

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ESPECIES DE *Streptomyces* CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA BACTERIAS PATOGENAS DEL CERDO.

A. Sánchez*, M. Juárez, N. Soto, H. Lara, R. Robles, E. Hernández, S. E. Mendoza, J. A. Ciprián.
Coordinación General de Estudios de Posgrado. FES-C UNAM, Av. 1o de Mayo S/N, Colonia Atlanta
Cuautitlán Izcalli, C.P. 54700, AP 222, FAX 8730834. Cátedra: Microbiología de las Enfermedades
Respiratorias del Cerdo. PADEP 100001. *Becario CONACyT 85892.

INTRODUCCION

El suelo es un reservorio natural para el exitoso desarrollo de la biomasa microbiológica y en especial la bacteriana. En este habitat el grupo de microorganismos predominante lo constituyen los actinomicetos con el género *Streptomyces* (1).

De acuerdo a las condiciones físicas y químicas del suelo, así como a su uso y manejo, las poblaciones de estreptomicetos son variables en cuanto a su densidad y diversidad, permaneciendo preferentemente en forma de esporas (2).

Estudios sobre el aislamiento de cepas de estreptomicetos del suelo han permitido obtener un gran número de antibióticos producidos en medios de fermentación adecuados(3).

La gran mayoría de estos aislamientos se refieren a zonas de bosques, selvas, praderas, zonas de cultivo, sedimentos marinos e incluso excrementos de aves. Lo anterior nos permite plantear el aislamiento de estas cepas en suelos de una granja porcícola en la cual el excremento producido es depositado en la superficie.

MATERIAL Y METODOS

Sitio de muestreo: La granja porcícola seleccionada para este estudio cuenta con una superficie de 250 m² y se localiza en el municipio de Cuautitlán, Edo. de México.

Material biológico - suelos: Se tomaron 30 muestras de suelo. Se colectaron 10 muestras de suelo de cada una de las siguientes profundidades 0-5, 5-10 y 10-15 cm., determinando su pH, % m.o., %H y textura.

Aislamiento: Se preparó una suspensión 1:2 de cada muestra de suelo en agua desionizada estéril y se sembraron por dilución en medio de agar almidón-caseína con antibióticos y antimicóticos, incubando a 30°C durante 21 días (4).

Cultivo: Las cepas de estreptomicetos aisladas de cada muestra de suelo se cultivaron y purificaron en medio de agar extracto de malta y levadura, incubando durante 14 días a 30°C y a partir de estas se realizaron pruebas bioquímicas.

Crecimiento y morfología: Las cepas de estreptomicetos purificadas se sembraron en los medios recomendados por el International Streptomyces Project para evaluar su crecimiento, color de micelio y producción de pigmentos, así como la asimilación de carbohidratos(5).

Microscopía electrónica: Para observar la superficie de la espora y la forma de crecimiento de la cadena de esporas, se utilizó microscopía electrónica de barrido. Las cepas aisladas se mantuvieron en crecimiento durante 7 días en agar extracto de malta - extracto de levadura, fijándose durante 48 hrs. con vapores de tetraóxido de osmio.

Actividad antimicrobiana: Las cepas purificadas se inocularon en medio de esporulación extracto de malta - extracto de levadura-glucosa, 3 ml. de este medio se inoculó en medio de fermentación histidina-ac. glutámico-fructuosa-sales minerales. Ambos medios se incubaron en agitación a 30°C 130 rpm. Cada 24 hrs. se tomaron 5 ml. de sobrenadante, se centrifugaron y esterilizaron. Discos de papel Whatman # 1 se impregnaron con 20µl de sobrenadante y se colocaron en cajas de medio Mueller Hinton con cada una de las siguientes bacterias ATCC patógenas del cerdo: *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* tipo A y D, *B. bronchiseptica*, *H. parasuis*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. faecalis* y *S. typhi*.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a las condiciones físico-químicas promedio del suelo de la granja porcícola.

Tabla 1. Análisis de suelos

PROFUNDIDAD	pH	MO	H ⁺	TEXTURA
0-5	7.29	6.49	4.18	ARCILLOSA
5-10	6.97	6.49	3.87	ARCILLOSA
10-15	6.49	6.49	3.20	ARCILLOSA

Las UFC promedio obtenidas en los aislamientos de los estreptomicetos presentes en el suelo fue de 3.5 x 10⁷/g de suelo. Se aislaron un total de 13 cepas del género *Streptomyces* confirmadas con las pruebas bioquímicas practicadas.

Respecto a la utilización de carbohidratos todas las cepas fueron positivas a fructuosa, glucosa, inositol y manitol, y negativas para ramnosa, salicin y xilosa. Mientras que para arabinosa, galactosa, rafinosa y sacarosa fue variable. El crecimiento en todos los medios ISP resultó positivo exceptuando el medio ISP5 que fue limitado.

Tabla 2. Características morfológicas

Característica	1	2	3	5	6	7	8	9	11	13
Color	bc	gc	gr	bc						
Forma	sm									
Apéndice	s	rf	s	rf						

bc= blanco gr= gris sm= liso h= apéndice s= espiral
rf= rectoflexuoso

Se determinó el género de las 13 cepas, solo obteniendo la especie en 10 de ellos.

Cuando se evaluó la actividad antimicrobiana de los sobrenadantes de cultivo, 4 cepas no mostraron actividad y 9 cepas tuvieron actividad variable contra las bacterias de prueba. La cepa 1 mostró la mayor actividad antimicrobiana inhibiendo el crecimiento de 6 cepas patrón, no mostrando actividad en contra de *A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* A y *B. bronchiseptica*.

DISCUSION

La diversidad de especies encontradas en la zona de muestreo represento un alto índice, lo cual era esperado debido a las condiciones fisicoquímicas del suelo, tomando como referencia el pH, la textura y el gran aporte de materia orgánica obtenida por las excretas de los cerdos de la granja. Esto permitió obtener, por un lado un número apreciable de cepas de diferente especie y, por otro lado un alto porcentaje (76.9%) de cepas productoras de posibles agentes antimicrobianos. Se encontró actividad variable hacia las bacterias evaluadas. El 10 % de las cepas tuvieron actividad solo en contra de grampositivos, el 30 % solo en contra de gramnegativos y el 60 % restante presento actividad en contra de ambos grupos. Debe señalarse que en general, existe una pobre actividad en contra de los agentes considerados como productores de afecciones respiratorias, en contraste a una mayor actividad de agentes productores de afecciones gastrointestinales. Del total de las cepas fue seleccionada una que presento actividad en contra de seis de las nueve bacterias de prueba, que se considera puede producir uno o varios agentes antimicrobianos que podrían estar dentro del grupo de los antibióticos de mediano o amplio espectro, cuyo estudio sería de utilidad para el tratamiento de infecciones bacterianas en las granjas porcícolas.

BIBLIOGRAFIA

- Godfellow, T., Williams, R. (1983). Ann. Rev. Microbiol. 37: 189-216.
- Lloyd, A.B. (1969). J. Gen. Microbiol. 56: 165-170.
- Chao-Min, L., et al. (1992). J. Antibiotics. 46: 275-279.
- Kuster, E., Williams, S. T. (1964). Int. J. Syst. Bacteriol. 16: 313-340.
- Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966). Int. J. Syst. Bacteriol. 16:313-340.