledge sought by the study
 - If there are any discussions around recruitment (e.g. why some people chose not to take part)

Comments:	
-----------	-------------

5. Was the data collected in a way that addressed the research issue?

Yes	☐
Can't Tell	☐
No	☐

HINT: Consider

- If the setting for the data collection was justified
- If it is clear how data were collected (e.g. focus group, semi-structured interview etc.)
- If the researcher has justified the methods chosen
 - If the researcher has made the methods explicit (e.g. for interview method, is there an indication of how interviews are conducted, or did they use a topic guide)
 - If methods were modified during the study. If so, has the researcher explained how and why
 - If the form of data is clear (e.g. tape recordings, video material, notes etc.)
 - If the researcher has discussed saturation of data

6. Has the relationship between researcher and participants been adequately considered?

Yes	☐
Can't Tell	☐
No	☐

HINT: Consider

- If the researcher critically examined their own role, potential bias and influence during (a) formulation of the research questions (b) data collection, including sample recruitment and choice of location
- How the researcher responded to events during the study and whether they considered the implications of any changes in the research design

Comments:	
-----------	----------------------

Section B: What are the results?

7. Have ethical issues been taken into consideration?

Yes	☐
Can't Tell	☐
No	☐

HINT: Consider

- If there are sufficient details of how the research was explained to participants for the reader to assess whether ethical standards were maintained
- If the researcher has discussed issues raised by the study (e.g. issues around informed consent or confidentiality or how they have handled the effects of the study on the participants during and after the study)
- If approval has been sought from the ethics committee

8. Was the data analysis sufficiently rigorous?

Yes	☐
Can't Tell	☐
No	☐

HINT: Consider

- If there is an in-depth description of the analysis process
- If thematic analysis is used. If so, is it clear how the categories/themes were derived from the data
- Whether the researcher explains how the data presented were selected from the original sample to demonstrate the analysis process
- If sufficient data are presented to support the findings
 - To what extent contradictory data are taken into account
- Whether the researcher critically examined their own role, potential bias and influence during analysis and selection of data for presentation

Comments:

9. Is there a clear statement of findings?

Yes	☐
Can't Tell	☐
No	☐

HINT: Consider whether

- If the findings are explicit
- If there is adequate discussion of the evidence both for and against the researcher's arguments
- If the researcher has discussed the credibility of their findings (e.g. triangulation, respondent validation, more than one analyst)
- If the findings are discussed in relation to the original research question

Section C: Will the results help locally?

10. How valuable is the research?

HINT: Consider

- If the researcher discusses the contribution the study makes to existing knowledge or understanding (e.g. do they consider the findings in relation to current practice or policy, or relevant research-based literature
- If they identify new areas where research is necessary
- If the researchers have discussed whether or how the findings can be transferred to other populations or considered other ways the research may be used

Comments:

Anexo 2. Información extraída en la base de datos elaborada en Microsoft Excel.

Lactococcus	ID	Título	Año	Autores	BAL analizada: Género/ especie	Matriz alimenticia	Bacteriocina	Análisis de sensibilidad microbiana	Mecanismo de acción	Espectro	Aplicación en lácteos
	1	Bacteriocinogenic Lactococcus lactis subsp. lactis DF04Mi isolated from goat milk: Application in the control of Listeria monocytogenes in fresh Minas-type goat cheese	2012	Furtado, Svetoslav D. Todorov, Mariza Landgraf, Maria T. Destro, Bernadette D.G.M. Franco	Lactococcus lactis subsp. Lactis	queso minas (queso fresco de brasil)		siembra en profundidad en Listeria Selective Agar Base suplementado, con muestras de queso inoculado con L. lactis susp. Lactis bacteriocinogénico y no bacteriocinogénico, muestra con nisina, control, contaminadas con L. monocytogenes	-	Listeria monocytogenes	Queso fresco
	2	Technological properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from Pico cheese an artisanal cow's milk cheese	2014	Ribeiro1, M.C. Coelho1, S.D. Todorov2, B.D.G.M. Franco2, M.L.E. Dapkevicius1 and C.C.G. Silva	Lactococcus lactis	Pico (queso curado)	BLS	ensayo de difusión en pozos de agar para: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, L. monocytogenes and Cl. perfringens	-	Listeria monocytogenes. Clostridium perfringens. Resistentes las G(-) analizadas	
	3	PVOH/protein blend films embedded with lactic acid bacteria and their anti-listerial activity in pasteurized milk	2020	Settier-Ramírez, Gracia López-Carballo, Rafael Gavara, Pilar Hernández-Muñoz	Lactococcus lactis subsp. Lactis	Leche pasteurizada	nisina	recuento en superficie		Listeria monocytogenes	films hidrosolubles combinados con proteínas hidrolizadas
	4	Application of an alginate-based edible coating with bacteriocin-producing Lactococcus	2022	Silva, Susana C. Ribeiro, José A. Teixeira, Celia C.G. Silva	Lc. Lactis, Lc. Garvieae					aerobios mesófilos, Listeria monocytogenes	Films con BAL encapsuladas

		strains in fresh cheese preservation									
	5	Technological characterization of bacteriocin producing Lactococcus lactis strain employed to control Listeria monocytogenes in Cottage cheese	2012	Dal Bello, Luca Cocolina,*, Giuseppe Zeppa	Lactococcus lactis	Queso cottage	Nisina A, Nisina Z, Lacticina	recuento en profundidad	Listeria monocytogenes	queso cottage	
	6	Anti-Listeria activity of lactic acid bacteria isolated from golka, a regional cheese produced in Poland	2012	Sip, Michał Wiercicki*, Agnieszka Olejnik-Schmidt, Włodzimierz Grajek	L. garvieae 428 Lab, Lc. mesenteroides 25 Lab and Lb. plantarum 572 Lab	Queso semiduro fermentado (Golka)		Spot on the lawn (método del botón) para Listeria	bactericida	Listeria monocytogenes	cultivos iniciadores o protectores
	7	Expression of the hybrid bacteriocin Ent35-MccV in Lactococcus lactis and its use for controlling Listeria monocytogenes and Escherichia coli in milk	2020	Acuña, Natalia Corbalán, b, c, 1, Marcos Quintela-Balujab, Jorge Barros-Velázquez, b, Augusto Bellomio	Lc. lactis NZ9000	Leche descremada	Ent35-MccV (enterocina híbrida)			Amplio espectro G+, G- (E. coli y Listeria)	Leche
	8	Optimized fermentation of goat cheese whey with Lactococcus lactis for production of antilisterial bacteriocin-like substances	2017	Chaves de Lima, a, Janaína de Moura Fernandes, b, Haïssa Roberta Cardarelli	Lactococcus lactis		BLS				Suero como medio de cultivo

	9	Identification of bacteriocinogenic Lactococcus isolates from raw milk and cheese capable of producing nisin A and nisin Z	2012	Perin, Paula Mendonça Moraes, Gabriela Nogueira Viçosa, Abelardo Silva Júnior, Luís Augusto Nero	Lactococcus spp.	Leche y queso		spot on the lawn (método del botón)	Listeria spp, S. aureus, otras LAB	
	10	Purification and characterization of a broad spectrum bacteriocin produced by a selected Lactococcus lactis strain 63 isolated from Indian dairy products	2018	Goyal et al	Lactococcus lactis subs. lactis		Nisina Z	ensayo de difusión en pozos	Gram +, Gram - solo cuando se purificó las BTC	
	11	Lactolisterin BU-producer Lactococcus lactis subsp. lactis BGBU1-4: Bio-control of Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus in fresh soft cheese and effect on immunological response of rats	2020	Mirkovic et al	Lactococcus lactis subsp. lactis BGBU1-4	Queso maduro	lactolisterina BU		Listeria monocytogenes, S. aureus, Mohos y levaduras	
	12	Control of Listeria monocytogenes in fresh cheese using	2014	Coelho, C.C.G. Silva*, S.C. Ribeiro	Lactococcus lactis			ensayo de difusión en pozos		

		protective lacticacid bacteria									
	13	ANTIMICROBIAL IMPACT FOR LACTOCOCCUS LACTIS SUBSP.LACTIS A15 AND ENTEROCOCCUS FAECIUM A15 ISOLATED FROM SOME TRADITIONAL EGYPTIAN DAIRY PRODUCTS ON SOME PATHOGENIC BACTERIA	2016	EL-GHAISH1,3, MOHAMED KHALIFA1and AHMED	Lactococcus lactis subsp.lactis A15						
Pediococcus	14	Isolation ofPediococcus acidilacticiKp10 withability to secrete bacteriocin-like inhibitorysubst ance from milk products for applications infood industry	2015	Sahar Abbasiliasi1, Joo Shun Tan4, Tengku Azmi Tengku Ibrahim2, Ramakrishna n Nagasundara Ramanan3,F aezeh Vakhshiteh4, Shuhaimi Mustafa5, Tau Chuan Ling6, Raha Abdul Rahim7and Arbakariya B Ariff1	Pediococcus acidilactici	cuajada fresca, cuajada seca, granos de cacao	BLS Pediocina PA-1	-	-	Listeria monocytogenes	
	15	Pediocin PA-1 containing fermented cheese whey	2017	Kant Verma*, Shiv Kumar Sood, Ram	Pediococcus pentosaceous NCDC 27	Suero de queso	Pediocina A-1	spot on the lawn (método del botón)		Amplio espectro: excepto coliformes, mohos v levaduras	aplicación en leche cruda

		reduces total viable count of raw buffalo (Bubalis bubalus) milk		Krishan Saini, Neha						
	16	Bioutilization of paneer whey waste for production of paneer making powder containing pediocin PA-1 as a biopreservative to enhance shelf life of paneer	2019	Pandey	Pediococcus pentosaceus NCDC 27		Pediocina A-1			Polvo de suero antimicrobiano de grado alimentario para la producción de queso
	17	Antilisterial activity of chitosan-based edible coating incorporating cell-free supernatant from <i>Pediococcus pentosaceus</i> 147 on the preservation of fresh cheese	2020	Jutinico et al	<i>Pediococcus pentosaceus</i> 147				<i>Listeria monocytogenes</i>	Cubierta comestible en queso fresco
Lactobacillus	18	The role of spices and lactic acid bacteria as antimicrobial agent to extend the shelf life of metata ayib (traditional Ethiopian spiced fermented cottage cheese)	2015	Geremew & Ameha Kebede & Berhanu Andualem	<i>Lactobacillus</i> ,	queso cottage	BLS	ensayo de difusión en pozos de agar	<i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>E. coli</i>	Queso cottage

	19	Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by <i>Lactobacillus</i> spp. isolated from artisanal Mexican cheese	2015	Heredia-Castro,* José I. Méndez-Romero,* Adrián Hernández-Mendoza,* Evelia Acedo-Félix,† Aarón F. González-Córdova,* and Belinda Vallejo-Cordoba	<i>Lactobacillus</i> spp.	Queso cocido	BLS	difusión en discos	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , and <i>L. innocua</i>	
	20	Bio-preservation of white brined cheese (Feta) by using probiotic bacteria immobilized in bacterial cellulose: Optimization by response surface method and characterization	2020	Motalebi Moghanjougia, Mahmoud Rezazadeh Baria,*, Mohammad Alizadeh Khaledabada, Hadi Almasia, Saber Amiri	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Queso feta		Recuento en placa: bacterias totales, mohos y levaduras	<i>Aspergillus niger</i>	Film de celulosa bacteriana
	21	Identification and characterization of plantaricin Q7, a novel plantaricin produced by <i>Lactobacillus plantarum</i> Q7	2016	Liu, Lanwei Zhang*, Huaxi Yi*, Xue Han, Chunliang Chi	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Queso, yogur y Kumiss	plantaricina Q7	ensayo de difusión en pozos	Amplio espectro: G+ y G-, sensibles a la plantaricina Q7 incluyen varias bacterias del deterioro de los alimentos y patógenos transmitidos por los alimentos. Específicamente, bacterias Gram-positivas, <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111, <i>Staphylococcus aureus</i> ; Bacterias	

										gramnegativas, incluidas Escherichia coliATCC25922,PseudomonasfluorescensAS1.1802,PseudomonasputidaAS1.1819,Pseudomonas aeruginosaCICC21636,ShigellaflexneriATCC12022,Shigella sonneiATCC25931,Salmonella entericaserovar typhimuriumATCC140	
	22	A class III bacteriocin with broad-spectrum antibacterial activity from Lactobacillus acidophilus NX2-6 and its preservation in milk and cheeses	2021	Meng, Xiaoyu Zhua, Haizhen Zhaoa, Ting Niea, Fengxia Lua, Zhaoxin Lua,*, Yingjian Lu	Lactobacillus acidophilus NX2-6	Leche y queso	bacteriocina NX371		Bactericida	Amplio espectro: E. coli, Salmonella, Listeria, Staphylococcus y Enterobacter	Leche y queso. Amplio pH 3-8 (no se inactiva por pH neutro)
	23	A novel bacteriocin produced byLactobacillus plantarumLpU4as a valuable candidate for biopreservation in artisanalraw milk cheese	2015	C. Milioni1,3&B. Martínez2&S. Degl'Innocenti3&B. Turchi3&F. Fratini3&D. Cerri3&R. Fischetti	Lactobacillus plantarum LpU4	Queso fresco de leche cruda (Pecorino)	Plantaricina LpU4	ensayo de difusión en pozos	bacteriostático	G+. S. aureus MRSA	Queso
	24	Biochemical, antimicrobial and molecular characterization of a noncytotoxicbacteriocin produced	2013	Ruiz Martinez a,*, Monica Wachsmann b, Nicolas Ignacio Torresb, Jean Guv	Lactobacillus plantarum ST71KS	queso feta			Bactericina: formación de poros	Listeria monocytogenes, enterococcus, lactobacillus	

		byLactobacillus plantarumST71KS		LeBlanc,d,Svetoslav Dimitrov Todorova, Bernadette Dora Gombossy de Melo Franc						
	25	Novel antifungal bacteriocin from lactobacillus paracasei KC39 with anti-mycotoxigenic properties	2018	Shehata1, Ahmed Noah Badr2*, andSobhy AhmedEl Sohaimy	Lactobacillus paracasei KC39	queso		spot on the lawn		Aspergillus parasiticus, A. carbonarius
Streptococcus	26	Screening for antimicrobial and proteolytic activities of lactic acidbacteria isolated from cow, buffalo and goat milk and cheesesmarketed in the southeast region of Brazil	2015	Fabricio L Tulini1, Nolwenn Hymery2, Thomas Haertlé3, Gwenaëlle Le Blay4andElaine C P De Martinis	Streptococcus uberis	leche y queso		Spot on the lawn (método del botón) para Listeria, Actividad antifúngica		
	27	Macedovicin, the second food-grade lantibiotic produced by Streptococcus macedonicusACA-DC 198	2013	Georgalakia, 1, Konstantinos Papadimitrioua,*1, Rania Anastasioua, Bruno Potb,c,d,e,Gonzalez Van Driesschef, Bart Devreese,Effie Tsakalidou	Streptococcus macedonicus ACA-DC 198	Queso griego Kasseri	macedovicina	ensayo de difusión en pozos: con extracto crudo (CFSupernadante), Precipitado de Amonio Sulfato y purificado por RPCromatografía	-	Clostridium, Streptococcus patógenos, Listeria, Bacilus. NEGATIVO para G-

	28	Diversity of Streptococcus thermophilus in bacteriocin production; inhibitory spectrum and occurrence of thermophilin genes	2013	Rossi*, Marta Marzotto, Silvia Cremonese, Lucia Rizzotti, Sandra Torriani	Streptococcus thermophilus					
	29	Effect of in situ produced bacteriocin thermophilin T on the microbiological and physicochemical characteristics of Myzithra whey cheese	2018	Kaminarides	Streptococcus thermophilus ACA-DC 004	Termofilina T	ensayo de difusión en pozos		Coliformes y Micrococcus	queso de suero