



“ANÁLISIS BACTERIOCINOGÉNICO Y CAPACIDAD HEMOLÍTICA EN CEPAS DE *Enterococcus faecalis* DE DIFERENTE ORIGEN CLÍNICO”

**PAULA ELIZABETH PINTO LEITE
LICENCIADO EN TECNOLOGIA MÉDICA**

RESUMEN

El presente estudio tiene por objetivo investigar la presencia de factores de virulencia presentes en 182 cepas de *Enterococcus faecalis* aislados de diferentes fuentes clínicas (equivalentes a: 42 cepas de procedencia desconocida, 71 muestras de urocultivo, 5 de coprocultivo, 45 de secreciones y 19 de endodoncia). Este trabajo investigativo se enfoca a la detección de la producción de hemolisinas y bacteriocinas enterocócicas.

La producción de hemolisinas se manifestó como la capacidad de estas cepas de hemolizar el medio de cultivo (agar sangre) en el cual fueron sembradas y posteriormente incubadas a 37° C por 24 – 48 horas. Además se evaluó si la hemólisis producidas por las cepas era alfa o beta.

Para la detección de bacteriocinas se utilizaron las mismas 182 cepas de *E. faecalis* además de 4 cepas blanco (*L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. epidermidis* y *Streptococcus* del grupo B) que abarcaron un amplio espectro bacteriano (gram positivas y negativas). Las cepas fueron incubadas en caldo nutritivo (caldo soya) a 37° C durante 30 horas en agitación constante, luego se tomó 1 ml del inóculo y se centrifugó a 13.000 rpm durante 10 minutos, del sobrenadante resultante se tomaron 100 µl que fueron utilizados para realizar la técnica de Spot lawn modificado.

Posteriormente del total de cepas bacteriocinogénicas se escogieron al azar 3 para estudiar su curva de crecimiento bacteriano y simultáneamente

determinar el título de las bacteriocinas producidas por ellas, obteniendo la hora de la incubación a la cual se produce la mayor actividad bacteriocinogénica.

Finalmente se observó que del total de muestras estudiadas 84 (46.2%) expresaron actividad hemolítica, y de estas, las muestras provenientes de urocultivo fueron las que en mayor número expresaron en mayor número este factor de virulencia. Las cepas de *E. faecalis* hemolíticas expresaron alfa y beta hemólisis; sin embargo, del total de cepas hemolíticas, 59 (70%) fueron beta hemolíticas y 25 (30%) alfa hemolíticas.

En cuanto a los resultados arrojados en el estudio de producción de bacteriocinas, 88 (48%) resultaron ser bacteriocinogénicas, observándose el mismo patrón anterior, en donde el mayor número de cepas productoras de bacteriocinas son aquellas aisladas de urocultivo (56% del total de muestras aisladas de este origen clínico).

Cabe destacar que durante este estudio se encontró que la cepa más susceptible a la acción bacteriocinogénica de estas muestras de *E. faecalis* resultó ser *L. monocytogenes*.

El crecimiento bacteriano de las 3 cepas bacteriocinogénicas estudiadas muestra un comportamiento similar en los tres casos, observándose una curva con fase crítica y sin fase estacionaria (hasta las 57 horas de incubación). De forma paralela, la titulación de estas bacteriocinas mostró que la mayor actividad bacteriocinogénica (3200 UA/ml) expresada por la cepa nº 177 contra *L. monocytogenes* fue a las 2 horas de incubación observándose halos de inhibición notorios a ojo desnudo; por su parte la cepa nº 145 bacteriocinogénica contra *L. monocytogenes* y *S. epidermidis* expresa la mayor actividad bacteriocinogénica a las 8 horas de incubación con halos medianamente notorios e igual actividad que la cepa anterior. Como se puede apreciar en ambas cepas la producción de bacteriocinas se inicia durante la primera fase de crecimiento exponencial.

La cepa nº 170 activa contra *L. monocytogenes* produce bacteriocinas a las 24 horas de incubación, los halos de inhibición producidos son medianamente notorios y la actividad expresada también es de 3200 UA/ml, mientras que con *E.coli*, se alcanza la misma actividad se alcanza a las cuatro horas de iniciada la incubación con producción de halos poco notorios a ojo desnudo.

Por lo tanto, se puede concluir que las cepas de *E. faecalis* más virulenta de acuerdo a los dos factores de virulencia estudiados en el presente trabajo son aquellas cepas aisladas desde urocultivo. La cepa blanco más susceptible a las bacteriocinas de *E. faecalis* resultó ser *L. monocytogenes*. Las bacteriocinas de la mayoría de los *E. faecalis* estudiados se producen durante la primera fase de crecimiento exponencial y la actividad bacteriocinogénica promedio encontrada resultó ser de 3200 UA/ml.