

CZU: 579.864

DOI: 10.46727/c.v1.16-17-05-2024.p170-174

ACTIVITATEA ANTIBACTERIANĂ A UNOR TULPINI DE BACTERII LACTICE

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME LACTIC ACID BACTERIA STRAINS

Bogdan-Golubi Nina, dr., UTM

Balan Ludmila, dr., UTM

Slanina Valerina, UTM

Bogdan-Golubi Nina, PhD, Technical University of Moldova

ORCID: 0000-0003-2199-4414

E-mail: nina.bogdan@imb.utm.md

Balan Ludmila, PhD, Technical University of Moldova

ORCID: 0000-0002-8319-6808

Slanina Valerina, Technical University of Moldova

ORCID: 0000-0002-9833-7933

Rezumat. *Au fost studiate proprietățile antibacteriene la patru tulpini autohtone de bacterii lactice împotriva test-culturilor *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Corynebacterium michiganens*, *Erwinia carotovora* și *Xanthomonas campestris*. S-a constatat că toate tulpinile au activitate antibacteriană împotriva microorganismelor Gram-pozitive și Gram-negative. *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis* CNMN-LB-14 posedă un spectru larg de acțiune antibacteriană împotriva tuturor test-culturilor datorită prezenței compusului aromatic – diacetil. Pe baza acestor rezultate se poate concluziona că proprietățile inhibitoare ale bacteriilor lactice permit utilizarea lor în industria alimentară și în agricultură.*

Cuvinte-cheie: bacterii lactice, colecție, test-culturi, proprietăți antibacteriene.

Abstract. *Were studied antibacterial properties of four autochthonous lactic acid bacteria strains against bacterial test-organisms *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Corynebacterium michiganens*, *Erwinia carotovora* and *Xanthomonas campestris*. All strains were found to have antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative microorganisms. *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis* CNMN-LB-14 possess a broad spectrum of antibacterial action against all test-organisms due to the participation of aromatic compound – diacetyl. Based on these results, it can be concluded that the inhibitory properties of the lactic acid bacteria allow their use not only for food industry, but also for agriculture.*

Keywords: *lactic acid bacteria, collection, test-organisms, antibacterial properties.*

Introducere

Bacteriile lactice sunt unul dintre cele mai importante grupuri de bacterii din industria alimentară, având statutul GRAS (Generally Recognised As Safe) și fiind utilizate în biotehnologii alimentare pentru obținerea diferitor produse de calitate și siguranță garantată. În procesul de fabricare și depozitare a produselor alimentare și furajelor, pot apărea microorganisme (bacterii, drojdii și mușci) care provoacă alterarea, respectiv devenind agenți potențial periculoși [4]. De aceea, diminuarea contaminării cauzate de microorganismele patogene are importanță primordială.

Bacteriile lactice sunt capabile să inhibe creșterea microorganismelor patogene și condiționat patogene datorită biosintezei diferitor compuși cu activitate antimicrobiană, dintre care sunt bacteriocinele, diacetil, acizii organici (lactic, acetic, propionic, formic, succinic) etc. Bacteriocina

produsă de tulpina *Lactococcus lactis* denotă o activitate antimicrobiană sporită față de tulpini patogene procariote și eucariote: *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus xylosus*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecium* [12].

Bacteriocina tulpinei *Streptococcus thermophilus* are spectru inhibitor larg împotriva *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria innocua*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* și este stabilă la diferite valori pH [10].

Multe bacteriocine produse de acest grup de bacterii s-au dovedit a fi conservanți foarte buni pentru produsele din carne, fructe de mare, produse lactate, cereale, legume, fructe fermentate [5]. Au fost efectuate cercetări privind utilizarea bacteriocinelor împotriva *Listeria monocytogenes* în brânzeturi. Acest agent patogen creează dificultăți la fabricarea brânzeturilor din lapte crud și contaminează brânzeturile din lapte pasteurizat [11].

Utilizarea bacteriocinelor în combinație cu cojile comestibile este considerată o abordare foarte promițătoare în ceea ce privește calitatea și siguranța microbiologică în timpul depozitării post-recoltare a fructelor și legumelor crude sau minimum procesate [1].

Valorificarea compușilor naturali poate preveni contaminarea materiilor prime, a produselor alimentare și poate diminua pierderile economice [6]. De exemplu, *Bacillus subtilis*, care provine din materiile prime, spațiul de producere și suprafețele echipamentelor, provoacă alterarea pâinii. În timpul coacerii, sunt distruse doar formele vegetative, în timp ce sporii bacterieni și fungici rezistă [2, 3].

Prin urmare, componentele antimicrobiene sintetizate de bacteriile lactice sunt bioconservanți siguri foarte solicitați în industria alimentară și agricultură.

Dezvoltarea microbiologiei și biotehnologiei agricole au extins semnificativ și au îmbunătățit direcțiile de implementare a acestor microorganisme. Cercetătorii Limanska ș.a. au menționat aplicarea bacteriilor lactice pentru creșterea recoltei plantelor agricole, la fel și pentru protecția lor față de fitopatogenii *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium tumefaciens* [8].

Un rol important îl au bacteriile lactice și în conservarea furajelor. Hrana de calitate înaltă este baza sănătății animalelor de fermă, în consecință crește producția animalieră [14].

Astfel, scopul cercetărilor a constat în determinarea proprietăților antibacteriene a unor bacterii lactice depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene (CNMN).

Materiale și metode

În calitate de obiect al cercetărilor au servit tulpinile de bacterii *Lactococcus lactis* CNMN-LB-06, *Lactococcus lactis* CNMN-LB-09, *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis* CNMN-LB-14, *Streptococcus thermophilus* CNMN-LB-16, depozitate în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene. Activitatea antagonistă a fost studiată prin metoda striurilor perpendiculare și metoda de difuzie în agar [13, 15]. În calitate de culturi de referință au fost utilizate *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Corynebacterium michiganens*, *Xanthomonas campestris* din dotarea Colecției.

Rezultate și discuții

Rezultatele cercetărilor privind proprietățile antibacteriene ale tulpinilor autohtone de bacterii lactice sunt prezentate în Tabelul 1.

Datele din tabel demonstrează că *Streptococcus thermophilus* CNMN-LB-16 are activitate antagonistă față de trei test-culturi cu diametrul zonei de inhibiție de la 13,3±0,7 mm (*Erwinia*

carotovora) până la $15,0 \pm 1,1$ mm (*Corynebacterium michiganens*), dar nu s-a dovedit a fi activă asupra *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* și *Xanthomonas campestris*. Spre deosebire de *Streptococcus thermophilus* CNMN-LB-16, tulpinile *Lactococcus lactis* CNMN-LB-09 și *Lactococcus lactis* CNMN-LB-06 posedă o activitate antibacteriană față de cinci test-culturi din șase. Cea mai sporită activitate antagonistă a fost stabilită la tulpina *Lactococcus lactis* CNMN-LB-06 asupra *Pseudomonas fluorescens* cu diametrul zonei de inhibiție $16,0 \pm 1,1$ mm. Tulpina *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis* CNMN-LB-14 a demonstrat un spectru larg de efect inhibitor asupra diferitor tipuri de bacterii, diametrul zonei de inhibiție a fost de la $12,3 \pm 0,7$ mm (*Agrobacterium tumefaciens*) până la $15,3 \pm 0,7$ mm (*Pseudomonas fluorescens*). Rezultatele obținute confirmă valoarea tulpinilor autohtone de bacterii lactice care sunt mai active comparativ cu tulpinile descrise de alți autori. De exemplu, Mezaini ș.a. au prezentat rezultatele privind tulpinile de bacterii lactice cu activitate antimicrobiană doar față de bacterii Gram-pozitive [10].

Tabelul 1. Activitatea antibacteriană a unor tulpini de bacterii lactice

| Denumirea tulpinilor | <i>Lactococcus lactis</i> CNMN-LB-06 | <i>Lactococcus lactis</i> CNMN-LB-09 | <i>Lactococcus lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> CNMN-LB-14 | <i>Streptococcus thermophilus</i> CNMN-LB-16 |
|------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|--|
| | Zona de inhibiție, mm | | | |
| <i>Bacillus subtilis</i> | $12,0 \pm 0,0$ | 0 | $14,3 \pm 0,7$ | 0 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | $16,0 \pm 1,1$ | $14,0 \pm 1,1$ | $15,3 \pm 0,7$ | 0 |
| <i>Erwinia carotovora</i> | $12,3 \pm 0,7$ | $14,7 \pm 0,7$ | $14,3 \pm 0,7$ | $13,3 \pm 0,7$ |
| <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | $15,7 \pm 0,7$ | $14,0 \pm 1,1$ | $12,3 \pm 0,7$ | $13,3 \pm 1,3$ |
| <i>Corynebacterium michiganens</i> | $14,0 \pm 1,1$ | $14,0 \pm 1,1$ | $14,7 \pm 1,3$ | $15,0 \pm 1,1$ |
| <i>Xanthomonas campestris</i> | 0 | $13,3 \pm 0,7$ | $13,7 \pm 0,7$ | 0 |

Diametrul zonelor de inhibiție variază între 12,0-14,3 mm față de *B. subtilis*, între 14,0-16,0 mm față de *P. fluorescens*, între 12,3-14,7 mm față de *E. carotovora*, între 12,3-15,7 mm față de *A. tumefaciens*, între 14,0-15,0 mm față de *C. michiganens*, între 13,3-13,7 mm față de *X. campestris*, ce permite inhibarea dezvoltării microorganismelor dăunătoare.

În publicațiile de specialitate sunt prezentate rezultatele activității antimicrobiene ale tulpinilor *Lactobacillus rhamnosus* MDC 9661, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, B7 *Lactobacillus* spp., *Streptococcus thermophilus* VKPM B-3809 împotriva *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* și *Bacillus mesentericus*. Tulpinile dau dovadă de o activitate antagonistă asupra bacteriilor patogene cu diametrul zonei de inhibiție de la 10 mm până la 18 mm. Față de *Bacillus subtilis* doar două tulpini au efect inhibitor cu 11 mm respectiv. Cultivarea simultană a tulpinilor de bacterii lactice poate stimula producerea substanțelor antibacteriene cu activitate sporită, la fel și stimulatori de creștere a plantelor [7, 9].

Autorii Cablova ș.a. au evidențiat că microflora epifită a plantelor include diverși reprezentanți ai fungilor, drojdiilor, din bacterii pot fi identificate *Erwinia herbicola*, *Bacillus subtilis* și *Pseudomonas fluorescens*. Numărul acestor microorganisme pe suprafața frunzelor de porumb, ovăz,

lucernă poate varia între $1,5 \times 10^3$ și 9×10^6 UFC/g. Metoda cea mai avantajoasă economic de conservare a hranei pentru animale este silozarea, datorită efectului conservant al acidului lactic. Cu acest scop sunt utilizate tulpini de *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *Streptococcus lactis* subsp. *diastaticus*, *Streptococcus faecium*, care, la fel, au rol de probiotici cu efect inhibitor împotriva microflorei nedorite în sistemul digestiv al animalelor [14].

Concluzii

În urma rezultatelor obținute putem concluziona că tulpinile de bacterii lactice autohtone păstrate în cadrul CNMN posedă proprietăți antibacteriene împotriva bacteriilor Gram-pozitive și Gram-negative.

Bacteriile lactice au o gamă largă de aplicare: pot fi utilizate cu succes în biotehnologii alimentare și agricultură. Cercetările ulterioare se recomandă a fi axate pe diverse implementări ale tulpinilor autohtone, inclusiv pe izolarea și selectarea tulpinilor noi de bacterii lactice.

Rezultatele au fost obținute în cadrul subprogramului 020101 InBioS – Soluții biotehnologice inovative pentru agricultură, medicină și protecția mediului.

Bibliografie:

1. AGRIOPOULOU, S., STAMATELOPOULOU, E., SACHADYN-KRÓL, M., VARZAKAS, T. Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: quality and safety aspects. *Microorganisms*. 2020, 8(6):952. ISSN 2076-2607. doi: 10.3390/microorganisms8060952.
2. CIZEIKIENE, D., JUODEIKIENE, G., PASKEVICIUS, A., BARTKIENE, E. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. *Food Control*. 2013, 31:539-545. ISSN 0956-7135. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.12.004.
3. COLLINS, N.E., ANN, L., KIRSCHNER, M., von HOLY, A. Characterization of *Bacillus* isolates from ropey bread, bakery equipment and raw materials. *South African Journal of Science*. 1991, 87:62-66. ISSN 0038-2353.
4. De MUYNCK, C., LEROY, A.I., De MAESENEIRE, S., ARNAUT, F., SOETAERT, W., VANDAMME, E.J. Potential of selected lactic acid bacteria to produce food compatible antifungal metabolites. *Microbiological Research Journal*. 2004, 159(4), p. 339-346. ISSN 0944-5013. doi: 10.1016/j.micres.2004.07.002.
5. EL-GHAISH, Sh. A.A., HADJI-SFAXI, I., EL MECHERFI, K., BAZUKYAN, I., CHOISSET, Y., RABESONA, H., SITOHY, M., POPOV, Y.G., KULIEV, A.A., MOZZI, F., CHOBERT, J., HAERTLÉ, T. Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends in Food Science & Technology*. 2011, 20:1-8. ISSN 0924-2244.
6. GALVEZ, A., LOPEZ, RL., ABRIQUEL, H., VALDIVIA, E., OMAR, N.B. Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2008, 28(2):125-52. ISSN 0738-855. doi: 10.1080/07388550802107202.
7. JAFFAR, N.S., JAWAN, R., CHONG, K.P. The potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production - a mini review. *Frontiers in Plant Science*. 2023, 13:1047945. ISSN 1664-462X. doi: 10.3389/fpls.2022.1047945
8. LIMANSKA, N., KOROTAEVA, N., BISCOLA, V., IVANYTSIA, T., MERLICH, A., FRANCO, B.D.G.M., CHOBERT, J.M.; IVANYTSIA, V., HAERTLÉ, T. Study of the Potential application of lactic acid bacteria in the control of infection caused by *Agrobacterium tumefaciens*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*. 2015, 6:292. ISSN 2157-7471. doi:10.4172/2157-7471.1000292.

9. MATEVOSYAN, L., BAZUKYAN, I., TRCHOUNIAN, A. Antifungal and antibacterial effects of newly created lactic acid bacteria associations depending on cultivation media and duration of cultivation. *BMC Microbiology*. 2019, 19(102). ISSN 1471-2180. doi: 10.1186/s12866-019-1475-x.
10. MEZAINI, A., CHIHIB, N.E., BOURAS, A.D., NEDJAR-ARROUME, N., HORNEZ, J.P. Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. *Journal of Environmental and Public Health*. 2009, 2009:678495. ISSN 2356-6752. doi: 10.1155/2009/678495.
11. SILVA, C.C.G., SILVA, S.P.M., RIBEIRO, S.C. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in Microbiology*. 2018, 9:594. ISSN 1664-302X. doi: 10.3389/fmicb.2018.00594.
12. SÎRBU, I., VASSU, T., STOICA, I., CHIFIRIUC, C., BUCUR, M., RUSU, E.E., IONESCU, R., PELINESCU, D. Analysis on the antimicrobial activity of some lactic acid bacteria strains. *Romanian Journal of Infectious Diseases*. 2015, 18(2), p. 53-57. ISSN 1454-3389.
13. БИРГЕР, М. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Москва: Медицина, 1982. 461 с.
14. КАБЛОВА, М.А., ШУРХНО, Р.А., СИРОТКИН, А.С. Молочнокислые бактерии в сельскохозяйственном производстве. В: *Вестник технологического ун-та*. 2015, Т. 18, № 23, с. 145-150.
15. *Практикум по микробиологии: учеб. пособие для вузов*. Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005, 603 с.