



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación de la capacidad de competencias bacterianas de cepas probióticas frente a cepas presentes en el tracto gastrointestinal de bovinos.

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Edison Alejandro Boada Medina

Tutor: Mg. María Daniela Garcés Moncayo

Ambato – Ecuador

Febrero – 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 16 de enero de 2025



Mg. María Daniela Garcés Moncayo

1803571585

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Edison Alejandro Boada Medina, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Edison Alejandro Boada Medina

1804140703

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Edison Alejandro Boada Medina

1804140703

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Firmado electrónicamente por:
**ESTEBAN MAURICIO
FUENTES PEREZ**

Presidente del Tribunal



Firmado electrónicamente por:
**DANAE FERNANDEZ
RIVERO**

Mg. Danae Fernández Rivero.

1757181209



Firmado electrónicamente por:
**MANOELLA ALEJANDRA
SANCHEZ GARNICA**

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica.

0604079871

Ambato, 30 de Enero de 2025

DEDICATORIA

En primer lugar, agradezco a Dios, por ser mi guía constante, por darme fortaleza en los momentos difíciles y por llenar mi vida de fe y esperanza para alcanzar esta meta.

A mis padres, Fernando y Charito cuya sabiduría, amor y apoyo incondicional han sido fundamentales en cada paso de mi vida. Gracias por enseñarme el valor del esfuerzo y por creer en mí incluso cuando yo dudaba. Todo lo que soy se lo debo a ustedes.

A mis hermanas, Stefy que a lo lejos me ha apoyado dando fuerzas, palabras motivacionales y sobre todo amor y Cristina por su cariño, comprensión y palabras de ánimo en los momentos más desafiantes. A las dos que han sido mis pilares fundamentales, gracias a su apoyo me ha dado energía para seguir adelante.

A mis amigos, quienes con su compañía, anécdotas y duras noches de trabajos han hecho de este camino un viaje más llevadero y lleno de buenos momentos. Eri, Mateo, Niko, Erik, Katty, Yuli, Moli, Rebeca, Beta, Karlita, Monse, Jorge, Licha, Mela y compañeros de aula. Gracias por siempre estar ahí, compartiendo alegrías y ofreciéndome su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la fortaleza y sabiduría para cumplir una etapa más de mi vida, por guiarme cada día y llevarme con bien a mi destino.

A mis padres Fede y Chary, por su apoyo incondicional, sus consejos que cada día me ayudaban a motivarme y así poder seguir adelante, por cada día preocuparse si había comido y ayudarme con los gastos que implicaba esta etapa.

A mi hermana Stefy que me ha apoyado siempre ya sea con palabras, acciones e incluso desde la distancia gracias por siempre estar conmigo, a mi hermana Cristina que con sus locuras, consejos y risas me ha motivado a seguir adelante y ser una motivación para ella.

A mi mejor amiga, mi acompañante de vida, mi confidente, Judith, que, con sus palabras, sus acciones y amor incondicional me ha ayudado hacer mejor cada día, la misma que ha podido sacar lo mejor de mí, que ha sido mi lugar seguro en momentos difíciles. Gracias por estar ahí en momentos complicados y ser la compañía que me ha sacado sonrisas en cada situación,

A mi tutora María Daniela por compartir su conocimiento, con paciencia, ética y sobre todo pasión sobre su trabajo, gracias por su apoyo incondicional por ser una amiga que me ha brindado consejos valiosos, por su orientación y confianza que fueron esenciales para realizar este trabajo.

A mis mascotas Caramelo, Chispín, Mary y George que me han acompañado en esta etapa, ayudándome a seguir adelante con sus travesuras, que en noches frías me han acompañado. A mi compañera de rutas la cual me ha llevado y regresado con bien a mi casa, y universidad, todos los días, mi pequeña Grich. A mis primos, Gabriel, Martín y David que me han ayudado a seguir, especialmente cuando estaba cansado y decían ponte un Free, en esos momentos de estrés y seguir adelante.

¡En fin, gracias a todos por esta nueva etapa, Dios, Patria y Libertad!

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.1.1. Generalidades Globales.....	3
1.1.1.2. Uso indiscriminado de antibióticos.	3
1.1.1.3. Resistencia a los antimicrobianos (RAM).	3
1.1.1.4. Competencia bacteriana.	4
1.1.2. Uso de probióticos.	5
1.1.2.1. Bacterias del ácido láctico y su seguridad como probióticos.....	6
1.1.2.2. Los probióticos inhiben a los patógenos intestinales	7
1.1.2.3. Probióticos en la producción de agentes antioxidantes.	7
1.1.2.5. Uso de probióticos para el control de colesterol y azúcares reductores.	8
1.1.3. Mecanismo de acción de los probióticos.....	9
1.1.4. Simulación de condiciones gástricas	12
1.2. Objetivos	13
1.2.1. Objetivo General	13
1.2.2. Objetivos Específicos.....	13
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA	14
2.1. Materiales.	14
2.2. Métodos	17

2.2.1. Establecimiento de las condiciones de los sistemas de cultivos de las cepas probióticas frente a bacterias del tracto gastrointestinal.....	17
2.2.2. Determinación de la capacidad de adherencia de las cepas probióticas.....	19
2.2.3. Reconocer el grado de reducción del colesterol y azúcares reductores de las cepas probióticas.	20
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
3.1. Análisis y discusión de los resultados.....	22
3.1.1. Competencia bacteriana.....	22
3.1.2. Formación de biofilms.....	24
3.1.3. Reducción de azúcares reductores.....	26
3.1.3.1. Reducción de colesterol en presencia de sales biliares.	27
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	30
4.1. Conclusiones	30
4.2. Recomendaciones.....	32
MATERIALES DE REFERENCIA	33
ANEXOS.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Reactivos de Laboratorio</i>	14
Tabla 2. <i>Material de laboratorio</i>	15
Tabla 3. <i>Equipos de laboratorio</i>	16
Tabla 4. <i>Interpretación de la producción de biopelículas basada en valores de densidad óptica del método de placa de cultivo de tejidos.</i>	20
Tabla 5. <i>Resultados de UFC/ mL de cada cepa Probiótica.</i>	24
Tabla 6. <i>Resultados de las adherencias de las cepas probióticas formación de biofilms.</i>	26
Tabla 7. <i>Resultados de la determinación de azúcares reductores.</i>	27
Tabla 8. <i>Resultados obtenidos de la determinación de reducción de colesterol en presencia de sales biliares.</i>	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Principales mecanismos de acción de los probióticos</i>	9
Figura 2. <i>Diluciones seriadas de las cepas probióticas</i>	24

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1. <i>Proceso de conteo de colonias y elaboración de agar MRS, MacConkey, XLD.</i>	40
Anexo 2. <i>Proceso de conteo de colonias en agar MRS, XLD y MacConkey de la cepa 7.</i>	40
Anexo 3. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 19.</i>	41
Anexo 4. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 21.</i>	41
Anexo 5. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 7.</i>	41
Anexo 6. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 2.</i>	42
Anexo 7. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 4.</i>	42
Anexo 8. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 20.</i>	42
Anexo 9. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 5.</i>	43
Anexo 10. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 1.</i>	43
Anexo 11. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 16.</i>	43
Anexo 12. <i>Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 29.</i>	44
Anexo 13. <i>Cálculos demostrativos Cálculo de UFC/mL</i>	44
Anexo 14. <i>Cálculo demostrativo de la Cepa 19</i>	44
Anexo 15. <i>Proceso de obtención de resultados de Biofilms o Biopelículas en placa de 96 pocillos.</i>	45
Anexo 16. <i>Resultados de absorbancia de la reducción de azúcares reductores.</i>	46
Anexo 17. <i>Cálculo demostrativo para generar la ecuación de la curva de glucosa.</i>	46
Anexo 18. <i>Proceso de obtención de azúcares reductores, des pues del método DNS.</i>	47
Anexo 19. <i>Proceso para obtener la reducción de colesterol.</i>	48
Anexo 20. <i>Porcentaje de reducción de colesterol</i>	48
Anexo 21. <i>Caracterización de Cepas Probióticas.</i>	49
Anexo 22. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 20.</i>	49
Anexo 23. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 1.</i>	51
Anexo 24. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 5.</i>	52
Anexo 25. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 16.</i>	53
Anexo 26. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 2.</i>	54
Anexo 27. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 4.</i>	55
Anexo 28. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 29.</i>	56
Anexo 29. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 7.</i>	57
Anexo 30. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 19.</i>	58
Anexo 31. <i>Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 21.</i>	59

RESUMEN EJECUTIVO

Los probióticos, particularmente las bacterias ácido-lácticas (BAL), son microorganismos con propiedades terapéuticas que mejoran la salud intestinal de los animales al resistir condiciones adversas del tracto gastrointestinal, como la acidez, los jugos pancreáticos y la bilis. Estas bacterias, como *Lactobacillus* sp., *Weissella* spp., *Leuconostoc* spp. y *Pediococcus* sp., se destacan por sus aplicaciones en diversos sectores. Sin embargo, su uso indiscriminado plantea preocupaciones relacionadas con la resistencia bacteriana y sus implicaciones para la salud pública. Los probióticos favorecen la microbiota intestinal mediante mecanismos como la competencia por sustratos y la modulación de la respuesta inmune, aunque pueden adquirir genes de resistencia a antibióticos, lo que resalta la necesidad de un uso controlado. Este estudio evaluó 10 cepas de BAL con potencial probiótico, analizando su capacidad de competencia bacteriana, formación de biofilm, reducción de azúcares y disminución de colesterol. Se desarrolló un sistema de cultivo in vitro frente a bacterias gastrointestinales para evaluar la supervivencia de las BAL en condiciones simuladas. La cantidad de azúcares reductores se midió con la técnica del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) y la asimilación de colesterol con caldo MRS suplementado con 0,4 por ciento de sales biliares y 1 por ciento de colesterol. Los resultados mostraron que las cepas analizadas poseen un alto potencial para inhibir bacterias patógenas, reducir azúcares y disminuir el colesterol, lo que subraya su relevancia como promotores de la salud intestinal y su contribución al bienestar animal.

Palabras clave: Microbiota, probióticos, bacterias ácido-lácticas (BAL), colesterol, azúcares reductores, competencia, biofilms, biopelículas, antibióticos.

ABSTRACT

Probiotics, particularly lactic acid bacteria (LAB), are microorganisms with therapeutic properties that improve the intestinal health of animals by resisting adverse conditions in the gastrointestinal tract, such as acidity, pancreatic juices, and bile. These bacteria, including *Lactobacillus* spp., *Weissella* spp., *Leuconostoc* spp., and *Pediococcus* spp., stand out for their applications in various sectors. However, their indiscriminate use raises concerns related to bacterial resistance and its implications for public health. Probiotics enhance the intestinal microbiota through mechanisms such as substrate competition and modulation of the immune response, although they can acquire antibiotic resistance genes, highlighting the importance of controlled use. This study evaluated 10 LAB strains with probiotic potential, analyzing their bacterial competition capacity, biofilm formation, sugar reduction, and cholesterol-lowering ability. An in vitro culture system was developed to assess LAB survival under simulated gastrointestinal conditions. The amount of reducing sugars was measured using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method, while cholesterol assimilation was evaluated using MRS broth supplemented with 0.4 percent bile salts and 1 percent cholesterol. The results showed that the analyzed strains have high potential to inhibit pathogenic bacteria, reduce sugars, and lower cholesterol levels, underscoring their relevance as promoters of intestinal health and contributors to animal well-being.

Keywords: Microbiota, probiotics, lactic acid bacteria (LAB), cholesterol, reducing sugars, competition, biofilms, antibiotics.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

La competencia que se da entre la microbiota intestinal la cual tienen una correlación en los sistemas biológicos, generando interacciones huésped-microbiota representado diversos factores en el desarrollo y crecimiento de la salud del ser vivo. Las comunidades microbianas en el tracto intestinal de diferentes animales se han desarrollado de la mano de su estrategia de digestión (**Duque S et al., 2023**). En los animales monogástricos, la fermentación bacteriana se ha concentrado en el tracto gastrointestinal inferior, mientras que, en los rumiantes, las bacterias son responsables de la digestión inicial de la dieta. Menciona **Hernández E et al., (2019)** que en la mayoría de los animales se encuentran sitios similares al rumen con una diferencia en la fermentación bacteriana intensa.

En la actualidad los probióticos, son conocidos por tener diversos beneficios y propiedades profilácticas los cuales pueden ser terapéuticos, medicinales, etc. En los últimos años han sido utilizados de manera indiscriminada en la industria ganadera, alimenticia, farmacéutica, etc. Debido a que estos productos están controlados como sustancias farmacéuticas, las mismas deben cumplir diversas pautas las cuales pueden ser registro y autorizaciones, control de calidad, etiquetado adecuado, pruebas de eficiencia y eficacia (**Mackie et al., 2020**). Menciona **Verhoeckx et al., (2015)** que, en países de Europa y Asia donde la seguridad alimentaria ha adoptado un enfoque de presunción cualificada de seguridad para utilizar probióticos en alimentos, no requieren un mayor cuidado en presencia de virulencia y otros factores de riesgo.

Generando una resistencia y provocando problema en la salud pública mundial. Según **Tompkins et al., (2008)** el uso indiscriminado e inadecuado ha llevado a una crisis en la disminución de la sustentabilidad y un aumento progresivo a la resistencia de probióticos. Este uso ha causado que los microorganismos puedan adaptarse a un ambiente más riguroso y sobreviviendo mediante la adquisición de genes de resistencia a diferentes cepas.

Según **Brodkorb et al., (2019)** las investigaciones recientes que utilizan enfoques moleculares han revelado una microbiota intestinal humana que comprende más de 1000 fenotipos. Los diferentes mecanismos por los cuales los probióticos impactan a la microbiota intestinal incluyen competencias por sustratos, antagonismo directo de las diversas sustancias inhibidoras, como la una función de barrera mejorada y una respuesta inmune alterada (**Mulet C et al., 2020**).

En la antigüedad se utilizaban a los probióticos tradicionalmente para conservar productos alimenticios por fermentación. Según **O'Toole & Cooney, (2008)**, los probióticos se incluyen en una amplia gama de formulaciones de consumo, bebidas, cápsulas, suplementos alimenticios que representan un impacto significativo en el mercado moderno. Los organismos utilizados como agentes probióticos que se utilizan con frecuencia son del género: *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, también se emplea bacterias como *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces boulardii*. Por lo tanto, un microorganismo empleado como agente probiótico no es necesariamente parte de la microbiota del huésped (**Tegegne & Kebede, 2022**).

Sin embargo, según, **Apajalahti, (2005)** los microorganismos utilizados como probióticos no están exentos de adquirir genes de resistencia a los antibióticos, debido a que su ambiente microbiano esta compartido y en constante competencia en el tracto gastrointestinal, existiendo un riesgo de que los organismos patógenos cedan genes de resistencia a diferentes cepas probióticas o viceversa.

En base a lo mencionado, el presente trabajo de investigación plantea la evaluación de la capacidad de competencias bacterianas de cepas probióticas frente a cepas presentes en el tracto gastrointestinal de bovinos para mejorar la salud intestinal de los animales, optimizar la digestión y la absorción de nutrientes de manera eficaz y eficiente, con potencial de reducir la necesidad de antibióticos, manteniendo una microbiota en equilibrio.

1.1.1. Generalidades Globales.

1.1.1.2. Uso indiscriminado de antibióticos.

La respuesta evolutiva, los cambios adaptativos de un microorganismo van evolucionando cada vez que se hacen resistentes a los antibióticos a través del material genético del organismo. Algunos de estos genomas mencionan **Dadgostar, (2019)** que poseen genes de resistencia a los antibióticos que les ofrece la capacidad de sobrevivir a la exposición contra los antibióticos. En varios estudios recientes, los investigadores han demostrado que la presencia de estos genes resistentes se ven afectados por su ecología microbiana, provocando así la interacción entre los antibióticos y el entorno natural de la microbiota.

Una de las causas principales en la actualidad de la multiresistencia es el uso indiscriminado de los antimicrobianos. Según **Tegegne & Kebede, (2022)** esto ha sido un problema de salud pública del siglo XXI. Desde el 2006, todos los países de la Unión Europea (UE) han prohibido el uso indiscriminado de antibiótico con la única intención de promover el crecimiento en la industria ganadera, agrícola, alimenticia. Sin embargo, **Mulet C et al., (2020)** que en países de potencia mundial como Estados Unidos (EE. UU), no han implementado reglas o políticas estrictas sobre el uso de antibióticos para el crecimiento del ganado. Y en otros países no tienen ninguna política establecida con respecto al uso de antibióticos como promotores de crecimiento, considerándose con un grave impacto al momento de no ser monitoreados con ninguna entidad a fin. Cada año el número de infecciones y muertes debidas por muertes bacterianas son más frecuentes en cepas como: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

1.1.1.3. Resistencia a los antimicrobianos (RAM).

Los antibióticos se utilizan para tratar una amplia gama de infecciones bacterianas que pueden ser mortales, tanto de manera curativa o profiláctica. Según **Latif et al., (2023)** los antibióticos han sido expuestos de manera exagerada en la población mundial, de manera directa o indirecta. El uso de antibióticos a gran escala destruye a las bacterias normales del intestino y la microbiota intestinal.

Los mecanismos de defensa del tracto gastrointestinal de los mamíferos de la colonización bacteriana son muy complejos. La inflamación intestinal, que es causada por un desequilibrio en la microbiota intestinal entre bacterias comensales y patógenas, provoca que la capa de moco se desequilibre y desaparezca, lo que genera que patógenos y sus metabolitos pasen a través de la membrana de moco e invadan las células epiteliales intestinales. Menciona **Bermudez B et al., (2012)** que en la mayoría de los mamíferos el tracto gastrointestinal están colonizado por dos tipos de bacterias: patógenos y microbiota nativa.

La resistencia a los antibióticos compromete la capacidad del sistema inmunológico humano para combatir enfermedades infecciosas y también contribuye a diferentes enfermedades en los pacientes más vulnerables sometidos a cirugías, quimioterapias, diálisis, etc. Según **Taneja & Sharma, (2019)** las personas con enfermedades crónicas como el asma, diálisis, o artritis son las que se ven afectados gravemente por la resistencia a los antibióticos.

Los antibióticos en la agricultura es uno de los factores más importantes que contribuyen en la resistencia a los antimicrobianos en los seres humanos. Según **Magouras et al., (2017)** menciona, en los Estados Unidos, aproximadamente el 80% de los antibióticos se aplican en los alimentos que consumen los animales, más de 63.300 toneladas de antibióticos en la producción ganadera de todo el mundo, por lo que es una cantidad significativa para el consumo del ser humano. Cabe mencionar que el uso de antibióticos para tratar animales enfermos se añade en gran cantidad en alimentos o en agua potable (**Tompkins et al., 2008**).

Las bacterias resistentes pueden introducirse en el medio ambiente de diferentes maneras, una de ellas en la aplicación de estiércol del ganado como fertilizante. Por esta razón es preocupante el consumo mundial de antibióticos. Según **Tegegne & Kebede, (2022)** la carga de la RAM a nivel mundial no está bien cuantificada. Las granjas de producción de animales son ecosistemas complejos, donde las bacterias de origen animal o de seres humanos y los entornos agrícolas se mezclan entre sí constantemente debido a la aplicación de estiércol en el suelo agrícola (**Apajalahti, 2005**).

1.1.1.4. Competencia bacteriana.

Existen diversas ventajas en el ecosistema microbiano natural contra los patógenos, existen diversas aplicaciones que incluyen la facilidad de aplicación debido a los bajos costos y mano de obra. En muchos aspectos, la ecología microbiana dentro del intestino se puede comparar con la ecología del mundo microbiológico. Según **Huber et al., (2021)**, el tracto intestinal es muy diverso, el cual contiene más de 2000 especies conocidas. Debido a las densidades de población intestinal extremadamente altas, existen competencias por los nutrientes, por ende, los nichos ambientales son más intensos en la jungla microbiológica.

Los cambios se producen más rápido en el mundo microbiano, lo que requiere una mayor adaptabilidad y desafíos por parte de los hábitats microbianos. Menciona **Callaway et al., (2008)** que existe una relación sinérgica entre el animal y su ecosistema microbiano gastrointestinal lo cual es fundamental para la salud y el bienestar del huésped. Existen diversas mejoras competitivas que han desarrollado en el transcurso del tiempo como es la introducción de una población microbiana al tracto gastrointestinal, o a la vez la adición de un suplemento microbiano llamado probiótico o suplemento alimenticio.

Como señala **Huber et al., (2021)** las especies bacterianas que mejor se adapta para ocupar un hábitat particular dentro de la microbiota intestinal serán una de las exitosas y por ende es la que prevalecerá en el tracto intestinal. Además, menciona **Latif et al., (2023)** que una población microbiana establecida y con todas las condiciones y nutrientes disponibles hace que el animal sea más resistente a la colonización por bacterias patógenas, a esta actividad se le denomina “antagonismo bacteriano”.

1.1.2. Uso de probióticos.

Existen microorganismos considerados probióticos que comprenden un grupo extenso de bacterias Gram Positivas, como *Bifidobacterium* sp, *Lactobacillus* sp, *Enterococcus* sp, levaduras como *Saccharomyces* sp, *Leuconostocaceae* sp, etc, la mayoría perteneciente a las bacterias Ácido-Láctica (BAL), las cuales en los últimos años se han estudiado, considerándose unas de las mejores cepas probióticas para obtener un mejor resultado, ya sea en la prevención de un estado patológico o mejora de la salud general, menciona **So, (2019)** que esta clase de cepas tienen el beneficio de sobrevivir en el tracto intestinal en un ambiente ácido láctico, jugo pancreático y bilis, efectuando así beneficios en la parte del intestino delgado y colon.

Según **Magouras et al., (2017)** al limitar el uso de antibióticos, con el uso de probióticos ayuda a disminuir la tasa de desarrollo de cepas resistentes a los antibióticos. **Dadgostar, (2019)** menciona que existe animales de granja que se adaptan a una relación simbiótica con microorganismos, desarrollándose en los órganos gastrointestinales permitiendo una fermentación microbiana. Por otro lado, la capacidad de los animales de granja en fermentar polisacáridos complejos con la ayuda de su microbiota intestinal proporciona hasta un 70% de la energía adquirida por los rumiantes y hasta el 30% de la energía por los animales monogástricos.

Existen estudios en la cría de ganado, en donde se informó que el uso de probióticos no contiene efectos significativos en la reducción de patógenos en el ganado, sin embargo, *Escherichia coli* O157:H7, es un patógeno transmitido por alimentos capaces de causar varias enfermedades hemorrágicas en los seres humanos, las cuales eran eliminados por los bovinos en sus heces. Menciona **Harbarth et al., (2015)** que con el uso de combinaciones de bacterias probióticas ha demostrado una disminución de este microorganismo *Escherichia coli* O157:H7 tanto en el ganado vacuno como en el ovino, lo que se traduce en una disminución del riesgo de enfermedades a humanas.

1.1.2.1. Bacterias del ácido láctico y su seguridad como probióticos.

Es uno de los grupos más conocidos de bacterias utilizadas como probióticos las cuales pertenecen al grupo de bacterias ácido-lácticas. Menciona **Taneja & Sharma, (2019)** que en este grupo están los géneros *Lactobacillus* sp y *Enterococcus* sp. Estos géneros han sido examinados últimamente para usarse como bacterias probióticas. Según las cepas probióticas de *Lactobacillus* sp. son capaces de mejorar la absorción, la digestión de los nutrientes en animales de granja.

También se ha informado en varias investigaciones que existen especies de bacterias ácido láctico que tienen la capacidad de resistir a la bacitracina, kanamicina, betalactámicos, vancomicina y teicoplanina. Debido a los efectos beneficiosos de las BAL, la resistencia intrínseca a ciertos antibióticos considerándose ventajosa en una terapia de combinaciones.

1.1.2.2. Los probióticos inhiben a los patógenos intestinales

Existen varios estudios *in vivo* e *in vitro* que han aclarado que los probióticos ofrecen un gran potencial en la prevención y en el tratamiento de infecciones, para ello existen varios mecanismos de acción de probióticos. Menciona **Esparza et al., (2012)** que los probióticos modulan la microbiota intestinal autóctona y mejora la salud a través de una gran cantidad de mecanismos de acción potenciales.

Los probióticos pueden inhibir el crecimiento de patógenos entéricos al disminuir el pH luminal, la secreción de péptidos o proteínas bactericidas o a la vez en la estimulación de la producción de células epiteliales. Según **Camacho C et al., (2022)** menciona que los probióticos tienen la función de bloquear la invasión o adhesión del epitelio intestinal causada por patógenos a través del bloqueo de los receptores de la superficie epitelial o a la vez causada a través de la inducción de mucinas, las cuales son moléculas grandes de carbohidratos que forman una barrera a lo largo de la monocapa epitelial.

1.1.2.3. Probióticos en la producción de agentes antioxidantes.

Los probióticos son capaces de generar compuestos que tengan una actividad antioxidante, lo cual sirve para neutralizar toxinas. Según **Twomey & Kilcoyne, (2017)** este mecanismo no solo ocurre a nivel intestinal, sino que tiene una funcional a nivel sistémico.

Existen reportes en donde los probióticos pueden generar agentes antioxidantes como glutatión reductasa, catalasa, glutatión, superóxido dismutasa. Según **Dehkohne et al., (2019)** los probióticos estimulan la motilidad intestinal, facilitando así la expulsión de enzimas, bacterias y moléculas procarcinogénicas y así poder reducir el riesgo de padecer cáncer o enfermedades mortales.

1.1.2.4. Formación de biofilms.

La formación de biofilms o biopelículas es una aglomeración de microorganismos sobre sustancias abióticas y bióticas, menciona **Benítez C et al., (2020)** que esta formación no es un proceso normal, lo que implica una serie de mecanismos complejos, dando lugar desde la fijación o adherencia bacteriana en donde sigue la maduración y la liberación de las células de la matriz. **Barzegari et al., (2020)** menciona que los

biofilms o biopelículas están involucradas en alrededor del 65% al 80% de todas las infecciones microbianas y crónicas, implicando la colonización de implantes como por ejemplo catéteres, válvulas cardíacas protésicas o en el remplazo de articulaciones.

Por otro lado, las biopelículas facilitan la distribución de la resistencia a los antibióticos al estimular una transferencia de genes la cual se da de manera horizontal. De igual manera existen especies de *Lactobacillus* sp producen distintos exometabolitos como, bacteriocinas, EPS (exopolisacáridos) o a su vez biosurfactantes con actividad anti-biofilm que según estudios podrían ayudar a bloquear la formación de estos biofilms formados por bacterias patógenas (**Barzegari et al., 2020**).

De igual manera existen bacterias probióticas que se adhieren con gran facilidad gracias a su alta hidrofobicidad, pero **Benítez C et al., (2020)** considera que no solo depende de la hidrofobicidad de las células, ya que en este proceso se involucra diferentes factores incluyendo la atracción de Van Der Waals o a su vez el movimiento Browniano, cargas electrostáticas superficiales o cargas gravitacionales para que puedan adherirse a cualquier superficie.

1.1.2.5. Uso de probióticos para el control de colesterol y azúcares reductores.

Según **Ezema, (2013)** los probióticos y algunas cepas de *Lactobacillus* sp. tienen la capacidad de disminuir los niveles de colesterol en la sangre y en el lumen intestinal. Así mismo cepas de *Bifidobacterium* sp. se ha visto que elimina el colesterol, y a su vez las bacterias ácido-lácticas (BAL) con actividad HSB disminuyen los niveles de colesterol a través de la interacción con la bilis del huésped.

Cabe mencionar que para el autor **Ishimwe et al., (2015)** existen estudios *in vitro* que demuestran que el colesterol no es degradado metabólicamente si no que se une a las membranas de las células probióticas del género *Lactobacillus* sp. Esta bacteria es una de las más resistentes a la lisis por sonicación, lo que provoca una alteración en la pared celular debido a la incorporación del colesterol.

Por otro lado, los probióticos pueden mejorar el rendimiento del crecimiento, la ingesta de alimentos y los procesos enzimáticos digestivos en animales acuáticos, en animales de granja, y en la salud de las aves así mismo se ha visto que disminuye la actividad bactericida y el nivel de colesterol, de glucosa y cortisol (Ishimwe et al., 2015).

1.1.3. Mecanismo de acción de los probióticos.

En la **figura 1** se describe el mecanismo de acción que poseen los probióticos en la mucosa intestinal, menciona Harbarth et al., (2015) que estos mecanismos ofrecen varios beneficios en una gran parte desconocidos, según Muhammad S & Muhammad K, (2023) estos pueden ser extensos y multifactoriales. Entre los diferentes mecanismos relacionados son los efectos antagónicos de los probióticos sobre algunos microorganismos los cuales se incluyen: adherencia competitiva a la mucosa, secreción de sustancias antimicrobianas, modulación del sistema inmunitario y fortalecimiento de la barrera epitelial intestinal.

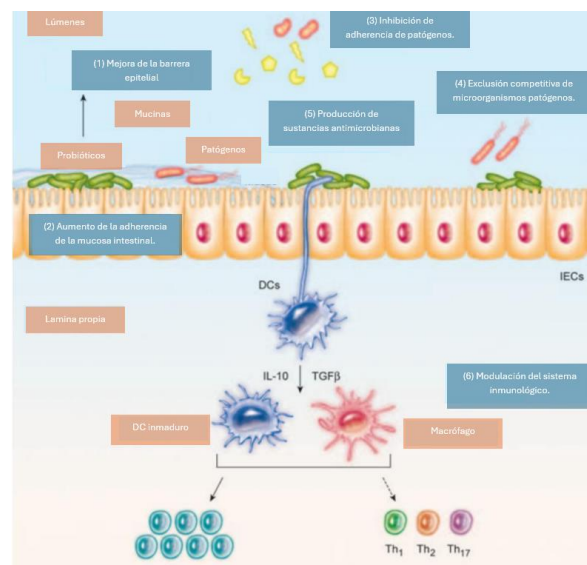


Figura 1. Principales mecanismos de acción de los probióticos.

Nota. Mejora de la barrera epitelial, (ii) aumento de la adherencia de la mucosa intestinal. (iii) inhibición de adherencia de patógenos, (iv) exclusión competitiva de macroorganismo patógenos, (v) producción de sustancias antimicrobianas, (vi) modulación del sistema inmunológico. Adapto de Bermudez B et al., (2012).

i. Mejora de la barrera epitelial.

Es uno de los mecanismos fundamentales en donde los probióticos ejerce una actividad anti-invasiva por medio de cambios conformacionales dentro de la monocapa epitelial. Según **Alaqil et al., (2020)** las uniones estrechas que existen entre las células de la mucosa son muy importantes para evitar la entrada de patógenos. Por medio de investigaciones se han observado que los cultivos de células gastrointestinales que los probióticos inhiben o disminuyen la permeabilidad a manitol (**Muhammad S & Muhammad K, 2023**).

Menciona **Alaqil et al., (2020)** que existen patógenos que tienen las propiedades de modificar ciertas proteínas del citoesqueleto. Por ello los probióticos incrementan la producción de moco, de acuerdo con **Plaza D et al., (2019)** algunos probióticos disminuyen la secreción de agua inducida por la bacteria *E. coli enteroinvaciva* y de cloro.

ii. Adherencia de la mucosa intestinal.

La unión de diferentes tipos de bacterias a la mucosa se convierte en un factor clave para una colonización adecuada en el tracto gastrointestinal, debido a que existen bacterias que poseen una mayor capacidad de adherencia las cuales se ven establecidas como microbiota nativa. Según **Alaqil et al., (2020)** existen diversas formas de adherirse a la mucosa intestinal una de ellas es por bacterias Gram Negativas denominada “Pili”, la cual es un organelo con forma de pelo que sobresale en la superficie bacteriana cuya función principal es brindarle la capacidad de unirse a una superficie (**Plaza D et al., 2019**).

iii. Inhibición de adherencia de patógenos.

Los probióticos disminuyen el crecimiento de bacterias patógenas mediante la exclusión competitiva, o la modificación de un ambiente bacteriano. En cada uno de los ambientes bacterianos existe una competencia bacteriana y así adherirse a la mucosa y atenuar la colonización de bacterias patógenas. Según **Hemarajata & Versalovic, (2013)** las principales bacterias que son eliminadas por el ácido láctico son: *Helicobacter*

pylori, *Escherichia coli*, *Listeria sp.* y *Salmonella enterica*. Por otro lado, los probióticos bloquean los efectos de patógenos por la producción de bacteriocinas y péptidos antibacterianos.

iv. Exclusión competitiva de microorganismos patógenos.

En varios estudios se informa que la exclusión competitiva de macroorganismo patógenos en donde el microorganismos *Salmonella typhimurium* presente en gusanos de moscas azules es una de las bacterias que tiene una capacidad de competir fuerte en el tracto intestinal de otra especie. Según **van Zyl et al., (2020)** las propiedades de adhesividad que existen entre la interacción entre mucinas y proteínas pueden inhibir la colonización de microorganismos patógenos resultando en la actividad antagónicas de algunas cepas probióticas contra patógenos gastrointestinales.

La exclusión es el resultado de diferentes mecanismos y propiedades de los probióticos para poder inhibir la adhesión de patógenos. Cabe mencionar que para **Corr et al., (2009)** la exclusión competitiva por parte de la microbiota intestinal se basa en la interacción entre bacterias mediada por la competencia por los diferentes nutrientes y el hábitat para la supervivencia o a la vez la adhesión en los sitios de la mucosa. Para poder tener una ventaja competitiva se puede modificar su entorno para sus microorganismos competidores (**Bhagoju & Nahashon, 2022**).

Según **Zhao et al., (2021)** existen algunas cepas probióticas como *Lactobacillus sp.* y *Bifidobacterium sp.* las cuales comparten requerimientos nutricionales como unión a carbohidratos con algunos enteropatógenos, lo que hace posible que las cepas compitan con las diferentes cepas patógenas por sitios o células específicas.

v. Producción de sustancias antimicrobianas.

Los probióticos son una de las fuentes que previenen la colonización intestinal de agenten patógenos, debido a que estos disminuyen el pH intestinal, según esto pueden incrementar la producción de metabolitos

que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos (**Plaza D et al., 2019**). Entre los que se destacan diversos ácidos grasos libres, ácido láctico, péptidos antibacterianos y agentes oxidantes como el peróxido de hidrogeno o a su vez biosurfactantes (**Hemarajata & Versalovic, 2013**).

vi. Modulación del sistema inmunológico.

Los probióticos tiene una modulación en el sistema inmune. Menciona **Gou et al., (2022)** que los probióticos reducen la producción de antígenos, y a la vez incrementan la producción de IgA. Algunos de los componentes de los lactobacilos actúan como potentes adyuvantes teniendo una respuesta inmune. Así mismo, **Plaza D et al., (2019)** los probióticos activan el sistema reticuloendotelial, la cual funciona en la producción de citocinas y factores de crecimiento.

1.1.4. Simulación de condiciones gástricas

Las condiciones *in vitro* se realizan para simular un ambiente gástrico en condiciones químicas y nutrientes similares a las que se encuentra en el estómago. Según **Gou et al., (2022)** este tiene como objetivo el replicar un adecuado ambiente para el estudio de interacción entre microbiota y probióticos o a su vez con antibióticos, los cuales son necesarios para un análisis en sus propiedades y así ver la supervivencia de microorganismos y el comportamiento de compuestos bioactivos en condiciones similares.

Algunas de las funciones principales de un medio de cultivo basal es simular el contenido nutricional el cual comprende en adicionar nutrientes y sustratos necesarios para analizar diferentes competencias entre microbiota y diferentes sustratos o a la vez observar cómo distintos microorganismos soportan las condiciones gástricas.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar la capacidad de competencias bacterianas de cepas probióticas frente a cepas presentes en el tracto gastrointestinal de bovinos.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Establecer las condiciones de los sistemas de cultivo de las cepas probióticas frente a bacterias del tracto gastrointestinal.
- Determinar la capacidad de adherencia de las cepas probióticas.
- Reconocer el grado de reducción del colesterol y azúcares reductores de las cepas probióticas.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1. Materiales.

El presente trabajo de titulación fue de carácter experimental, llevándose a cabo dentro de los laboratorios académicos y de investigación de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. En las tablas 1, 2 y 3 se enlistan los materiales fungibles, reactivos, y equipos que se utilizaron en la presente investigación.

Tabla 1.

Reactivos de Laboratorio.

Reactivos	Cantidad
Ácido clorítico	0.5 g/L
Ácido acético glacial al 33%	0.5 g/L
Solución salina tampón fosfato	0.25 L
Agua desionizada	0.5 L
Peptona	1.5 g
Extracto de levadura	1.5 g
NaCl	0.05 g
K ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	0.05 g
CaCl ₂ ·6H ₂ O	0.025 g
NaHCO ₃	0.5 g
Tween 80	0.1 L
Hemina	0.0025 g
Vitamina K ₁	0.25 g
Cisteína HCl	0.15 g
Sales biliares	0.15 g
Solución salina al 0.9% estéril taponada con	0.20 L
PBS 0.1 M	
Agua estéril	1 L

Reactivos	Cantidad
Glucosa	0.5 – 2 g/L
Sacarosa	1.5 g/L
NaOH al 25%	0.5 L
Alcohol 70 %	3 L
Alcohol 90 %	3L
Solución Ácida De Colesterol	0.5 g/L
Medio MRS líquido y agar	0.75 g
Medio de cultivo basal	0.5 g
Medio de cultivo XLD	0.5 g
Medio agar MacConkey	0.5 g

Nota. Se reactivos utilizados fueron donados por los laboratorios académicos y UODIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, carrera de Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Elaboración Propia.

Tabla 2.

Material de laboratorio.

Material	Cantidad (ud)
Tubos estériles	5
Placas con pocillos	5
Espátula	1
Caja Petri vidrio	10
Pipetas 10 ml	2
Pera de succión	1
Gradilla	2
Juego de micropipetas	1
Puntas para micropipetas	1 de cada tipo
Pocillos de TCP de poliestireno de fondo plano	2
Botellas Boeco de 100 mL	2
Botellas Boeco de 500 mL	2
Parafilm	30 cm
Pinzas metálicas	2

Material	Cantidad (ud)
Cajas coprológicas	2
Matraces Erlenmeyer de 100 ml	5
Vasos de precipitación	10
Varillas de agitación	2
Puntas de micropipetas de 20, 200 y 1000 µL	50 C/U
Pipetas de 5 y 10 µL	50 C/U
Asa de siembra	1
Asa Digiralsky	1

Nota. Los materiales utilizados fueron obtenidos de los laboratorios académicos y UODIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, carrera de Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Elaboración Propia.

Tabla 3.

Equipos de laboratorio.

Equipo	Cantidad
Autoclave	1
Balanza analítica	1
Estufa bacteriológica	1
Microondas	1
Incubadora bacteriológica	1
Mechero Bunsen	1
pH-metro	1
Nevera (4°C)	1
Congelador (-20°C)	1
Cabina de flujo laminar Bioseguridad 2	1
Microcentrífuga	1
Vórtex	1
Kitasato	1
Espectrofotómetro a 540 nm	1

Nota. Se utilizaron los laboratorios académicos y UODIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, carrera de Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Elaboración Propia.

2.2. Métodos

2.2.1. Establecimiento de las condiciones de los sistemas de cultivos de las cepas probióticas frente a bacterias del tracto gastrointestinal.

2.2.1.1. Preparación del inóculo.

Se preparó caldo MRS para la reactivación de las 10 cepas ácido-lácticas obtenidas del proyecto de investigación titulado, “*Obtención de cepas probióticas a partir de diferentes sustratos de origen orgánico de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador*”, en donde se dispensaron 12 mL de este caldo en tubos estériles para cada una de las cepas a una escala McFarland de 2 y se incubaron en condiciones anaerobias a 37 °C durante 48 horas.

2.2.1.2. Preparación del cultivo basal – Fermentación discontinua a nivel de Erlenmeyer.

Para los sistemas de cultivo anaeróbico discontinuo, el medio de cultivo basal se incluyó los siguientes componentes por litro: 1 g de peptona, 1 g de extracto de levadura, 0,05 g de NaCl, 0,02 g de K_2HPO_4 , 0,005 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,005 g de $CaCl_2 \cdot 6H_2O$, 1 g de $NaHCO_3$, 1 ml de Tween 80, 0,0025 g de hemina, 5 µl de vitamina K_1 , 0,25 g de cisteína HCl y 0,25 g de sales biliares disueltas en 500 ml de agua desionizada. El pH se ajustó a 7,0 y el medio se esterilizó en el autoclave (Ortiz et al., 2018).

2.2.1.3. Preparación de la solución fecal bovina, siembra e incubación.

La recolección de las heces bovinas se realizó en la finca del Sr. Manotoa Mejia Mario Germán, ubicada en el recinto Sillagua, de la parroquia Morospungo, Provincia de Cotopaxi, posteriormente se siguió el método descrito por **Li et al., (2020)**, el mismo que consistió en la recolección de heces bovinas con medidas de protección como guantes, mascarillas y cajas coprológicas. Se tomó una muestra de las heces frescas de los bovinos y se recolectó en las cajas coprológicas, estas se trasladaron en cooler con refrigerantes y se almacenó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (UODIE - FCIAB) en refrigeración a 5 °C en un tiempo máximo de 12 horas.

Se preparó 50 mL de una suspensión fecal bovina al 10 % (p/v) con una solución salina al 0.9 % estéril tamponada con PBS 0.1 M, se ajustó el pH a 7.2.

Durante la toma de muestra no existió interacción con el bovino, por consiguiente, no se requirió ningún permiso de la Institución de Agrocalidad.

2.2.1.4. Preparación del sistema de cultivo por lotes a nivel de Erlenmeyer.

En matraces Erlenmeyer de 100 mL, se añadió 50 mL del medio de cultivo basal y se adicionó los probióticos a una concentración inicial de 1×10^8 UFC/ml de cada cepa probiótica. Se incubó por 24 horas en condiciones anaerobias manteniendo una atmósfera de anaerobiosis (**Ortiz et al., 2018**). Pasado las 24 horas se adicionó 5 mL de la suspensión fecal bovina al 10 % (p/v) y se dejó incubar por 24 horas adicionales en condiciones anaerobias.

2.2.1.5. Evaluación de la competencia bacteriana.

Para la evaluación de la competencia bacteriana se realizaron diluciones seriadas hasta la dilución 10^{-7} en tubos con 9 mL de solución salina estéril de las bacterias presentes en el sistema de cultivo, para esto se utilizó 3 medios de cultivo XLD (Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato), Agar MacConkey en donde se evaluó el crecimiento de Enterobacterias y agar MRS (Man, Rogasa & Sharpe) para evaluar el crecimiento de las

bacterias ácido-lácticas. Se sembraron las diluciones 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} en agar MRS, y a su vez se realizó diluciones 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} en agar XLD y agar MacConkey, se realizó el método de extensión en placa para el conteo de las colonias.

2.2.2. Determinación de la capacidad de adherencia de las cepas probióticas.

2.2.2.1. Determinación de la formación de biofilms.

El ensayo se realizó en placas de 96 pocillos, según el método descrito por **Mulaw et al., (2020)** siendo el método más común utilizado, considerándose el estándar para detectar la formación de biofilms. Para este estudio, las 10 cepas probióticas se reactivaron en caldo MRS y luego se sembraron en agar MRS a 37 °C durante 24 horas en condiciones anaerobias. Las cepas se diluyeron en una proporción de 1:100 en caldo MRS y se colocaron en las placas de 96 pocillos de TCP de poliestireno de fondo plano (Thermo Fisher Scientific, Shanghai, China), se adicionó 0,2 mL de cultivo de cada cepa diluida en cada pocillo. También se añadió caldo no inoculado a los pocillos para controlar la esterilidad (control negativo). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, luego se retiró el contenido de los pocillos golpeándolas suavemente. Posteriormente, las placas se lavaron dos veces con 0,2 mL de solución salina tampón fosfato (pH 7,2) y se incubó a 37 °C durante una hora. Posteriormente, las placas se tiñeron con 0,2 mL de cristal violeta al 0,1 % durante 10 minutos, luego se eliminó el exceso de colorante lavando dos veces con agua desionizada y se secaron al ambiente, transcurrido los 10 minutos se añadió 200 µL de ácido acético glacial al 33 % a los pocillos y se procedió a medir la absorbancia de las placas.

La densidad óptica (DO) de los aislados se determinó utilizando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 570 nm (OD 570 nm). El experimento se realizó por triplicado.

La formación de biopelículas se clasificó en productores fuertes, moderados y débiles/sin formación de biofilms según se muestra en la **Tabla 4 (Harika et al., 2020)**.

Tabla 4.

Interpretación de la producción de biofilms basada en valores de densidad óptica del método de placa de cultivo de tejidos.

Valor medio de densidad óptica (DO)	Producción de biopelículas
< 0.17	Negativo
0.17 – 0.34	Positivo débil
0.35 – 0.68	Positivo moderno
>0.68	Fuerte positivo

Nota. Tabla de valores de densidad óptica obtenida de **Harika et al., (2020)**.

2.2.3. Reconocer el grado de reducción del colesterol y azúcares reductores de las cepas probióticas.

2.2.3.1. Determinación de azúcares reductores totales.

Para este ensayo se utilizó caldo MRS y se colocó 100 ml en matraces Erlenmeyer de 250 ml, se adicionó las cepas probióticas a una concentración inicial de 1×10^8 UFC/ml para cada una de las cepas. Se incubó por 48 horas en condiciones anaerobias y manteniendo una atmósfera de anaerobiosis, se tomó 1 ml de muestra de caldo cada 3 horas para evaluar el consumo de azúcares. También se preparó una curva patrón con concentraciones conocidas de glucosa (0.5-2 g/L). La cuantificación de azúcares reductores se llevó a cabo mediante la técnica del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Las muestras se midieron en un espectrofotómetro a una absorbancia de 540 nm (**Ortiz et al., 2018**).

2.2.3.2. Reducción de colesterol en presencia de sales biliares.

Para evaluar la capacidad de asimilación de colesterol *in vitro* de las cepas probióticas, se utilizó un método modificado descrito por **Liu et al., (2022)**. En donde se incubó las bacterias probióticas en tubos con 10 ml de caldo MRS, adicionado con 0,4 % de sales biliares y 1 % de solución ácida de colesterol. Los cultivos se incubaron a 37°C durante 24 h. Después de la incubación, los cultivos se centrifugaron a 5000 rpm

durante 10 min a 4°C y se estimó el colesterol no utilizado en el sobrenadante mediante espectrofotometría a 540 nm, se comparó con el control el cual fue la concentración del colesterol inicial según **Guan et al. (2017)**. La capacidad de cada cepa para reducir la cantidad de colesterol en los medios de cultivo se determinó mediante la siguiente ecuación (Ec. 1):

$$\% \text{ de colesterol reducido} = \frac{C_o - C_T}{C_o} \times 100$$

Ecuación 1. Porcentaje de colesterol reducido

Donde:

C_o = es la concentración de colesterol en el medio inicial.

C_T = es la concentración de colesterol al final de la inoculación

(Fossi et al., 2022).

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados.

3.1.1. Competencia bacteriana.

Las 10 cepas ácido lácticas obtenidas del proyecto “*Obtención de cepas probióticas a partir de diferentes sustratos de origen orgánico de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador*” fueron sometidas a condiciones de simulación gástricas para evaluar competencia microbiana frente a cepas presentes en el tracto gastrointestinal de bovinos, ya que se ha visto que los probióticos tienen la capacidad de introducirse en la microbiota intestinal y mejorar las condiciones gástricas en los mamíferos (**Pagliaro & Battino, 2010**).

Por esta razón, se evaluó la competencia entre cepas nativas gastrointestinales de bovinos y cepas probióticas ácido lácticas. En la **Tabla 5** se presenta el número de UFC/ml detectados en los medios de cultivo XLD, MacConkey y MRS. Los resultados muestran cómo las cepas ácido-lácticas se destacan por su capacidad para reducir o incluso inactivar a las enterobacterias presentes en la microbiota normal de los bovinos. En particular, las cepas BAL 20, 1 y 16, a una dilución de 10^{-4} , evidenciaron una disminución significativa de colonias en el agar XLD, un medio específico para enterobacterias, especialmente especies de *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. Este efecto, según **Reuben et al. (2019)**, se atribuye a la capacidad de las cepas probióticas para producir sustancias inhibitoras como bacteriocinas, ácidos orgánicos y peróxido de hidrógeno.

Por otro lado, en el agar MacConkey las cepas BAL 7, 4, 20, 1, 16 y 29, también en una dilución de 10^{-4} , Como se muestra en la **tabla 5**, son contables, observándose una leve disminución en las colonias de cepas de enterobacterias. Según **José et al. (2015)** destacan que los probióticos pueden ejercer un efecto antagonista sobre los patógenos gastrointestinales, lo cual constituye uno de los principales factores que afectan a las bacterias autóctonas establecidas en el tracto gastrointestinal. Este antagonismo contribuye de manera significativa al control de patógenos oportunistas que pueden llegar a colonizar el intestino.

Teniendo en cuenta que **Setyawardani et al., (2014)** menciona que se encontraron bacterias BAL en el rumen animal las cuales inhiben el crecimiento de patógenos y enterobacterias como *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Clostridium sporogenes* **van Zyl et al., (2020)**.

En cuanto a la supervivencia y persistencia de los probióticos difieren mucho entre los distintos géneros e incluso entre cepas *Bifidobacterium* spp y *Lactobacillus* sp., ya que estas son de las cepas más utilizadas debido a que forman parte de la microbiota intestinal de animales y humanos. De igual manera **Gill et al., (2001)** cita que existen algunas cepas probióticas que no son viables y no colonizadoras los cuales pueden inferir en ciertos beneficios para la salud del ser vivo.

De igual forma, existen bacteriocinas, las mismas que son péptidos antimicrobianos que son hechos por los ribosomas caracterizándose por tener un tamaño de (2-10 kDa). **Mathipa & Thantsha, (2017)** plantea que la producción de bacteriocinas por bacterias probióticas son un mecanismo de acción clave para inhibir patógenos en el tracto gastrointestinal. Postula **Bezkorovainy, (2001)** que existen diversas bacteriocinas que disponen de una amplia gama de la actividad antimicrobiana, como la nisina, la lactina B, la plantaricina, entre otras, que son producidas por bacterias ácido lácticas, que se caracterizan por activarse contra enteropatógenos transmitidos en alimentos.

Alakomi et al. (2000) afirma que algunos microorganismos liberan sustancias antimicrobianas capaces de inhibir diversos patógenos. Este mecanismo es empleado por los probióticos para controlar bacterias patógenas, como se observa en la **Tabla 5**, específicamente en la dilución 10^{-7} , donde se evidenció un notable aumento de colonias en el agar MRS. Este medio es adecuado para el crecimiento de bacterias como *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Bifidobacterium* sp. y *Enterococcus* sp., entre otras. **Wohlgemuth et al. (2010)** recalca que la exclusión de patógenos se debe a la producción y secreción de ácidos orgánicos, como el ácido láctico y acético, por parte de los probióticos, lo que genera una disminución del pH en el entorno. En este caso, todas las cepas se incubaron en un caldo basal que contenía los nutrientes y condiciones necesarias para simular el ambiente del tracto gastrointestinal de los bovinos (**Servin, 2004**).

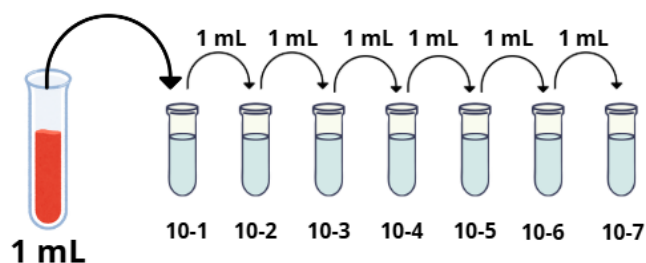


Figura 2. Diluciones seriadas de las cepas probióticas.

Nota: Cada cepa probiótica se realizaron diluciones seriadas hasta la 10^{-7} para una mayor precisión de conteo de colonias. Elaboración Propia

Tabla 5.

Resultados de UFC/ mL de cada cepa Probiótica.

Cepa	UFC/mL		UFC/mL		UFC/mL			UFC/	UFC/mL
	10 ⁻³		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵			mL	10 ⁻⁷
	XLD	Mac	XLD	Mac	XLD	Mac	MRS	MRS	MRS
19	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable	1*10 ⁶	2.9*10 ⁷	4.5*10 ⁷	7*10 ⁷	4*10 ⁸
21	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable	7*10 ⁷	60*10 ⁶	55*10 ⁶	2*10 ⁸	2*10 ⁸
7	Incontable	Incontable	Incontable	4.3*10 ⁶	13*10 ⁶	30*10 ⁶	30*10 ⁶	1.4*10 ⁸	2*10 ⁸
2	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable	7*10 ⁷	60*10 ⁶	50*10 ⁶	1.1*10 ⁸	2*10 ⁸
4	Incontable	Incontable	Incontable	11*10 ⁶	1*10 ⁸	85*10 ⁶	Incontable	5*10 ⁸	4*10 ⁸
20	Incontable	Incontable	5*10 ⁶	7.5*10 ⁶	20*10 ⁶	28*10 ⁶	Incontable	2.5*10 ⁸	2*10 ⁸
5	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable	50*10 ⁶	44*10 ⁶	Incontable	1.7*10 ⁸	1*10 ⁸
1	Incontable	Incontable	7*10 ⁶	9.8*10 ⁶	10*10 ⁶	24*10 ⁶	Incontable	1.3*10 ⁸	4*10 ⁸
16	Incontable	Incontable	10.2*10 ⁶	10*10 ⁶	28*10 ⁶	20*10 ⁶	Incontable	1.2*10 ⁸	1*10 ⁸
29	Incontable	Incontable	Incontable	7.5*10 ⁶	75*10 ⁶	35*10 ⁶	8.5*10 ⁷	1.5*10 ⁸	1*10 ⁸

Nota. Se observa el número de UFC (unidades formadoras de colonias) que se encontraron en las diluciones de los diferentes medios de cultivo. Elaboración Propia

3.1.2. Formación de biofilms.

Por medio de la presente investigación se realizó la prueba de adherencia de las 10 cepas probióticas para la formación de biofilms. Como se puede observar en la **Tabla 4** se muestran los valores de absorbancia en función de la capacidad de las bacterias de adherirse a la placa de poliestireno, en función de rangos, donde un valor mayor de 0.17 de densidad óptica indica la formación de biofilms. En la **Tabla 6** las 10 cepas no mostraron ninguna formación de biofilms, esto se debe a la adhesión y la autoagregación que son puntos clave para determinar el inicio del desarrollo de la formación de biofilm, que es una de las estrategias de utilizan algunos microorganismos para persistir en ambientes difíciles y así tener una resistencia microbiana frente a agentes antimicrobianos y a su vez tolerar condiciones de estrés (**Leccese T et al., 2016**).

Benítez C et al., (2020) indica que los biofilms pueden ser fácilmente detectables, existiendo una amplia gama de macroorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, capaces de formar biofilms. **Qian et al., (2021)** menciona que las bacterias ácido-lácticas ayudan al sistema inmunitario por medio de la microbioma intestinal al mantenerla saludable ya que ayuda a una mejor absorción de nutrientes, también son capaces de modular potencialmente la ecología microbiana de los biofilms mediante una inhibición del crecimiento y a su vez impidiendo la congregación y adhesión de patógenos.

Por otro lado, depende de la cepa para producir biofilms en donde las cepas 19 y 16 las cuales fueron identificadas como *L. plantarum* se caracterizan por producir biofilms con gran frecuencia, pero en los resultados obtenidos dieron una producción negativa, esto puede darse por que estas bacterias persisten en el intestino, donde existe un flujo abundante de azúcares, enzimas y a la vez una invasión de microorganismo desconocidos. De igual manera **Iorizzo et al., (2021)** indica que la adhesión a la pared intestinal para una formación de biofilms por parte de bacterias antagonicas como son los hongos patógenos podrían ser un obstáculo para el desarrollo de estos biofilms, de igual manera los probióticos en la formación de biofilms son más resistentes en condiciones gastrointestinales y a la vez colonizan con más eficiencia en el intestino (**Klimko et al., 2020**). Cabe mencionar, que existen algunas cepas probióticas que inhiben el crecimiento de bacterias como *E. coli*, *Helicobacter pylori*, y subespecies de *Salmonella*.

Tabla 6.

Resultados de las adherencias de las cepas probióticas en la formación de biofilms.

Cepa	Replica 1	Replica 2	Replica 3
	Absorbancia (570 nm)	Absorbancia (570 nm)	Absorbancia (570 nm)
29	0.084	0.089	0.110
5	0.126	0.085	0.083
2	0.074	0.093	0.079
4	0.081	0.074	0.136
7	0.072	0.075	0.070
20	0.062	0.078	0.081
16	0.060	0.066	0.103
21	0.071	0.067	0.066
19	0.097	0.059	0.078
1	0.081	0.056	0.067
Blanco	0.058	0.056	0.057

Nota. De cada cepa se realizó 3 réplicas para una mejor obtención de resultados. Elaboración propia

3.1.3. Reducción de azúcares reductores

Por medio de los resultados obtenidos se pudo evidenciar que dentro de las primeras 6 horas se pudo obtener valores menores al control en el tiempo 0, esto se pudo evidenciar en todas las 10 cepas ácido-lácticas. **Ortiz et al., (2008)** menciona que existen diferentes cepas probióticas en donde la exclusión por medio de la competencia por sitios de adherencia y a su vez por nutrientes son uno de los mecanismos de acción de ciertos probióticos, de igual manera se puede evidenciar que las 10 cepas metabolizan los azúcares reductores como fuente de energía.

Por otro lado, **Mu et al., (2023)** indica que algunos probióticos pueden regular niveles de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), de igual manera cuando estos rangos de AGCC están de manera normal estas cepas pueden regular el metabolismo de la glucosa, cabe mencionar que estos pueden reducir el pH y previenen el crecimiento de microorganismos patógenos. Además, en las primeras horas los microorganismos se encuentren en una fase exponencial de crecimiento lo que provoca el consumo de azúcares produciendo así ácido láctico, ácido acético, entre otros (**Cai et al., 1998**).

Cerero C et al., (2022) menciona que en algunas cepas como *Leuconostoc sp.* y *Weissella sp.*, que tienen propiedades para descomponer polisacáridos o carbohidratos más complejos en moléculas más pequeñas como se observa en la **Tabla 7** que en algunas cepas en el tiempo 15 h liberando azúcares reductores en el medio en este caso caldo MRS puede producir exopolisacáridos o a la vez liberar oligosacáridos de igual manera pueden aumentar los niveles de azúcares por un tiempo (**Bordons & Reguant, 2013**).

En las penúltimas 3 horas la acumulación de los diferentes productos metabólicos como son los AGCC pueden inhibir la actividad de las bacterias, disminuyendo así el consumo de azúcares reductores, menciona **Benavides, (2019)** que esto puede provocar un menor consumo o incluso acumulación de azúcares reductores provocando que la bacteria no metabolice eficientemente.

Tabla 7.

Resultados de la determinación de azúcares reductores g/L por el método de DNS

Cepa	0 h	3h	6h	9h	12h	15h
5	0.14	0.09	0.08	0.10	0.12	0.12
19	0.17	0.08	0.08	0.12	0.18	0.18
29	0.17	0.09	0.08	0.10	0.14	0.11
20	0.14	0.10	0.09	0.34	0.37	0.30
4	0.14	0.10	0.08	0.10	0.11	0.11
16	0.15	0.10	0.08	0.09	0.09	0.15
1	0.14	0.09	0.09	0.10	0.18	0.15
2	0.15	0.09	0.08	0.10	0.12	0.14
7	0.14	0.10	0.09	0.11	0.13	0.13
21	0.15	0.08	0.08	0.09	0.09	0.10

Nota. Cada una de las mediciones se realizaron en el espectrofotómetro a 540 nm, azúcares reductores en g/L. Elaboración propia.

3.1.3.1. Reducción de colesterol en presencia de sales biliares.

Ghatani et al., (2022) menciona que existen investigaciones sobre las propiedades de los probióticos de las bacterias de ácido láctico BAL en donde se especificó en la reducción de colesterol mediante estudios

in vitro, en donde cada cepa debe caracterizarse por tener al menos un beneficio para la salud. Cabe mencionar que en la sangre humana existe un nivel de colesterol superior a 1mmol (18 mg/dl) del nivel normal lo cual puede provocar un riesgo para la salud en donde las enfermedades como la muerte cardiaca y la enfermedad cardiaca coronaria son unas de las comunes (Argyri et al., 2013).

Cada una de las cepas se caracteriza por tener una resistencia al pH de 3– 8, de igual manera de sales biliares de 0.5 -1 % (p/v), se han informado que varios mecanismos, como es la asimilación de colesterol, la unión de colesterol en la pared celular bacteriana, la coprecipitación del colesterol y la desconjugación enzimática de los ácidos biliares, son característicos para que estas cepas sean altamente eficientes, la tolerancia de la bilis y el pH con concentraciones que imitan las condiciones intestinales. De igual manera las cepas probióticas potenciales deben tolerar ambientes ácidos y secreciones biliares para tener éxito al momento de estar en el estómago y en el intestino delgado (Lee et al., 2012).

Menciona Ghatani et al., (2022) que las cepas de *Weissella* sp. (cepa 1 y cepa 2) aisladas de heces de bovinos en caldo MRS destacan en un pH 3.0, de igual manera para las demás cepas de *Lactobacillus* sp. existe una mayor tasa de supervivencia a un pH 3.0 conservando su viabilidad al momento de exponerse a un pH ácido.

Klimko et al., (2020) plantea que al momento de tener una cepa activa en enzima BSH que prefieren hidrolizar el glicocolato de sodio pueden tener mayor eficiencia para reducir los niveles de colesterol sérico *in vivo*, de acuerdo con Argyri et al., (2013) la resistencia a sales biliares y la reducción de colesterol son estrechamente relacionados con la producción de BSH. Considera Anandharaj & Sivasankari, (2014) que existe un método más eficiente para reducir el colesterol es el cual es a través de la actividad de la hidrolasa de sales biliales (BSH). En donde la BSH es una enzima responsable de la desconjugación de sales biliares en la circulación enterohepática. A su vez la BSH hidroliza el ácido glicodesoxicólico conjugado y el ácido taurodesoxicólico en ácidos glicobiliares y taurobiliares, menciona Anandharaj et al., (2015) que esta propiedad se encuentra en la mayoría de las especies probióticas intestinales. De acuerdo con (Coppola et al., 2005) afirma que existe una eliminación del colesterol en cepas *Weissella* sp. (cepa 1 y cepa 2) observándose en la **Tabla 8** dando un porcentaje en la cepa 1 de 87% y de la cepa 2 un 84.29% de igual manera la cepa 19 dio un resultado de 84.80% caracterizándose por ser un género de *Lactobacillus*

plantarum caracterizándose por la adherencia de colesterol en la superficie externa de los *Lactobacillus* sp. durante la fermentación, dando una variación después de 24 h de incubación entre las distintas cepas.

Finalmente **Ruiz R et al., (2023)** que la síntesis de enzimas BSH por bacteria BAL es uno de los principales mecanismos que se ven involucrados en una mejora de la reducción de colesterol y a su vez a la mejora de resistencia de la célula en presencia de sales biliares.

Tabla 8.

Resultados obtenidos de la determinación de reducción de colesterol en presencia de sales biliares.

Cepa	Muestra Inicial Absorbancia (540 nm)	Muestra al final de la inoculación Absorbancia (540 nm)	Porcentaje de colesterol.
1	0.5422	0.0705	87%
20	0.5335	0.0838	84.29%
16	0.4388	0.0741	83.11%
2	0.4535	0.0800	82.35%
5	0.4494	0.8030	81.53%
29	0.3406	0.0785	79.96%
4	0.3455	0.0962	72.15%
21	0.5210	0.0826	84.14%
19	0.5081	0.0772	84.80%
7	0.4097	0.0745	80.54%

Nota: Elaboración propia.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones.

- Mediante el estudio realizado se demostró que las cepas probióticas BAL, como los géneros de *Lactobacillus* sp, *Weissella* sp, y *Leuconostoc* sp, obtenidas de sustratos orgánicos de tema de investigación “*Obtención de cepas probióticas a partir de diferentes sustratos de origen orgánico de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador*”, tiene un efecto significativo en la reducción de microorganismos patógenos que se encuentran en el tracto gastrointestinal en bovinos, como *Salmonella* sp, *Shigella* sp y *Enterococcus* sp, atribuyéndose principalmente a la producción de ácidos orgánicos, bacteriocinas y peróxido de hidrógeno, lo cual provocan una disminución en el pH promoviendo la exclusión competitiva de microorganismos. De igual manera cepas como la 20, 16 y 1 mostraron una mejor efectividad en medios selectivos, destacándose por su capacidad para una mejora de la microbiota y fortalecimiento de la inmunidad del huésped. Teniendo en cuenta lo mencionado estos estudios reafirman el potencial de las cepas probióticas como una estrategia sostenible para mejorar la salud del bobino y reducir la presencia de agentes patógenos.
- La investigación reveló que las 10 cepas probióticas analizadas no presentaron formación de biofilms o biopelículas, lo que puede atribuirse a factores como la adhesión insuficiente y la autoagregación limitada, fundamentalmente para el inicio del desarrollo de biofilms. Aunque algunas cepas como la 16 y 19 suelen asociarse en la formación de biopelículas, de igual manera los resultados fueron negativos teniendo en cuenta las diferentes condiciones gastrointestinales, como la abundancia de azúcares, enzimas y microorganismos competitivos, dificultando así este proceso. De igual manera, las propiedades antimicrobianas de las bacterias BAL particularmente el ácido láctico, desempeñan un papel clave en la inhibición del crecimiento de patógenos como *E.coli*, *Helicobacter pylori* y *Salmonella* sp, provocando un potencial entre las cepas probióticas para modular la microbiota intestinal incluso sin la formación de biopelículas.

- Mediante los resultados obtenidos muestran que durante las primeras 6 horas, las 10 cepas probióticas analizadas presentaron una disminución de azúcares reductores en comparación con el tiempo 0, indicando así que las cepas utilizaron estos azúcares como fuente de energía. Esto se puede atribuir a la fase exponencial de crecimiento, lo cual provoca que se metabolicen los azúcares para la producción de ácidos orgánicos de cadena corta AGCC, reduciendo el pH y limitando el crecimiento de patógenos. Sin embargo, en los periodos posteriores, algunas cepas mostraron un aumento en los niveles de azúcares reductores, provocando la liberación de oligosacáridos o exopolisacaridos debido a la actividad de enzimas específicas, como ocurre en géneros de cepas probióticas como *Leuconostoc* sp. y *Weissella* sp. Finalmente, en las últimas horas, la acumulación de productos metabólicos AGCC podrían inhibir parcialmente la actividad bacteriana, disminuyendo el consumo de azúcares reductores, causando una acumulación temporal de estos en el medio. Provocando así un comportamiento dinámico entre el metabolismo bacteriano y las condiciones ambientales.
- Los resultados obtenidos confirman que las cepas probióticas evaluadas, especialmente aquellas pertenecientes al géneros de *Weissella* sp y a la bacteria *Lactobacillus plantarum*, presenta una notable capacidad para reducir los niveles de colesterol. Estos efectos se atribuyen principalmente a la actividad de la enzima hidrolasa de sales biliares (BSH), la cual permite la desconjugación de ácidos biliares y la eliminación del colesterol durante la fermentación. La resistencia de estas cepas probióticas a condiciones extremas, como pH ácido y la presencia de sales biliares, asegura su viabilidad y eficiencia en el entorno del tracto gastrointestinal. Además, los porcentajes son significativos tras 24 horas de incubación reforzando su potencial como probióticos funcionales para mejorar la salud cardiovascular y regular los niveles de colesterol sérico *in vivo*.

4.2. Recomendaciones.

- Evaluar la viabilidad y colonización de las cepas probióticas en matrices alimentarias y condiciones de campo, considerando factores como el almacenamiento y el uso de prebióticos, para optimizar la eficiencia en la salud gastrointestinal de bovinos.
- Probar diversas estrategias para una mejor adhesión de las cepas probióticas, para tener formación de biopelículas, mediante la manipulación de factores como la disponibilidad de nutrientes, condiciones de cultivo con el fin duplicar las condiciones gastrointestinales del bobino.
- Estudiar con mayor profundidad cada una de las cepas probióticas como la de los géneros *Leuconostoc* sp y *Weissella* sp, para descomponer polisacáridos complejos y a su vez realizar investigaciones adicionales sobre los efectos de los productos metabólicos.
- Evaluar el efecto sinérgico de combinación de cepas con propiedades específicas para mejorar la reducción de colesterol y la tolerancia a las condiciones del tracto gastrointestinal, lo que podría potenciar la eficiencia de los tratamientos probióticos.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Alakomi, H. L., Skyttä, E., Saarela, M., Mattila Sandholm, T., Latva Kala, K., & Helander, I. M. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5). <https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000>
- Alaqil, A. A., Abbas, A. O., El Beltagi, H. S., Abd El-Atty, H. K., Mehaisen, G. M. K., & Moustafa, E. S. (2020). Dietary supplementation of probiotic lactobacillus acidophilus modulates cholesterol levels, immune response, and productive performance of laying hens. *Animals*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/ani10091588>
- Anandharaj, M., & Sivasankari, B. (2014). Isolation of potential probiotic Lactobacillus oris HMI68 from mother's milk with cholesterol-reducing property. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118(2). <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.01.015>
- Anandharaj, M., Sivasankari, B., Santhanakaruppu, R., Manimaran, M., Rani, R. P., & Sivakumar, S. (2015). Determining the probiotic potential of cholesterol-reducing Lactobacillus and Weissella strains isolated from gherkins (fermented cucumber) and south Indian fermented koozh. *Research in Microbiology*, 166(5). <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.03.002>
- Apajalahti, J. (2005). Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. *Journal of Applied Poultry Research*, 14(2). <https://doi.org/10.1093/japr/14.2.444>
- Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K. A. G., Tsakalidou, E., Nychas, G. J. E., Panagou, E. Z., & Tassou, C. C. (2013). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiology*, 33(2). <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.10.005>
- Barzegari, A., Kheyrolahzadeh, K., Mahdi, S., Khatibi, H., Sharifi, S., Memar, M. Y., & Vahed, S. Z. (2020). The battle of probiotics and their derivatives against biofilms. In *Infection and Drug Resistance* (Vol. 13). <https://doi.org/10.2147/IDR.S232982>
- Benavides, M. (2019). Aplicación de la fermentación láctica como estrategia de transformación y valoración de matrices vegetales. In *Universidad Politécnica de Catalunya Barcelonatech*.
- Benítez C, A., Torres Maravilla, E., Bermúdez Humarán, L., Langella, P., Martín, R., Jiménez Díaz, R., & Arroyo López, F. N. (2020). Probiotic Properties of Lactobacillus Strains Isolated from Table Olive Biofilms. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(3). <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09604-y>

- Bermudez Brito, M., Plaza Díaz, J., Muñoz Quezada, S., Gómez Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. In *Annals of Nutrition and Metabolism* (Vol. 61, Issue 2). <https://doi.org/10.1159/000342079>
- Bezkorovainy, A. (2001). Probiotics: Determinants of survival and growth in the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2 SUPPL.). <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.399s>
- Bhogoju, S., & Nahashon, S. (2022). Recent Advances in Probiotic Application in Animal Health and Nutrition: A Review. In *Agriculture (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/agriculture12020304>
- Bordons, A., & Reguant, C. (2013). Bioquímica de las bacterias lácticas del vino y la fermentación maloláctica. *SEBBM*.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4). <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Cai, Y., Benno, Y., Ogawa, M., Ohmomo, S., Kumai, S., & Nakase, T. (1998). Influence of *Lactobacillus* spp. from an Inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from forage crops on silage fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(8). <https://doi.org/10.1128/aem.64.8.2982-2987.1998>
- Callaway, T. R., Edrington, T. S., Anderson, R. C., Harvey, R. B., Genovese, K. J., Kennedy, C. N., Venn, D. W., & Nisbet, D. J. (2008). Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. In *Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases* (Vol. 9, Issue 2). <https://doi.org/10.1017/S1466252308001540>
- Camacho Cruz, J., Castañeda Gutierrez, L. D., Mongui Gutierrez, D., Martin Ramirez, A., Espinosa Orozco, A. M., Castillo Chiquiza, J. S., Valencia Hueras, L., Cuesta Valencia, J. F., Avellaneda Martínez, J. S., Gutiérrez Burgos, C. A., Martin Ramírez, P. A., Rincón González, C. A., & Romero Bernal, P. S. (2022). Probióticos: una mirada al mecanismo de acción y aplicaciones clínicas en Pediatría. *Salud Uninorte*, 38(03). <https://doi.org/10.14482/sun.38.3.618.92>
- Cerero Calvo, C., Sánchez Medina, M. A., Pérez Santiago, A. D., Matías Pérez, D., & García Montalvo, I. A. (2022). Probióticos presentes en bebidas fermentadas mexicanas. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.436>
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G., & Sorrentino, E. (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Lait*, 85(3). <https://doi.org/10.1051/lait:2005007>

- Corr, S. C., Hill, C., & Gahan, C. G. M. (2009). Chapter 1 Understanding the Mechanisms by Which Probiotics Inhibit Gastrointestinal Pathogens. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 56). [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)00601-3](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)00601-3)
- Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. In *Infection and Drug Resistance* (Vol. 12). <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>
- Dehkohne, A., Jafari, P., & Fahimi, H. (2019). Effects of probiotic *Lactobacillus paracasei* TD3 on moderation of cholesterol biosynthesis pathway in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(9). <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.33933.8073>
- Duque-Soto, C., Quintriqueo Cid, A., Rueda Robles, A., Robert, P., Borrás Linares, I., & Lozano Sánchez, J. (2023). Evaluation of Different Advanced Approaches to Simulation of Dynamic In Vitro Digestion of Polyphenols from Different Food Matrices—A Systematic Review. In *Antioxidants* (Vol. 12, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/antiox12010101>
- Esparza, R., Jorge, A., & Fragoso, R. (2012). Los probióticos: ¿cómo una mezcla de microorganismos hacen un gran trabajo? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43.
- Ezema. (2013). Probiotics in animal production : A review. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 5(11). <https://doi.org/10.5897/JVMAH2013.0201>
- Fossi, B. T., Ekabe, D. E., Toukam, L. L., Tatsilong Pambou, H. O., Gagneux-Brunon, A., Nkenfou Nguéfeu, C., & Bongue, B. (2022). Probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional cameroonian palm wine and corn beer exhibiting cholesterol lowering activity. *Heliyon*, 8(11). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11708>
- Ghatani, K., Thapa, S., Sha, S. P., Sarkar, S., Modak, D., & Bhattacharjee, S. (2022). Revealing Probiotic Potential of Enterococcus Strains Isolated From Traditionally Fermented Chhurpi and Healthy Human Gut. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.909987>
- Gill, H. S., Shu, Q., Lin, H., Rutherford, K. J., & Cross, M. L. (2001). Protection against translocating *Salmonella typhimurium* infection in mice by feeding the immuno-enhancing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strain HN001. *Medical Microbiology and Immunology*, 190(3). <https://doi.org/10.1007/s004300100095>
- Gou, H. Z., Zhang, Y. L., Ren, L. F., Li, Z. J., & Zhang, L. (2022). How do intestinal probiotics restore the intestinal barrier? In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.929346>
- Harbarth, S., Balkhy, H. H., Goossens, H., Jarlier, V., Kluytmans, J., Laxminarayan, R., Saam, M., Van Belkum, A., & Pittet, D. (2015). Antimicrobial resistance: One world, one fight! *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s13756-015-0091-2>

- Harika, K., Shenoy, V., Narasimhaswamy, N., & Chawla, K. (2020). Detection of biofilm production and its impact on antibiotic resistance profile of bacterial isolates from chronic wound infections. *Journal of Global Infectious Diseases*, 12(3). https://doi.org/10.4103/jgid.jgid_150_19
- Hemarajata, P., & Versalovic, J. (2013). Effects of probiotics on gut microbiota: Mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. In *Therapeutic Advances in Gastroenterology* (Vol. 6, Issue 1). <https://doi.org/10.1177/1756283X12459294>
- Hernández García Emilio Juan, Sebastián Frizzo Laureano, Rodríguez Fernández, J. C., Valdez Paneca Gregory, Virginia Zbrun María, & Calero Herrera Ibrahim. (2019). Evaluación in vitro del potencial probiótico de *Lactobacillus acidophilus* SS80 y *Streptococcus thermophilus* SS77. *Revista de Salud Animal*, 41(1).
- Huber, L., Agunos, A., Gow, S. P., Carson, C. A., & Van Boeckel, T. P. (2021). Reduction in antimicrobial use and resistance to salmonella, campylobacter, and escherichia coli in broiler chickens, Canada, 2013-2019. In *Emerging Infectious Diseases* (Vol. 27, Issue 9). <https://doi.org/10.3201/eid2709.204395>
- Iorizzo, M., Testa, B., Ganassi, S., Lombardi, S. J., Ianiro, M., Letizia, F., Succi, M., Tremonte, P., Vergalito, F., Cozzolino, A., Sorrentino, E., Petrarca, S., De Cristofaro, A., & Coppola, R. (2021). Probiotic properties and potentiality of lactiplantibacillus plantarum strains for the biological control of chalkbrood disease. *Journal of Fungi*, 7(5). <https://doi.org/10.3390/jof7050379>
- Ishimwe, N., Daliri, E. B., Lee, B. H., Fang, F., & Du, G. (2015). The perspective on cholesterol-lowering mechanisms of probiotics. In *Molecular Nutrition and Food Research* (Vol. 59, Issue 1). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400548>
- Jose, N. M., Bunt, C. R., & Hussain, M. A. (2015). Comparison of microbiological and probiotic characteristics of lactobacilli isolates from dairy food products and animal rumen contents. *Microorganisms*, 3(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms3020198>
- Klimko, A. I., Cherdyntseva, T. A., Brioukhanov, A. L., & Netrusov, A. I. (2020). In Vitro Evaluation of Probiotic Potential of Selected Lactic Acid Bacteria Strains. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(3). <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09599-6>
- Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R. M., Khan, I. M., Özogul, F., Rocha, J. M., Esatbeyoglu, T., & Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 14). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1216674>
- Leccese Terraf, M. C., Juárez Tomás, M. S., Rault, L., Le Loir, Y., Even, S., & Nader-Macías, M. E. F. (2016). Biofilms of vaginal *Lactobacillus reuteri* CRL 1324 and *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1332:

- kinetics of formation and matrix characterization. *Archives of Microbiology*, 198(7). <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1225-5>
- Lee, K. W., Park, J. Y., Jeong, H. R., Heo, H. J., Han, N. S., & Kim, J. H. (2012). Probiotic properties of Weissella strains isolated from human faeces. *Anaerobe*, 18(1). <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.12.015>
- Mackie, A., Mulet-Cabero, A. I., & Torcello Gomez, A. (2020). Simulating human digestion: Developing our knowledge to create healthier and more sustainable foods. *Food and Function*, 11(11). <https://doi.org/10.1039/d0fo01981j>
- Magouras, I., Carmo, L. P., Stärk, K. D. C., & Schüpbach Regula, G. (2017). Antimicrobial usage and -resistance in livestock: Where should we focus? In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 4, Issue SEP). <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00148>
- Mathipa, M. G., & Thantsha, M. S. (2017). Probiotic engineering: Towards development of robust probiotic strains with enhanced functional properties and for targeted control of enteric pathogens. In *Gut Pathogens* (Vol. 9, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0178-9>
- Mu, J., Guo, X., Zhou, Y., & Cao, G. (2023). The Effects of Probiotics/Synbiotics on Glucose and Lipid Metabolism in Women with Gestational Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. In *Nutrients* (Vol. 15, Issue 6). <https://doi.org/10.3390/nu15061375>
- Muhammad Shuaib Shaffi, & Muhammad Khalid Hameed. (2023). The role of probiotics in animal nutrition and health. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 17(3). <https://doi.org/10.30574/wjarr.2023.17.3.0396>
- Mulet Cabero, A. I., Egger, L., Portmann, R., Ménard, O., Marze, S., Minekus, M., Le Feunteun, S., Sarkar, A., Grundy, M. M. L., Carrière, F., Golding, M., Dupont, D., Recio, I., Brodkorb, A., & Mackie, A. (2020). A standardised semi-dynamic: in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 11(2). <https://doi.org/10.1039/c9fo01293a>
- Ortiz, Á., Reuto, J., Fajardo, E., Sarmiento, S., Aguirre, A., Arbeláez, G., Gómez, D., & Quevedo-Hidalgo, B. (2008). EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PROBIÓTICA “IN VITRO” DE UNA CEPA NATIVA DE *Saccharomyces cerevisiae*. *Redalyc*, 13(2).
- O’Toole, P. W., & Cooney, J. C. (2008). Probiotic Bacteria Influence the Composition and Function of the Intestinal Microbiota. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2008. <https://doi.org/10.1155/2008/175285>
- Pagliaro, G., & Battino, M. (2010). The use of probiotics in gastrointestinal diseases. In *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* (Vol. 3, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/s12349-010-0008-9>
- Plaza Diaz, J., Ruiz Ojeda, F. J., Gil Campos, M., & Gil, A. (2019). Mechanisms of Action of Probiotics. *Advances in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>

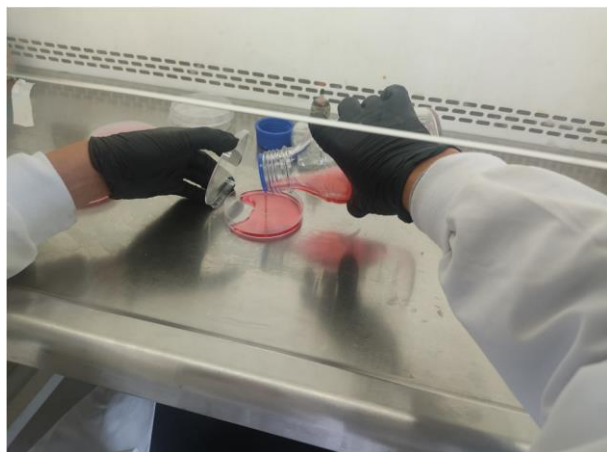
- Qian, Z., Zhu, H., Zhao, D., Yang, P., Gao, F., Lu, C., Yin, Y., Kan, S., & Chen, D. (2021). Probiotic lactobacillus Sp. Strains inhibit growth, adhesion, biofilm formation, and gene expression of bacterial vaginosis-inducing gardnerella vaginalis. *Microorganisms*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040728>
- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, R. U., & Jahid, I. K. (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1626-0>
- Ringel, Y., Quigley, E. M., & Lin, H. C. (2012). Using Probiotics in Gastrointestinal Disorders. *The American Journal of Gastroenterology Supplements*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/ajgsup.2012.7>
- Ruiz Ramírez, Y., Valadez-Blanco, R., Calderón García, C., Chikindas, M. L., & Ponce Alquicira, E. (2023). Probiotic and functional potential of lactic acid bacteria isolated from pulque and evaluation of their safety for food applications. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1241581>
- Servin, A. L. (2004). Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 28, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.01.003>
- Setyawardani, T., Rahayu, W. P., Maheswari, R. R., & Palupi, N. S. (2014). Antimicrobial activity and adhesion ability of indigenous lactic acid bacteria isolated from goat milk. *International Food Research Journal*, 21(3).
- So, A. D. (2019). *Tracking Antimicrobial Resistance in the Sustainable Development Goals*. SDG Knowledge Hub.
- Taneja, N., & Sharma, M. (2019). Antimicrobial resistance in the environment: The Indian scenario. In *Indian Journal of Medical Research* (Vol. 149, Issue 2). https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_331_18
- Tegegne, B. A., & Kebede, B. (2022). Probiotics, their prophylactic and therapeutic applications in human health development: A review of the literature. In *Heliyon* (Vol. 8, Issue 6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09725>
- Tompkins, T. A., Hagen, K. E., Wallace, T. D., & Fillion Forté, V. (2008). Safety evaluation of two bacterial strains used in asian probiotic products. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(5). <https://doi.org/10.1139/W08-022>
- Twomey, M. E., & Kilcoyne, M. (2017). Understanding the mechanisms by which probiotics inhibit the gastric pathogen H. Pylori using Mucin and neoglycoconjugate microarrays. *Postepy Mikrobiologii*, 56.
- van Zyl, W. F., Deane, S. M., & Dicks, L. M. T. (2020). Molecular insights into probiotic mechanisms of action employed against intestinal pathogenic bacteria. In *Gut Microbes* (Vol. 12, Issue 1). <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1831339>

- Verhoeckx, K., Cotter, P., López Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D., & Wichers, H. (2015). The impact of food bioactives on health: In vitro and Ex Vivo models. In *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-16104-4>
- Wohlgemuth, S., Loh, G., & Blaut, M. (2010). Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects. In *International Journal of Medical Microbiology* (Vol. 300, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.003>
- Zhao, Y., Yang, Q. E., Zhou, X., Wang, F. H., Muurinen, J., Virta, M. P., Brandt, K. K., & Zhu, Y. G. (2021). Antibiotic resistome in the livestock and aquaculture industries: Status and solutions. In *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* (Vol. 51, Issue 19). <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1777815>

ANEXOS

Anexo 1.

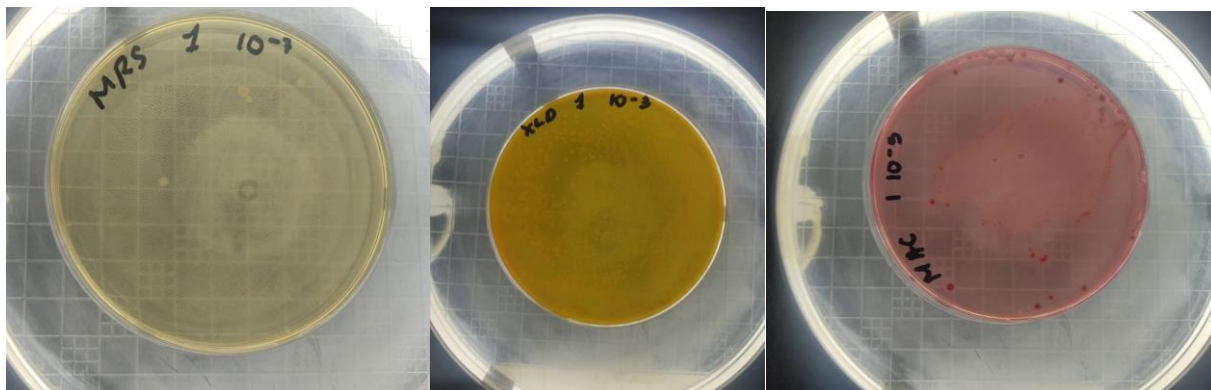
Proceso de conteo de colonias y elaboración de agar MRS, MacConkey, XLD.



Nota. Cada una de las cajas Petri se realizó con agar MRS, MacConkey, XLD. Elaboración Propia.

Anexo 2.

Proceso de conteo de colonias en agar MRS, XLD y MacConkey de la cepa 1.



Nota. De cada una de las 10 cepas con las diluciones 10 en los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} seguidamente del conteo de colonias. Elaboración propia.

Anexo 3.*Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 19.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	Incontable	1	-	-
MacConkey	Incontable	Incontable	29	-	-
MRS	-	-	45	7	4

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 4.*Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 21.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	Incontable	70	-	-
MAC	Incontable	Incontable	60	-	-
MRS	-	-	55	20	2

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 5.*Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 7.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	Incontable	13	-	-
MAC	Incontable	43	30	-	-
MRS	-	-	30	14	2

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 6.*Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 2.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	Incontable	70	-	-
MAC	Incontable	Incontable	60	-	-
MRS	-	-	50	11	2

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 7.*Resultados de las competencias bacterianas de la CEPA 4.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	Incontable	100	-	-
MAC	Incontable	110	85	-	-
MRS	-	-	Incontable	50	4

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 8.*Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 20.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	50	20	-	-
MAC	Incontable	75	28	-	-
MRS	-	-	Incontable	25	2

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 9.*Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 5.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	Incontable	50	-	-
MAC	Incontable	Incontable	44	-	-
MRS	-	-	Incontable	17	10

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 10.*Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 1.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	70	10	-	-
MAC	Incontable	98	24	-	-
MRS	-	-	Incontable	13	4

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 11.*Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 16.*

	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
XLD	Incontable	102	28	-	-
MAC	Incontable	100	20	-	-
MRS	-	-	Incontable	12	1

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 12.*Resultados de las competencias bacterianas de la Cepa 29.*

	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
XLD	Incontable	Incontable	75	-	-
MAC	Incontable	75	35	-	-
MRS	-	-	85	15	1

Nota. En los medios XLD y MacConkey se realizaron diluciones 10⁻³, 10⁻⁴ y 10⁻⁵, por otro lado, para el medio MRS se realizaron diluciones 10⁻⁵, 10⁻⁶ y 10⁻⁷. Elaboración propia.

Anexo 13.*Cálculos demostrativos Cálculo de UFC/mL*

$$\frac{UFC}{mL} = Colonias * Volumen Extendido$$

$$\frac{UFC}{mL} = UFC * Volumen Extendido$$

Anexo 14.*Cálculo demostrativo de la Cepa 19***Dilución 10⁻⁵ XLD**

$$\frac{UFC}{mL} = 1 * 100000 = 100000 \text{ UFC/mL}$$

$$\frac{UFC}{mL} = 100000 \frac{UCF}{mL} * 10 \mu L = 1 * 10^6$$

Dilución 10⁻⁵ MacConkey

$$\frac{UFC}{mL} = 29 * 100000 = 2900000 \text{ UFC/mL}$$

$$\frac{UFC}{mL} = 2900000 \frac{UCF}{mL} * 10 \mu L = 2.9 * 10^7$$

Dilución 10⁻⁵ MRS

$$\frac{UFC}{mL} = 45 * 100000 = 4500000 \text{ UFC/mL}$$

$$\frac{UFC}{mL} = 4500000 \frac{UCF}{mL} * 10 \mu L = 4.5 * 10^7$$

Dilución 10^{-6} MRS

$$\frac{UFC}{mL} = 7 * 10000000 = 70000000 \text{ UFC/mL}$$

$$\frac{UFC}{mL} = 70000000 \frac{UFC}{mL} * 10 \mu L = 7 * 10^7$$

Dilución 10^{-7} MRS

$$\frac{UFC}{mL} = 4 * 100000000 = 400000000 \text{ UFC/mL}$$

$$\frac{UFC}{mL} = 400000000 \frac{UFC}{mL} * 10 \mu L = 4 * 10^8$$

Anexo 15.

Proceso de obtención de resultados de Biofilms o Biopelículas en placa de 96 pocillos.



Nota. En cada cepa se realizó por triplicado. Elaboración propia.

Anexo 16.

Resultados de absorbancia a 540 nm de la reducción de azúcares reductores.

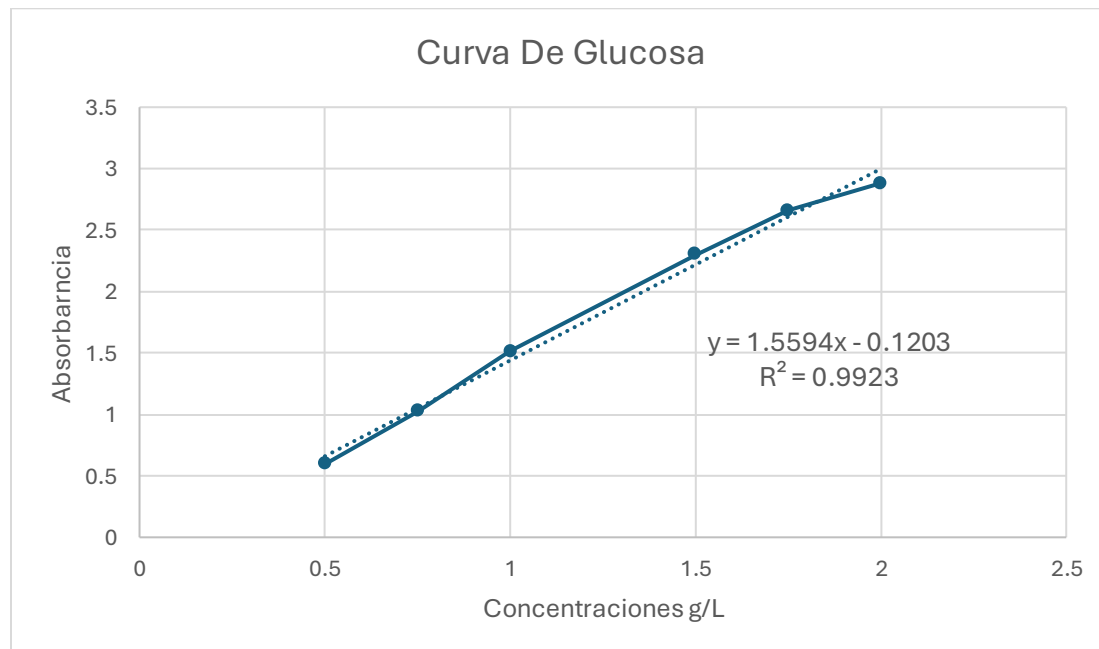
Cepa	0 h	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h
5	0.100	0.0258	0.0176	0.0436	0.0775	0.0783
19	0.154	0.0095	0.0053	0.0763	0.1623	0.1634
29	0.155	0.0242	0.0047	0.0476	0.0988	0.0632
20	0.103	0.0466	0.0267	0.4208	0.4666	0.3559
4	0.109	0.0495	0.0096	0.0450	0.0574	0.0613
16	0.120	0.0360	0.0158	0.0203	0.0309	0.1137
1	0.098	0.0217	0.0210	0.0507	0.1612	0.1280
2	0.120	0.0214	0.0059	0.0418	0.0733	0.1017
7	0.107	0.0493	0.0350	0.0640	0.0968	0.0857
21	0.118	0.0123	0.0088	0.0230	0.0273	0.0475

Nota. Se observa los resultados obtenidos en el espectrofotómetro a una absorbancia de 540 nm.

Elaboración Propia

Anexo 17.

Cálculo demostrativo para generar la ecuación de la curva de glucosa.



Nota. La curva de calibración de glucosa se realizó por medio de una curva patrón con concentraciones conocidas de glucosa (0.5-2 g/L). Elaboración propia.

Se sustituyo los valores de absorbancia de las 10 cepas.

Cálculo demostrativo cepa 5

$$y = mx + b$$

$$y = 1.5594x - 0.1203$$

$$0.100 = 1.5594x - 0.1203$$

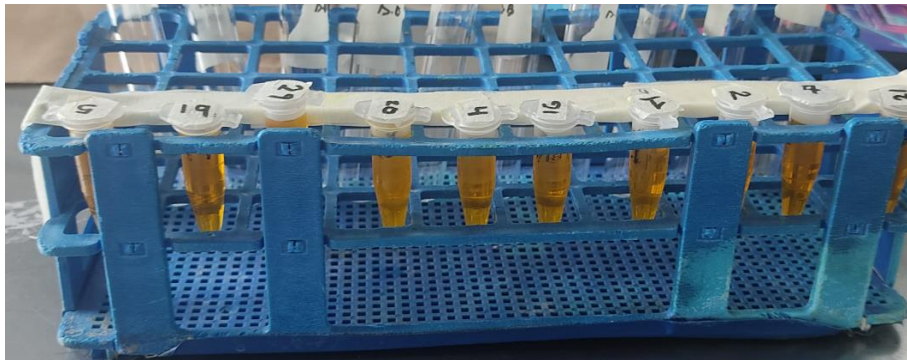
$$0.100 + 0.1203 = 1.5594x$$

$$\frac{0.2203}{1.5594} = x$$

$$x = 0.1412$$

Anexo 18.

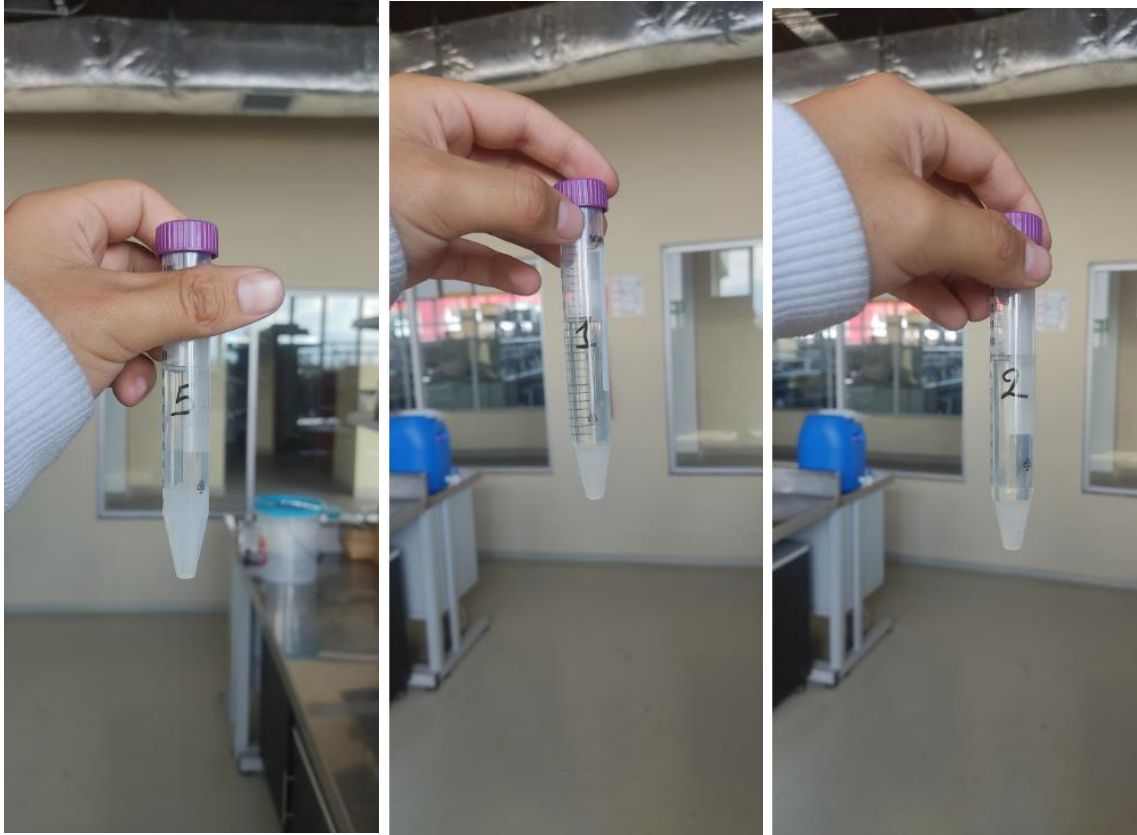
Proceso de obtención de azúcares reductores, des pues del método DNS.



Nota. De cada una de las 10 cepas probióticas se realizó por la técnica del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Elaboración propia.

Anexo 19.

Proceso para obtener la reducción de colesterol.



Nota. Mediante el proceso de centrifugación de las cepas probióticas se obtuvo un sobrenadante, el mismo que se llevó al espectrofotómetro a una absorbancia de 540 nm, esto se realizó por cada cepa probiótica.

Anexo 20.

Porcentaje de reducción de colesterol

Cálculo demostrativo.

$$\% \text{ de reducción de colesterol} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} * 100$$

Donde:

C₀ = es la concentración de colesterol en el medio inicial.

C_t = es la concentración de colesterol al final de la inoculación.

- **Cepa 1**

$$\% \text{ de reduccion de colesterol} = \frac{0.5422 - 0.0705}{0.5422} * 100 = 87\%$$

Anexo 21.

Caracterización de Cepas Probióticas.

Cepa	Identificación Genero
Cepa 21	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Cepa 19	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Cepa 7	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Cepa 4	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Cepa 2	<i>Weissella cibaria</i>
Cepa 16	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Cepa 5	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Cepa 1	<i>Weissella cibaria</i>
Cepa 29	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Cepa 20	<i>Pediococcus pentosaceus</i>

Nota. Cada cepa probiótica se idéntico para tener una mayor precisión en el momento de poder discutir.
Elaboración Propia.

Anexo 22.

Resultados de la caracterización de la cepa probióticas 20.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122623

A.B. BAL

Identificación: CEPA 20

Fecha de ingreso: 2024-12-26 2:15PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-12 3:38PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
GERMEN IDENTIFICADO	PEDIOCOCCUS pentosaceus		
SCORE	2.02		

Resultados



Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CI# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología "CIM". Adaptado de CIM (2024)

Anexo 23.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 1.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122613

ABBAL

Identificación: CEPA 1

Fecha de ingreso: 2024-12-26 1:34PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-01 4:01PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)	1		
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	ABBAL CEPA 1		
GERMEN IDENTIFICADO	WEISSELLA cibaria		
SCORE	2.05		

Validado por: Msc. Lenay Barrera



Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CÍ# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología “CIM”. Adaptado de CIM (2024).

Anexo 24.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 5.



Centro de Investigación Microbiológica
Dr. Henry Parra
Experiencia que genera confianza.

CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"
CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122616

ABBAL

Identificación: CEPAS

Fecha de ingreso: 2024-12-26 1:41PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-01 4:03PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	ABBAL CEPA 5		
GERMEN IDENTIFICADO	Leuconostoc mesenteroides		
SCORE	2.021		

Validado por: Msc. Lenay Barrera

Resultados




Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CI# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología “CIM”. Adaptado de CIM (2024)

Anexo 25.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 16.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122618

ABBAL

Identificación: CEP16

Fecha de ingreso: 2024-12-26 1:43PM GMT-05

Fecha de impresión: 2025-01-01 4:00PM GMT-05

Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	ABBAL		
GERMEN IDENTIFICADO	LACTOBACILLUS plantarum		
SCORE	2.00		

Validado por: Msc. Lenay Barrera



Resultados

Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CI# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología "CIM". Adaptado de CIM (2024)

Anexo 26.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 2.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122622

BACTERIA ACIDO LACTICA

Identificación: CEPA 2 MDGM

Fecha de ingreso: 2024-12-26 2:14PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-01 4:00PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	BACTERIA ACIDO LACTICA CEPA 2 MDGM		
GERMEN IDENTIFICADO	WEISSELLA cibaria		
SCORE	2.15		

Validado por: Msc. Lenay Barrera



Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CI# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología "CIM". Adaptado de CIM (2024)

Anexo 27.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 4.

 <p>Centro de Investigación Microbiológica Dr. Henry Parra Experiencia que genera confianza.</p>	CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM" CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777 reportes@labcim.ec RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079																												
ORDEN NO. 24122621 BAL MDGM Identificación: CEPA 4	Fecha de ingreso: 2024-12-26 2:06PM GMT-05 Fecha de impresión: 2025-01-01 4:00PM GMT-05 Médico: 1. MEDICO PARTICULAR																												
Informe de resultados																													
<table><thead><tr><th>EXAMEN</th><th>RESULTADO</th><th>UNIDAD</th><th>V. REFERENCIA</th></tr></thead><tbody><tr><td colspan="4">MICROBIOLOGÍA</td></tr><tr><td colspan="4">IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)</td></tr><tr><td colspan="4">IDENTIFICACION POR MALDI TOF</td></tr><tr><td>IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA</td><td colspan="3">BAL-MDGM CEPA 4</td></tr><tr><td>GERMEN IDENTIFICADO</td><td colspan="3">Leuconostoc mesenteroides</td></tr><tr><td>SCORE</td><td colspan="3">2.01</td></tr></tbody></table>		EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA	MICROBIOLOGÍA				IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)				IDENTIFICACION POR MALDI TOF				IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	BAL-MDGM CEPA 4			GERMEN IDENTIFICADO	Leuconostoc mesenteroides			SCORE	2.01		
EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA																										
MICROBIOLOGÍA																													
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)																													
IDENTIFICACION POR MALDI TOF																													
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	BAL-MDGM CEPA 4																												
GERMEN IDENTIFICADO	Leuconostoc mesenteroides																												
SCORE	2.01																												
<p>Resultados</p> 	<p>Validado por: Msc. Lenay Barrera</p> <p> Dr. Henry Parra Vera Microbiólogo</p> <p>CENTRO DE INVESTIGACIÓN MICROBIOLÓGICA Dr. Henry Junior Parra Vera CI# 0913233904 REG. SANT. 4061</p>																												

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología “CIM”. Adaptado de CIM (2024)

Anexo 28.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 29.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122611

MD6M

Identificación: BAL

Fecha de ingreso: 2024-12-26 1:13PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-01 4:01PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	MD6M		
GERMEN IDENTIFICADO	Leuconostoc mesenteroides		
SCORE	2.10		

Validado por: Msc. Lenay Barrera



Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CI# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología "CIM". Adaptado de CIM (2024)

Anexo 29.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 7.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122615

MD6M

Identificación: CEP47

Fecha de ingreso: 2024-12-26 1:39PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-01 4:01PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	MD6M CEP4 7		
GERMEN IDENTIFICADO	Leuconostoc mesenteroides		
SCORE	2.03		

Validado por: Msc. Lenay Barrera



Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
Ci# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología "CIM". Adaptado de CIM (2024)

Anexo 30.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 19.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122614

md6m

Identificación: cepa19

Fecha de ingreso: 2024-12-26 1:36PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-01 4:01PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	CEPA MD6M		
GERMEN IDENTIFICADO	LACTOBACILLUS plantarum		
SCORE	2.03		

Validado por: Msc. Lenay Barrera



Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CI# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología "CIM". Adaptado de CIM (2024)

Anexo 31.

Resultados de la caracterización de la cepa probiótica 21.



CENTRO DE INVESTIGACION MICROBIOLÓGICA "CIM"

CORDOVA 603 Y MENDIBURO, ED. K1 - PB - GUAYAQUIL
Telfs.: 04-256-1019 / 04-231-3696 / 04-230-9179 / 0995133333 / 0983477777
reportes@labcim.ec
RUC 0992644451001 UNICODIGO:27079

ORDEN NO. 24122617

MD6M

Identificación: CEPA21

Fecha de ingreso: 2024-12-26 1:42PM GMT-05
Fecha de impresión: 2025-01-01 4:01PM GMT-05
Médico: 1. MEDICO PARTICULAR

Informe de resultados

EXAMEN	RESULTADO	UNIDAD	V. REFERENCIA
MICROBIOLOGÍA			
IDENTIFICACION DE BACTERIAS POR MALDI TOF (Muestra externa)			
IDENTIFICACION POR MALDI TOF			
IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA	CEPA MD6M		
GERMEN IDENTIFICADO	Leuconostoc mesenteroides		
SCORE	2.010		

Validado por: Msc. Lenay Barrera



Dr. Henry Parra Vera
Microbiólogo

CENTRO DE INVESTIGACIÓN
MICROBIOLÓGICA
Dr. Henry Junior Parra Vera
CI# 0913233904
REG. SANT. 4061

Nota. Cada una de las cepas probióticas se llevó a caracterizar en el centro de investigación de microbiología "CIM". Adaptado de CIM (2024)