



Identificación de hidrolasas peptidoglucano producidas por bacterias ácido lácticas.

Amairany López-Zamudio¹, Carolina Peña-Montes¹ y Patricia Guillermina Mendoza-García¹

¹ UNIDA-ITVER. amairany_loza@hotmail.com

Las peptidoglucano hidrolasas (PGH), son enzimas que hidrolizan de manera controlada los enlaces del peptidoglucano, se clasifican en *N*-acetilmuramidasa, *N*-acetilglucosaminasa, *N*-acetilmuramoil-L-alanina amidasa y en peptidasas. Las PGH son secretadas mediante la vía Sec-dependiente o mediante el Sistema TAT (Twin-arginine translocation) y tienen pesos moleculares en un rango de 22 a 137 kDa. Se ha reportado que entre los microorganismos con una mayor producción de PGH se encuentran las bacterias ácido lácticas (BAL), principalmente los géneros *Pediococcus* y *Lactobacillus*. La importancia de las PGH radica en su uso potencial como bactericidas. Un problema actual de salud pública es la resistencia antibióticos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) destacan en su plan de acción mundial el problema de la resistencia a los antibióticos, lo cual se considera una amenaza en medicina humana, veterinaria, en el sector alimentario y medio ambiental. Además, su aplicación no solo se enfoca como tratamientos biomédicos contra infecciones, sino también como bioconservadores naturales extendiendo la vida de anaquel y seguridad alimentaria través del uso de estas. En los últimos años se ha incrementado el interés por generar nuevas alternativas tecnológicas para estas incógnitas, por esta razón el objetivo de esta investigación es estudiar las PGH producidas por *Pediococcus acidilactici* (ITV-26) y *Lactobacillus fermentum* (SP-23). Con la finalidad de alcanzar estos objetivos se efectuó la identificación fenotípica y genotípica de las BAL en estudio, así como la identificación de las enzimas en estudio mediante la realización de cinéticas de crecimiento determinando la densidad óptica, el pH y la identificación de proteínas extracelulares, de citosol y de membrana, para precisar la fase de crecimiento en la cual se encuentra la mayor actividad enzimática se utilizó como sustrato 4-nitrofenil N-acetil- β -D-glucosaminida (4N-NAG), se cuantificaron las proteínas por el método de Bradford, se determinó el peso molecular en geles de poliacrilamida Tris-Tricina-SDS (TSDS-PAGE) y se identificó la actividad enzimática mediante zimogramas con 0.2% de células de *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698 y 4N-NAG. Los resultados obtenidos de la identificación fenotípica y genotípica de las BAL, previamente aisladas de cepas nativas a partir de heces de bebé lactante (ITV-26) y quesos frescos artesanales (SP-23) coinciden en más del 95 % con *Pediococcus acidilactici* y con *Lactobacillus fermentum*. En las cinéticas de crecimiento se determinó que la mayor actividad enzimática de PGH se alcanzó a las 14 horas en ITV-26 y en SP-23 a las 18 horas de crecimiento, identificando las enzimas con actividad lítica y pesos moleculares de 22 kDa (ITV-26) y 24 kDa (SP-23), las cuales coinciden con el tipo *N*-acetilmuramidasa según el Sistema Experto de Análisis de Proteínas (EXPASY). Debido a la actividad observada de *N*-acetilmuramidasa es de interés en la industria de los alimentos y la biotecnología, ya que puede ser potencialmente utilizada para el control de patógenos alargando la vida de anaquel de alimentos y de bacterias resistentes en el ámbito hospitalario.