

## **Sensibilidad y Resistencia a Antibióticos de Cepas Probióticas Empleadas en Productos Comerciales**

***Ana Luisa May-Torruco,***

Egresada de Ingeniería en Alimentos, División Académica  
Multidisciplinaria de los Ríos,  
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

***Alma Irene Corona-Cruz,***

Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, México

***Ana Laura Luna-Jiménez,***

***Nicolás González-Cortés,***

***Román Jiménez-Vera,***

Cuerpo Académico Desarrollo Sustentable.  
División Académica Multidisciplinaria de los Ríos,  
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

Doi:10.19044/esj.2020.v16n18p43

URL:<http://dx.doi.org/10.19044/esj.2020.v16n18p43>

---

### **Resumen**

Una característica deseada de los probióticos es su sensibilidad a los antibióticos para descartar la transmisión de resistencia en el ecosistema digestivo. Es importante conocer su susceptibilidad ya que se ingieren frecuentemente con la finalidad de reforzar la microflora intestinal. El objetivo de este trabajo fue analizar la susceptibilidad de probióticos aislados de productos comerciales a los principales antibióticos de uso clínico. La prueba de sensibilidad se realizó por el método de difusión en disco sobre agar MRS, empleando discos de antibióticos mixtos comerciales. Las bacterias *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum* fueron sensibles a: penicilina, ampicilina, ceftriaxona y cefalotina (Betalactámicos), eritromicina (Macrólidos) y cloranfenicol (Anfenicoles). Resistentes a dicloxacilina (Betalactámicos), oxacilina (Fluoroquinolona), netilmicina, gentamicina y amikacina (Aminoglucósidos) y trimetoprim-sulfametoxazol (Sulfonamidas). Los resultados muestran la importancia de valorar la susceptibilidad (sensibilidad y resistencia) de los probióticos a los antibióticos ya que, se consumen de forma intencionada con el propósito de mantener el equilibrio de la flora intestinal.

---

**Palabras clave:** Probiótico, Antibiótico, Bacteria Ácido Láctica, Alimento Funcional

## **Antibiotic Sensitivity and Resistance of Probiotic Strains Used in Commercial Products**

***Ana Luisa May-Torruco,***

Egresada de Ingeniería en Alimentos, División Académica  
Multidisciplinaria de los Ríos,  
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

***Alma Irene Corona-Cruz,***

Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, México

***Ana Laura Luna-Jiménez,***

***Nicolás González-Cortés,***

***Román Jiménez-Vera,***

Cuerpo Académico Desarrollo Sustentable.  
División Académica Multidisciplinaria de los Ríos,  
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

---

### **Abstract**

A characteristic of probiotics is their sensitivity to antibiotics to discard the transmission of resistance in the digestive ecosystem. It is important to know your susceptibility, which is often ingested for the purpose of strengthening intestinal microflora. The purpose of this work was to analyze the susceptibility of probiotics isolated from commercial products to the main antibiotics for clinical use. The sensitivity test was carried out by means of a disk diffusion method on MRS agar, using disks of mixed commercial antibiotics. The bacteria's *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum* were sensitive to: penicillin, ampicillin, ceftriaxone and cephalotin (Beta-lactam), erythromycin (Macrolides) and chloramphenicol (Amphenicoles). Resistant to dicloxacillin (Beta-lactam), enoxacillin (Fluoroquinolone), netilmicin, gentamicin and amikacin (Aminoglycosides) and trimethoprim-sulfamethoxazole (Sulfonamides). The results show the importance of assessing the susceptibility (sensitivity and resistance) of probiotics to antibiotics since they are consumed intentionally in order to maintain the balance of the intestinal flora.

---

**Keywords:** Probiotic, Antibiotic, Lactic Acid Bacteria, Functional Food

## Introducción

Los nuevos estilos de vida han promovido cambios en determinados hábitos de la alimentación y han surgido los alimentos funcionales como aquellos que proveen beneficios a la salud. Actualmente se da gran importancia al consumo de alimentos con propiedades funcionales para corregir las posibles alteraciones de la alimentación, principalmente la microbiota intestinal, mediante el uso de agentes bioterapéuticos como los prebióticos, probióticos y simbióticos, de origen natural, benéficos para la salud, con propiedades biológicas activas y capacidad preventiva o terapéutica definida (Mariño, Núñez, & Barreto, 2016)

La Organización Mundial de la Salud define a los probióticos como microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidad adecuada ejercen un efecto beneficioso sobre la salud del huésped. El espectro de los productos y preparaciones que pueden considerarse como probióticos es muy amplio y abarca desde fármacos, alimentos de usos médicos especiales, alimentos como leches fermentadas, fórmulas infantiles y productos de administración no oral, como los vaginales. Para que un microorganismo sea considerado probiótico es necesario haber realizado estudios en humanos para demostrar los beneficios concretos sobre la salud de las cepas concretas, no solo del género o la especie (Oliveira & González-Molero, 2016).

Los *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son los microorganismos usados con mayor frecuencia como probióticos, así como la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y algunas especies de *Escherichia coli* y *Bacillus*. Los probióticos en los alimentos cumplen una doble función ya que actúan como agentes para la fermentación de alimentos y, además, confieren beneficios a la salud de quien los consume (Organización Mundial de Gastroenterología, 2011).

Las bacterias ácido lácticas se caracterizan por fermentar carbohidratos y producir ácido láctico como principal producto metabólico. Muchas de ellas poseen propiedades probióticas y están presentes en la alimentación del hombre ya que, se encuentran en productos como leches fermentadas, quesos madurados, cárnicos y hasta en algunas preparaciones de vegetales. Son microorganismos comensales de la piel, la mucosa del tracto digestivo y genital de humanos y animales. Este grupo bacteriano inicia la colonización del sistema digestivo al momento del nacimiento de un nuevo ser, la cual declina con la edad por disminución en la adhesión a la mucosa intestinal (Cueto-Vigil, Acuña-Monsalve, & Valenzuela-Riaño, 2010).

Por otra parte, la introducción de los antibióticos en la práctica clínica ha sido una de las intervenciones más importantes para el control de las enfermedades infecciosas. Los antibióticos han salvado millones de vidas, y además han supuesto una revolución en la medicina. Sin embargo, una amenaza creciente deteriora la eficacia de estos fármacos: la resistencia bacteriana a los antibióticos, la cual se define como la capacidad de una

bacteria para sobrevivir en concentraciones de antibiótico que inhiben el crecimiento o matan a otras de la misma especie (Alós, 2015).

El empleo de antibióticos ha llevado a la aparición de cepas patógenas resistentes ya que, en muchos países, los antibióticos se ingieren sin receta médica o se indican en infecciones virales y se administran sin regulación alguna en veterinaria. En tales condiciones, la posibilidad de aparición de bacterias multirresistentes es mayor pudiéndose perder la eficacia de los antibióticos y diseminar la resistencia a otros microorganismos y otras regiones, por lo que es un problema de salud pública (Herrera, Muñoz, & Medina, 2002).

Las infecciones causadas por bacterias resistentes se asocian a una mayor morbilidad y mortalidad que las causadas por bacterias sensibles de la misma especie. Cada vez es más frecuente la asociación de diferentes mecanismos de resistencia para una familia de antibióticos en una misma cepa. Esto hace que el perfil fenotípico sea difícil de interpretar y el tratamiento muy difícil de abordar. La prevalencia de la resistencia no solo ha aumentado en bacterias causantes de infecciones, la colonización intestinal de personas sanas por enterobacterias resistentes ha alcanzado niveles de pandemia a nivel mundial en pocos años, y se calcula que hay en el mundo 1753 millones de personas colonizadas. En el intestino humano y animal, donde hay una alta densidad bacteriana, es un lugar especialmente adecuado para el intercambio de genes inter e intraespecies que induce la resistencia bacteriana a los antibióticos (Alós, 2015).

En investigaciones recientes, se ha afirmado que las bacterias intestinales comensales, incluyendo a las bacterias ácido lácticas, pueden actuar como reservorios de genes de resistencia a antibióticos similares a los encontrados en patógenos humanos. La principal amenaza asociada con estas bacterias es que pueden transferir los genes de resistencia a bacterias patógenas por medio de elementos móviles como plásmidos o transposones; por este motivo es importante evaluar la resistencia a antibióticos en microorganismos que se ingieren de manera voluntaria, así como determinar si la resistencia de las bacterias ácido lácticas se debe a elementos móviles o a elementos cromosomales, en cuyo caso no presentarían riesgo (Cueto-Vigill, Acuña-Monsalve, & Valenzuela-Riaño, 2010).

Además, las cepas bacterianas evaluadas como probióticos para animales deben ser resistentes a los antibióticos administrados en sus dietas y también deben ser productores de sustancias antimicrobianas como el ácido láctico, el peróxido de hidrógeno y las bacteriocinas, entre otras (Brizuela, Serrano, & Pérez, 2001). En un estudio realizado por Cueto y Aragón (2012), al evaluar el potencial probiótico de bacterias ácido lácticas para reducir el colesterol *in vitro* se encontró que, de 26 cepas analizadas, seis resultaron

sensibles a vancomicina y cefoxitín, lo que corresponde a un 76 % de cepas resistentes.

De igual manera, Sánchez *et al.* (2015) analizaron seis cepas de *Lactobacillus* spp. con capacidad probiótica aisladas del tracto intestinal de terneros neonatos; cinco presentaron resistencia a sulfonamida y vancomicina. La ausencia de resistencias adquiridas a antibióticos es uno de los primeros criterios de seguridad que se deben controlar en los candidatos a probióticos, aunque se ha descrito que las bacterias lácticas presentan resistencia natural a la amikacina, oxacilina y vancomicina. Se considera para el género de *Lactobacillus* como resistencia intrínseca. Es importante evaluar si la resistencia a antibióticos encontrada en algunas bacterias ácido lácticas se debe a elementos móviles o a elementos cromosomales, en cuyo caso no presentarían riesgos.

Una característica deseada para un probiótico es la sensibilidad a los antibióticos, descartando así la posibilidad de transmitir resistencia en el ecosistema digestivo y facilitando la eliminación del bioterapéutico (Ferreira, Marçal, Duarte, & Nicoli, 2001). Sin embargo, para la prevención de trastornos intestinales, los probióticos pueden volverse resistentes a múltiples fármacos para sobrevivir en presencia de antibióticos administrados conjuntamente. Esto genera la posibilidad de transferencia de resistencia de los patógenos bacterianos probióticos a humanos, ya sea directa o indirectamente a través de la flora comensal (Courvalin, 2006).

Además, es importante analizar la resistencia de los microorganismos probióticos ya que éstos se ingieren de manera voluntaria y frecuente con el propósito de reforzar la microflora intestinal y adquirir una alta concentración, por lo que la resistencia de los patógenos pudiera generarse de éstos microorganismos y por otra parte, la información derivada de muestras clínicas suele estar sesgada hacia patógenos específicos de enfermedades comunes (Herrera *et al.*, 2002). Además, existen pocos estudios que investiguen los mecanismos de resistencia a antibióticos en bacterias ácido lácticas provenientes de los alimentos, en la mayoría dichas investigaciones se concentran en *Enterococcus* patógenos, mientras que el número de estudios sobre *Lactococcus* y *Lactobacillus* es limitado (Cueto-Vigil *et al.*, 2010).

El surgimiento de cepas resistentes a los antibióticos es un desafío para la salud y el bienestar humano, particularmente la terapia con antibióticos para el tratamiento de infecciones bacterianas. Los lactobacilos pueden restablecer o mantener el equilibrio de la microbiota normal del intestino durante o al concluir la terapia con antibióticos. Para lograr este efecto deben sobrevivir en presencia de antibióticos co-administrados. Por lo tanto, la resistencia a los antibióticos de los probióticos es un criterio esencial para su detección y selección, siempre que, por supuesto, no representen una amenaza por la

transferencia de genes de resistencia a los antibióticos a otras bacterias (Neethu, Craig, & Malik, 2014).

Los mecanismos de resistencia adquiridos y transmisibles son los más importantes y consisten fundamentalmente en la producción de enzimas bacterianas que inactivan los antibióticos o en la aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana o en la alteración del propio punto diana. Una cepa bacteriana puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos por diversas especies bacterianas (Daza, 1998). Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue analizar la susceptibilidad a antibióticos de bacterias probióticas aisladas de productos comerciales con la finalidad de conocer la sensibilidad y resistencia a los antibióticos de uso frecuente en terapia clínica.

### **Materiales y Métodos**

**Cepas probióticas.** Se emplearon bacterias del cepario del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, las cuales fueron aisladas de los principales productos comerciales adicionados con bacterias probióticas, distribuidos en México: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Bifidobacterium bifidum*. El inóculo se preparó tomando de 2 a 4 colonias de la cepa seleccionada y se inocularon en caldo MRS. Se incubaron 24 h a 37 °C para realizar posteriormente, la prueba de susceptibilidad antimicrobiana.

**Antibióticos.** Se emplearon multidiscos combinados de 12 antibióticos comerciales (Bio-Rad®, Reg. 1025R2006SSA) como se muestra en la Tabla 1, conformados por discos de papel impregnados con una concentración definida de agente antimicrobiano, se depositaron sobre la superficie del medio previamente inoculado con cultivo puro de la cepa bacteriana a comprobar (100 µl). Se incubó a 37°C durante 48 h en condiciones anaerobias (Rosenblatt & Stewart, 1975).

**Susceptibilidad.** La prueba de susceptibilidad a antibióticos se realizó por el método de difusión en disco empleando agar MRS (Dibico®) debido a las exigencias nutricionales de los microorganismos evaluados. Tras la incubación se examinaron las placas de Petri, se midieron las zonas de inhibición (mm) que rodean a los discos y se compararon con los valores críticos para los distintos agentes antimicrobianos comprobados, a fin de determinar la categoría clínica de la susceptibilidad (resistente, intermedia o susceptible) establecidos en los multidiscos comerciales. El diámetro de la zona de inhibición es proporcional a la susceptibilidad de la cepa bacteriana.

**Tabla 1.** Concentración de los antibióticos contenidos en los multidiscos Bio-Rad®.

<i>Antibiótico</i>	<i>Clasificación</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Concentración</i>
Penicilina	Betalactámico	PE	10 U
Dicloxacilina	Betalactámico	DC	1 µg
Enoxacina	Fluoroquinolona	EN	10 µg
Netilmicina	Aminoglucósido	NET	30 µg
Gentamicina	Aminoglucósido	GE	10 µg
Ceftriaxona	Betalactámico	CRO	30 µg
Trimetoprim-sulfametoxazol	Sulfonamida	STX	25 µg
Amikacina	Aminoglucósido	AN	30 µg
Ampicilina	Betalactámico	AM	10 µg
Eritromicina	Macrólido	E	13 µg
Cloranfenicol	Anfenicol	C	30 µg
Cefalotina	Betalactámico	CF	30 µg

## Resultados

La resistencia bacteriana a los antibióticos se presenta cuando un microorganismo es capaz de adaptarse y sobrevivir a las concentraciones de un antibiótico que inhibe el crecimiento o mata a otros microorganismos de la misma especie (Oteo, 2016). Este estudio surge con la finalidad de analizar el efecto de los antibióticos sobre bacterias probióticas ácido lácticas y *B. bifidum*. El estudio de estos grupos microbianos es importante debido a que la microbiota del tubo digestivo humano está compuesta por poblaciones bacterianas diversas con diferentes funciones: modifican la fisiología del colon, modulan mecanismos de defensa contra patógenos e influyen sobre la capacidad metabólica de los seres humanos. Dentro de este grupo de microorganismos se encuentran las bacterias ácido lácticas y *Bifidobacterium* sp. (Vanegas, González, & Arévalo, 2010). La Tabla 2 muestra la respuesta de las cepas probióticas a los 12 antibióticos evaluados: se observa que 50 % de los antibióticos resultaron sensibles y la otra mitad, resistentes.

**Tabla 2.** Sensibilidad y resistencia (R) de cepas probióticas a antibióticos comerciales Bio-Rad.

Antibióticos	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>B. bifidum</i>
Penicilina	> 30	20	17	21
Dicloxacilina	R	R	R	R
Enoxacina	R	R	R	R
Netilmicina	R	R	R	R
Gentamicina	R	R	R	R
Ceftriaxona	21	18	20	31
Trimetoprim	R	R	R	R
Sulfametoxazol				
Amikacina	R	R	R	R
Ampicilina	> 30	17	11	25
Eritromicina	> 30	22	23	26
Cloranfenicol	> 30	30	30	31

Cefalotina	> 30	25	23	26
------------	------	----	----	----

Con relación a los microorganismos, las bacterias evaluadas, tanto los *Lactobacillus* como *Bifidobacterium* reaccionaron de igual manera a los antibióticos, resultando susceptibles a los mismos antibióticos: seis antibióticos sensibles y seis resistentes. En *L. acidophilus*, se observó el mayor halo de inhibición en todos los antibióticos sensibles.

De los antibióticos evaluados, 41.67 % corresponde a los betalactámicos, seguidos por aminoglucósidos (25.0 %), macrólidos, anfenicoles, fluoroquinolonas y sulfonamidas, con un antibiótico cada uno (8.33 %); todos de uso clínico común y se aplican para el tratamiento en infecciones por microorganismos gramnegativos y grampositivos.

Entre los antibióticos que indujeron una respuesta sensible de las cepas probióticas se encuentran: penicilina, ceftriaxona, ampicilina, eritromicina, cloranfenicol y cefalotina, siendo el cloranfenicol el que indujo mayor sensibilidad, al mostrar un halo inhibitorio mayor de 30 mm en todas las cepas evaluadas.

Por otra parte, los antibióticos a los que resultaron resistentes las bacterias evaluadas se clasifican dentro de los aminoglucósidos (netilmicina, gentamicina y amikacina), betalactámicos (dicloxacilina), quinolonas (enoxacina) y trimtoprim-sulfametoxazol, perteneciente a las sulfonamidas. Con relación a los betalactámicos, aunque fueron evaluados cinco antibióticos, sólo dicloxacilina provocó resistencia en las bacterias probióticas evaluadas, siendo los aminoglucósidos los de mayor resistencia.

## Discusión

En esta evaluación de la susceptibilidad de antibióticos, en bacterias lácticas probióticas, se encontró que los betalactámicos fueron los antibióticos que presentaron el mayor porcentaje de sensibilidad (33.33 %), seguido por los inhibidores de la síntesis de proteínas (16.67 %). Estos resultados se relacionan con la inhibición de proteínas en el crecimiento de los microorganismos, así como la estructura de su pared celular que los clasifica como grampositivos o gramnegativos, como se detalla a continuación. La Tabla 3 muestra la clasificación de los antibióticos que indujeron sensibilidad, los cuales pueden agruparse en dos grupos: betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas) e inhibidores de la síntesis proteica (macrólidos y anfenicoles).

**Tabla 3.** Antibióticos a los que son sensibles las bacterias lácticas y *B. longum*.

Antibióticos	Clasificación	Mecanismo de acción	Referencias
Penicilina Ampicilina Ceftriaxona Cefalotina	Betalactámicos	Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana e inducción de la autólisis bacteriana	Suárez & Gudiol (2009).

Eritromicina	Macrólidos	Inhibidores de la síntesis proteica de la elongación	Álvarez & García (2002); Calvo & Martínez-Martínez (2009).
Cloranfenicol	Bacteriostático del grupo de los anfenicoles	Inhibición de la síntesis de proteínas en cepas sensibles.	Morales, Herrera & Muñoz (2007).

El mecanismo de acción de los antibióticos betalactámicos consiste en la inhibición de la pared bacteriana, interfiriendo en la síntesis del peptidoglucano mediante un bloqueo en la última etapa de su producción. Son bactericidas parciales, ya que sólo actúan en fase de crecimiento celular, y su eficacia es dependiente del tiempo (Gómez, García-Vázquez, & Hernández-Torres, 2015). El peptidoglucano o mureína es un componente esencial y específico de la pared celular bacteriana que se encuentra en el exterior de la membrana citoplasmática de casi todas las bacterias. Su función principal es preservar la integridad celular al resistir la turgencia. Cualquier inhibición de su biosíntesis o su degradación durante el crecimiento celular dará como resultado la lisis celular (Vollmer, Blanot, & de Pedro, 2008).

Tanto las bacterias ácido lácticas como *B. longum* son microorganismos grampositivos anaerobios. Si bien muchas cepas de *Lactobacillus* utilizadas en la industria láctea pueden cultivarse en condiciones microaerófilas o incluso aeróbicas, los aislamientos intestinales proliferan mejor en condiciones anaeróbicas. Los lactobacilos son bacilos grampositivos que no forman esporas. De igual manera, las bifidobacterias son bacilos pleomórficos grampositivos, que van desde formas Y y V bifurcadas uniformes a ramificadas, espatuladas o en forma de maza. Son estrictamente anaeróbicos (aunque algunas cepas pueden tolerar el oxígeno en presencia de dióxido de carbono), no son móviles ni forman esporas (Tannock, 1999).

La estructura de la pared de las bacterias ácido lácticas y bifidobacterias grampositivas suponen una diferenciación en la sensibilidad a los antibióticos. La pared celular de las especies grampositivas está conformada por gruesas capas múltiples de peptidoglucano y otros polímeros de superficie. Muchas especies también tienen polisacáridos capsulares que a menudo están unidos covalentemente al peptidoglucano. En contraste, en las bacterias gramnegativas la pared es muy delgada en comparación con la apariencia gruesa y densa de las paredes celulares de las especies grampositivas (Vollmer *et al.*, 2008), lo cual puede ser un factor que induzca sensibilidad a antibióticos en los microorganismos.

Además, en un estudio realizado por Sánchez *et al.* (2015) evaluaron la sensibilidad a antibióticos de cepas de *Lactobacillus* con capacidad probiótica, encontraron que las cepas fueron sensibles a: amikacina, ampicilina, cefalotina, cloranfenicol, eritromicina y penicilina, lo que

concuera con los resultados obtenidos en este trabajo, donde las cepas evaluadas resultaron sensibles a cinco antibióticos: penicilina, ampicilina, eritromicina, cloranfenicol y cefalotina.

De igual manera en un estudio realizado por Vera-Mejía, Ormazá-Donoso, Muñoz-Cedeño, Arteaga-Chávez y Sánchez-Miranda (2018), al evaluar la sensibilidad a antibióticos de *Lactobacillus plantarum*, se encontró que esta cepa fue sensible a: amikacina, cefalotina, cloranfenicol, sensibilidad media a ampicilina, ceftriaxona y resistente a penicilina. En otro estudio realizado por Jurado, Aguirre y Ramírez (2009), al evaluar cepas de bacterias ácido lácticas probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos adultos, la prueba de susceptibilidad antimicrobiana la cepa Pro 1b fue sensible a la tetraciclina, eritromicina, mientras que la cepa Pro 2b mostró ser sensible a tetraciclina, eritromicina, oxitetraciclina, carbenicilina, penicilina, cloranfenicol y ampicilina.

En bacterias ácido-lácticas con propiedades probióticas aisladas del intestino posterior de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) analizadas por Castañeda *et al.* (2018) se encontró que en cepas de bacterias ácido lácticas de *Enterococcus faecium* (IP5-2a) y *Pediococcus pentosaceus* (IP5-2b) presentaron sensibilidad frente a los antibióticos: cloranfenicol, amoxicilina/ácido clavulánico, gentamicina, eritromicina y tetraciclina. Los datos mostrados de investigaciones realizadas en el mundo muestran que los resultados coinciden con los obtenidos en este estudio en cepas probióticas para consumo humano comerciales, donde se encontró que las cepas evaluadas de *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. mesenteroides* y *B. bifidum*, son sensibles a antibióticos betalactámicos (penicilina, ampicilina, ceftriaxona y cefalotina) e inhibidores de síntesis proteicas (eritromicina y cloranfenicol).

Además de los antibióticos betalactámicos, el macrólido (eritromicina) y el anfenicol (cloranfenicol) también indujeron sensibilidad en este estudio realizado en bacterias lácticas probióticas. Los macrólidos son antibióticos cuyo mecanismo de acción consiste en unirse a distintas bases del centro peptidiltransferasa del ARNr 23S. Su espectro antibacteriano presenta diferencias en la afinidad y el número de lugares de unión, las cuales determinan la intensidad del efecto antibacteriano (bacteriostático o bactericida). Son activos contra la mayoría de los microorganismos grampositivos y muchos microorganismos de crecimiento intracelular. Además, los macrólidos son antibióticos que se incluyen en la categoría B de fármacos empleados durante el embarazo y su tolerancia es buena y los efectos secundarios son escasos (Cobos-Trigueros, Ateka, Pitart, & Vila, 2009).

El espectro de la eritromicina abarca fundamentalmente bacterias grampositivas y algunas gramnegativas e incluye actinomicetos, treponemas, micoplasmas, clamidias y rickettsias. Se puede utilizar con éxito en infecciones tales como faringitis, fiebre escarlatina, neumonía, septicemia,

otitis media y sinusitis. Se emplea igualmente para el tratamiento de la amebiasis intestinal, ya que raramente altera la flora intestinal (Álvarez & García, 2002).

Por su parte, el cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro, el cual no se usa como antibiótico de primera elección, debido a su toxicidad sobre células sanguíneas y médula ósea, producir daño hematológico secundario como mielosupresión relacionada con la dosis y anemia aplásica. Sin embargo, a pesar de su toxicidad, en ocasiones se indica como antibiótico sistémico debido a su efectividad contra infecciones causadas por *Salmonella typhi* y se recomienda en pacientes con meningitis de tipo bacteriana causada por *Enterococcus faecium*, *Haemophilus Influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*, especialmente en aquellos que son alérgicos a los  $\beta$ -lactámicos (Morales *et al.*, 2007).

Por otra parte, la Tabla 4 muestra los antibióticos a los que resultaron resistentes las bacterias evaluadas: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. mesenteroides* y *B. bifidum*. Los antibióticos se clasifican dentro de los aminoglucósidos (netilmicina, gentamicina y amikacina), betalactámicos (dicloxacilina), quinolonas (enoxacina) y trimtoprim-sulfametoxazol, perteneciente a las sulfonamidas. Se ha descrito que las bacterias lácticas presentan resistencia natural a amikacina, oxalina y vancomicina. Muchas veces los mecanismos no son transferibles y se considera para el género de *Lactobacillus* como una resistencia intrínseca (Sánchez *et al.*, 2015).

**Tabla 4.** Antibióticos a los que son resistentes las bacterias lácticas y *B. longum*.

<i>Antibióticos</i>	<i>Mecanismo de acción</i>	<i>Resistencia</i>	<i>Referencias</i>
Dicloxacilina (Betalactámico)	Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana e inducción de la autólisis bacteriana	Producción de enzimas, modificación de la diana y alteraciones en la permeabilidad y bombas de expulsión.	Suárez & Gudiol (2009).
Enoxacina (Fluoroquinolona)	Inhiben a las enzimas encargadas de la replicación, transcripción, reparación y recombinación del ADN bacteriano.	Mutaciones cromosómicas, reducción de la concentración intracelular y genes mediados por plásmidos.	Carrillo-Alduenda, Flores-Murrieta, & Rodríguez-Alcocer (2018); Álvarez-Hernández, Garza-Mayén, & Vázquez-López (2015).
Netilmicina, Gentamicina, Amikacina (Aminoglucósidos)	Inhiben la síntesis proteica bacteriana y alteran la integridad de la membrana citoplasmática.	Menor penetración al interior de bacterias sobrevivientes a la exposición de antibiótico menores que la CIM.	Rodríguez-Álvarez (2002); Palomino & Pachón (2003).
Trimetoprim Sulfametoxazol (Sulfonamidas)	Inhiben la síntesis del folato al unirse a la enzima dihidropteroato sintetasa y la dihidrofoloreductasa.	Alteración e hiperproducción de enzimas a través de mutaciones, plásmidos u otros elementos genéticos transmisibles.	Vigliarolo, Gazzeli, Bonofiglio, Mollerach, & Horacio (2018).

Con relación a los betalactámicos, fueron evaluados cinco antibióticos, de los cuales, sólo uno, la dicloxacilina provocó resistencia en las bacterias probióticas evaluadas, siendo los aminoglucósidos los de mayor resistencia. La progresiva aparición de resistencias adquiridas hacia los betalactámicos ha limitado el uso empírico y su eficacia en determinadas situaciones. Aun así, la penicilina sigue siendo el tratamiento de elección en un buen número de infecciones clásicas (Marín & Gudiol, 2003).

Sin embargo, los investigadores Stropfová y Lauková (2004) reportan haber aislado en perros cepas de *Lactobacillus* sp. en donde la mitad (54.6 %) resultó resistente al antibiótico penicilina. En este mismo estudio las cepas de lactobacilos fueron resistentes a lincomicina el 40.4 %, novobiocina 34.0 %, eritromicina, 21.3 %, tetraciclina y vancomicina 6.4 %, siendo solamente sensibles a ampicilina y cloranfenicol el 100 % de las cepas.

La resistencia a antibióticos es un factor muy importante en la evaluación de bacterias ácido lácticas como cepas probióticas, ya que al ser microorganismos que se espera sean utilizados como cultivos iniciadores en alimentos, deben ser seguros en consumidores sanos y en individuos inmunodeficientes, por lo que se busca que se les otorgue la clasificación Generally Recognized As Safe (GRAS) por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos de Norteamérica (Serrano-Casas, Gaimé, & Pérez-Chabela, 2019).

Por su parte, la resistencia al grupo de los aminoglucósidos es cada vez mayor y muchas veces las pruebas de sensibilidad en especial la de los métodos automatizados no garantizan la actividad antimicrobiana de estos por la generación de discordancia en los resultados, lo que causa preocupación en cuanto a la actividad de los aminoglucósidos (Martínez & Máttar, 2012).

Los aminoglucósidos son antibióticos que han sido usados por más de 40 años. Son sustancias producidas por actinomicetos, todos son policationes y sus propiedades farmacocinéticas dependen de su polaridad. Su actividad antimicrobiana es favorecida en medios con pH alcalino. Se absorben rápidamente por vía intramuscular o subcutánea. Sólo atraviesan la barrera hematoencefálica si las meninges están inflamadas. En pacientes con falla renal pueden alcanzar niveles tóxicos en sangre. Los aminoglucósidos son bactericidas rápidos, inhiben la síntesis proteica bacteriana y alteran la integridad de la membrana citoplasmática. Los mecanismos de resistencia bacteriana a estos antimicrobianos están bien identificados. (Rodríguez-Álvarez, 2002; Palomino & Pachón, 2003).

La actividad antibacteriana de los antibióticos aminoglucósidos: gentamicina, tobramicina, kanamicina, amikacina y netilmicina, se orienta fundamentalmente contra bacilos gramnegativos aerobios, siendo los anaerobios resistentes, como las cepas analizadas en este estudio. Se ha reportado que son tres los principales mecanismos de resistencia a estos

antibióticos. a) inactivación enzimática de la molécula del aminoglucósido por interferencia en la captura ocasionando un efecto de impermeabilización de la membrana bacteriana), b) producción de enzimas que los inactivan como la acetiltransferasa, adeniltransferasa y fosfotransferasa y, c) cambios en los sitios de unión ribosomales en el citosol (Rodríguez-Álvarez, 2002).

Los investigadores Brizuela *et al.* (2001) evaluaron las propiedades probióticas de dos especies de bacterias lácticas *Lactobacillus* sp. Lb12 y *Lactobacillus acidophilus* B/103-1-5, y se encontró que ambos microorganismos lograron sobrevivir 24 h en presencia de antibióticos, con un crecimiento máximo a las 12 h. De los antibióticos evaluados, en los aminoglucósidos fue donde se presentó el mayor porcentaje de resistencia (25 %), mientras que con los betalactámicos solo uno indujo resistencia y cuatro (33 %) resultaron sensibles.

En cuanto a la enoxacina, perteneciente al grupo de las quinolonas es un antibiótico bactericida que inhibe la síntesis del ADN bacteriano el cual entra a la célula a través de porinas e interfiere con la acción de la ADN-girasa bacteriana formando complejos enzimáticos con la misma. Hasta el momento, la resistencia bacteriana descrita ha sido a través de mutaciones cromosómicas y no de plásmidos. Además, existe resistencia cruzada que generalmente es entre la misma clase (Maguiña & Solarizerpa, 2002).

Cada quinolona tiene un amplio espectro antibiótico y, como en la mayor parte de los tratamientos antibióticos, éstos deben seguir un análisis y diagnóstico precisos con la finalidad de evitar un tratamiento innecesario, considerando el incremento en las tasas de resistencia a los antibióticos, especialmente a las fluoroquinolonas y a las cefalosporinas. Las fluoroquinolonas muestran actividad *in vitro* contra un amplio rango de microorganismos gramnegativos y grampositivos (Carrillo-Alduenda, Flores-Murrieta, & Rodríguez-Alcocer, 2018).

Otro antibiótico al cual resultaron resistentes las bacterias evaluadas fue trimetoprim-sulfametoxazol. Las bacterias resistentes a este antibiótico promueven una disminución en la permeabilidad al compuesto o en ocasiones la resistencia es secundaria a una producción excesiva de ácido p-aminobenzoico o cambios mutacionales en la reductasa del dihidrofolato, lo que impide la unión del antibiótico con su sitio blanco. En las bacterias grampositivas los mecanismos de resistencia más importantes son el eflujo activo o las alteraciones enzimáticas que comprenden vías metabólicas alternativas e hiperproducción de enzimas, a través de mutaciones, plásmidos u otros elementos genéticos transmisibles (Vigliarolo, Gazzeli, Bonofiglio, Mollerach, & Horacio, 2018).

La resistencia a trimetoprima puede estar mediada por al menos cinco mecanismos: a) permeabilidad, b) presencia de una dihidrofolato-reductasa naturalmente insensible, c) mutaciones espontáneas en la dihidrofolato-

reductasa, d) producción aumentada de la enzima sensible por sobre-regulación o duplicación de los genes y e) adquisición horizontal de genes que codifican dihidrofolato-reductasa resistente. Solo unos pocos genes transmisibles se han identificado en bacterias grampositivas, dos de ellos, el *dfrG* y el *dfrF* fueron detectados en *Streptococcus pyogenes* (Vigliarolo *et al.*, 2018).

En cuanto a microorganismos probióticos, los trabajos de Ferreira *et al.* (2001) muestran el efecto de ocho antibióticos (cefaclor, clindamicina, azitromicina, cloranfenicol, vancomicina, amoxicilina, tetraciclina y gentamicina) en *Bifidobacterium bifidum* Bb12 y *Bifidobacterium longum* Bb46 y solamente se encontró resistente a gentamicina. Sin embargo, se encontró que la resistencia a antibacterianos en probióticas ha aumentado, ya que, de 12 antibióticos evaluados, 6 (50 %) resultaron ser resistentes en las bacterias evaluadas.

Por otra parte, es importante mencionar, que después de completar la terapia con antibióticos es necesario el consumo de probióticos con resistencia ya que, lo más probable, es que las bacterias benéficas de la flora intestinal se encuentren en menor concentración (Brizuela *et al.*, 2001). Para la prevención de la diarrea asociada a antibióticos, existen fuertes evidencias de eficacia en adultos o niños que están recibiendo antibióticos (Organización Mundial de Gastroenterología, 2017).

## Conclusión

Se evaluó la susceptibilidad a antibióticos de cepas de bacterias lácticas con actividad probiótica, aisladas de alimentos funcionales comercializados en México: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum*. Las cuatro cepas analizadas mostraron similar susceptibilidad a los antibióticos evaluados: fueron sensibles a penicilina, ampicilina, ceftriaxona y cefalotina (Betalactámicos), eritromicina (Macrólidos) y cloranfenicol (Anfenicoles) y resistentes a dicloxacilina (Betalactámicos), enoxacilina (Fluoroquinolona), netilmicina, gentamicina y amikacina (Aminoglucósidos) y trimetoprim-sulfametoxazol (Sulfonamidas). Los hallazgos del presente estudio ponen de manifiesto la importancia de valorar la susceptibilidad (sensibilidad y resistencia) de los probióticos a los antibióticos ya que, se consumen de forma intencionada con el propósito de mantener el equilibrio de la flora intestinal, lo que puede traer como consecuencia el aumento en la resistencia de las bacterias patógenas. Extrapolando estos datos a la terapia clínica, dichas alteraciones podrían complicar la evolución y recuperación de ciertas enfermedades.

## References:

1. Alós, J. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 33(10):692-699. DOI: 10.1016/j.eimc.2014.10.004
2. Álvarez, M. & García, J. (2002). Eritromicina. Descubrimiento, características y aplicaciones. *OFFARM*. 21(2):78-82. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13026500>
3. Álvarez-Hernández, D., Garza-Mayén, G. y Vázquez-López, R. (2015) Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. *Revista Chilena de Infectología*. 32(5):499-504. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v32n5/art02.pdf>
4. Brizuela, M., Serrano, P. & Pérez, Y. (2001). Studies on probiotics properties of two *Lactobacillus* strains. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 44(1):95-99. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/babt/v44n1/a13v44n1.pdf>
5. Calvo, J. & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 27(1):44-52. DOI:10.1016/j.eimc.2008.11.001
6. Castañeda, A., Aguilar, J., Zatan, A., Toledo, O., Feria, M. & Castillo, D. (2018). Identificación molecular de bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas aisladas del intestino posterior de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Journal of High Andean Research*. 20(4):429-438. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/ria/v20n4/a06v20n4.pdf>
7. Carrillo-Alduenda, J., Flores-Murrieta, F. & Rodríguez-Alcocer, A. (2018). Actualización en la prescripción de fluoroquinolonas. *Medicina Interna de México*. 34(1):89-105. DOI: <https://doi.org/10.24245/mim.v34i1.1429>
8. Cobos-Trigueros, N., Ateka, O., Pitart, C. & Vila, J. (2009). Macrólidos y cetólidos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 27(7):412-418. DOI:10.1016/j.eimc.2009.06.002
9. Courvalin, P. (2006). Antibiotic resistance: the pros and cons of probiotics. *Digestive and Liver Disease*. 38(2):S261-S265. [https://doi.org/10.1016/S1590-8658\(07\)60006-1](https://doi.org/10.1016/S1590-8658(07)60006-1)
10. Cueto, C. & Aragón, S. (2012). Evaluación del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas para reducir el colesterol in vitro. *Scientia Agropecuaria*. 1(2012):45-50. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5113786.pdf>
11. Cueto-Vigil, M., Acuña-Monsalve, Y. & Valenzuela-Riaño, J. (2010). Evaluación in vitro del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas aisladas de suero costeño. *Actualidades Biológicas*.

- 32(93):129-138. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/acbi/v32n93/v32n93a1.pdf>
12. Daza, R. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*. 22:57-67. Recuperado de <https://www.mscbs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
13. Ferreira, B., Marçal, S., Duarte, R. & Nicoli, J. (2001). Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Bifidobacterium bifidum* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46. *Revista de Biología e Ciências da Terra*. 1(2):1-11.
14. Gómez, J., García-Vázquez, E. & Hernández-Torres, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Revista Española de Quimioterapia*. 28(1):1-9. Recuperado de [https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq\\_0214-3429\\_28\\_1\\_gomez.pdf](https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_28_1_gomez.pdf)
15. Herrera, L., Muñoz, J. & Medina, H. (2002). *Escherichia coli* fecal resistente a antibióticos en niños sanos ¿Inducción por uso de antibióticos? *Revista de Investigación Clínica*. 54(2):108-112. Recuperado de [www.imbiomed.com.mx](http://www.imbiomed.com.mx)
16. Jurado, H., Aguirre, D. & Ramírez, C. (2009). Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos. *Revista MVZ Córdoba*. 14(2):1723-1735. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v14n2/v14n2a09.pdf>
17. Maguiña, V. & Solarizerpa, L. (2002). Nuevas y viejas quinolonas. *Revista Médica Herediana* 13(4):153-160. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v13n4/v13n4tr1.pdf>
18. Marín, M. & Gudiol, F. (2003). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 21(1):42-45.
19. Mariño, A., Núñez, M. & Barreto, J. (2016). Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Acta Médica de Cuba*. 17(1):01-21. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2016/acm161g.pdf>
20. Martínez, P. & Máttar, S. (2012). Resistencia a aminoglucósidos por los genes *aph(3')-VIa* y *aac(3)-II* en *Acinetobacter baumannii* aislados en Montería, Colombia. *Salud Uninorte. Barranquilla (Col.)*. 28(2):209-217. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v28n2/v28n2a04.pdf>
21. Morales, Y., Herrera, M. & Muñoz, J. (2007). Cloranfenicol, un antibiótico clásico como alternativa en el presente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 38(1):58-69. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/579/57938108.pdf>

22. Neethu, M., Craig, R. & Malik, A. (2014). Implications of antibiotic resistance in probiotics. *Journal Food Reviews International*. 31(1):52-62. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.961075>
23. Olveira, G. & González-Molero, I. (2016). Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica. *Endocrinol Nutr*. 63(9):482-494. <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.2016.07.006>
24. Organización Mundial de Gastroenterología. (2011). Probióticos y prebióticos. World Gastroenterology Organisation. Recuperado de <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-spanish-2011.pdf>
25. Organización Mundial de Gastroenterología. (2017). Probióticos y prebióticos. World Gastroenterology Organisation. Recuperado de <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf>
26. Oteo, J. (2016). La resistencia a los antibióticos, La amenaza de las superbacterias. CATARATA, Instituto de Salud Carlos III. Madrid. pp 129. Disponible en: <http://gesdoc.isciii.es/gesdoccontroller?action=download&id=22/01/2019-5fc7498ca3>
27. Palomino, J. & Pachón, J. (2003). Aminoglucósidos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 21(2):105-115. Recuperado de <https://www.elsevier.es/index.php?p=revista&pRevista=pdf-simple&pii=S0213005X03728936>
28. Rodríguez-Álvarez, M. (2002). Aminoglucósidos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 22(1):20-30. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2002/ei021d.pdf>
29. Rosenblatt, J. & Stewart, P. (1975). Anaerobic bag culture method. *Journal of Clinical Microbiology*. 1(6):527-530. Recuperado de <https://jcm.asm.org/content/jcm/1/6/527.full.pdf>
30. Sánchez, L., Omura, M., Lucas, A., Pérez, T., Llanes, M. & de Luce, C. (2015). Cepas de *Lactobacillus* spp. con capacidades probióticas aisladas del tracto intestinal de terneros neonatos. *Revista de Salud Animal*. 37(2):94-104. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v37n2/rsa04215.pdf>
31. Serrano-Casas, V., Gaime, I. & Pérez-Chabela, M. (2019). Evaluación de las características probióticas de bacterias ácido lácticas aisladas de ensilados de pulpa de café. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4(2019):133-141. Recuperado de <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/2/18.pdf>
32. Stropfová, V. & Lauková, A. (2004). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria from canine faeces. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 48:215-218. Recuperado de

- [https://www.researchgate.net/profile/Viola\\_Strompfova/publication/290087694\\_Antibiotic\\_resistance\\_of\\_lactic\\_acid\\_bacteria\\_from\\_canine\\_faeces/links/56a9d7eb08aeab4cef9925f/Antibiotic-resistance-of-lactic-acid-bacteria-from-canine-faeces.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Viola_Strompfova/publication/290087694_Antibiotic_resistance_of_lactic_acid_bacteria_from_canine_faeces/links/56a9d7eb08aeab4cef9925f/Antibiotic-resistance-of-lactic-acid-bacteria-from-canine-faeces.pdf)
33. Suárez, C. & Gudiol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 27(2):116-129. DOI: 10.1016/j.eimc.2008.12.001
  34. Tannock, G. (1999). Identification of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Current Issues in Molecular Biology*. 1(1):53-64.
  35. Vanegas, M., González, L & Arévalo, S. (2010). Capacidad bactericida de Bifidobacterium sp. aislada de leche materna y de heces de neonatos, frente a los principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. *Infectio*. 14(4):241-247. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14n4/v14n4a02.pdf>
  36. Vera-Mejía, R., Ormaza-Donoso, J., Muñoz-Cedeño, J., Arteaga-Chávez, F. & Sánchez-Miranda, L. (2018). Cepas de Lactobacillus plantarum con potencialidades probióticas aisladas de cerdos criollos. *Revista de Salud Animal*. 40(2):1-12. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v40n2/2224-4700-rsa-40-02-e04.pdf>
  37. Vigliarolo, L., Gazzeli, L., Bonofiglio, L., Mollerach, M. & Lopardo, H. (2018). Sensibilidad a trimetoprima-sulfametoxazol de Streptococcus pyogenes aislados de infecciones invasivas. *Medicina*. 78(5)311-314. Recuperado de <https://www.medicinabuenaosaires.com/revistas/vol78-18/n5/311-314-Med6841-Vigliarolo.pdf>
  38. Vollmer, W., Blanot, D. & de Pedro, M. (2008). Peptidoglycan structure and architecture.
  39. FEMS Microbiology Reviews. 32(2008):149-167. DOI:10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x