

EFFECTO DEL ACIDO LACTICO SOBRE EL *M. TUBERCULOSIS* VAR. BOVIS Y SU RELACION CON LA ACIDEZ LACTICA DEL QUESO CHANCO *

por

MARTA RIVAS R., GABRIELA GAZMURI P. y VICTOR BARRIA P.

En el trabajo sobre presencia del *M. tuberculosis* var. bovis en el queso Chanco (1), se dió como una de las posibles causas de la no viabilidad del bacilo en este tipo de queso, la acción perjudicial del ácido láctico sobre el germen. En efecto, varios autores (2, 3) afirman que el ácido láctico destruye al bacilo. Convencidos de la importancia que, desde el punto de vista de la Salud Pública, tiene este tema, nos abocamos a su estudio.

Al comienzo de estas experiencias, el único dato preciso sobre cantidad de ácido láctico en el queso Chanco era su concentración final (4): 0,63%. Por datos bibliográficos (5), se llegó al conocimiento que la acidez láctica va aumentando paulatinamente desde el comienzo y durante la maduración del queso hasta llegar a un máximo (acción fermentativa de múltiples gérmenes), para empezar a decrecer una vez terminada la maduración, hasta llegar a la escasa cifra de 0,63%.

Basados en estos datos, se empezó a trabajar con concentraciones arbitrarias de ácido láctico, esperando la oportunidad de poder determinar las variaciones de la acidez láctica en el queso mismo durante su elaboración. Una vez obtenido el material, se pudo determinar la acidez en determinados días de maduración y realizar una experiencia final en que se aplicó las cifras obtenidas al método de laboratorio empleado.

MATERIAL Y METODOS

A) Acción del ácido láctico sobre el *M. tuberculosis* var. bovis:

Se probó la acción del ácido láctico in vitro sobre 20 cepas de *M. tuberculosis* obtenidas en el Matadero Municipal de Santiago. Para el objeto se trató el material según el método de Petroff y se sembró en medio de Petragnani a la cera.

* Recibido para su publicación el 5 de Mayo de 1956.

Una vez aislada cada cepa, se mantuvo en contacto con las siguientes diluciones de ácido láctico: 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% y 0,1% durante uno, dos, cuatro y seis días cada dilución. Cada emulsión contenía 0,1 mgr. de bacilos por ml. De cada emulsión se ponía 0,5 ml. en cada uno de 6 tubos, completando 5 ml. con suero fisiológico y ácido láctico estériles, en proporción conveniente para obtener las diluciones ya anotadas. Al día siguiente, a los dos, cuatro y seis días de contacto, se tomó 1 ml. de cada una de estas diluciones, se neutralizó con soda y se sembró en cuatro tubos de Petraghani a la cera (0,25 ml. por tubo, de modo que cada tubo de medio contenía aproximadamente 100.000 bacilos). Las diluciones se mantuvieron a temperatura ambiente y al abrigo de la luz antes de la siembra.

B) *Determinación de la acidez láctica del queso Chanco:*

Se trabajó en dos quesos que habían sido elaborados hacía dos días y se tomaron muestras cada dos días hasta completar 24. La determinación se hizo en verano, época en que los quesos están listos para el consumo en un lapso de 24 días. Después de tomada cada muestra de 10 gramos, la perforación producida en el queso se revestía con parafina sólida, para evitar en lo posible la areación excesiva y la exposición a microorganismos del ambiente. Con el mismo objeto, cada muestra se tomaba lo más alejada posible de las anteriores y con perforador flameado.

La acidez láctica se determinó por neutralización con soda, usando fenoltaleína como indicador. La cantidad de soda gastada se multiplicó por el factor 0,009 para obtener la acidez láctica en 100 gramos (6).

Para corroborar los resultados obtenidos en los dos quesos, se tomaron al azar, muestras de otros 30 quesos a los 16, 17, 18, 19 y 22 días de maduración y se determinó en la misma forma su acidez láctica.

RESULTADOS

El efecto del ácido láctico sobre el *M. tuberculosis* var. *bovis* se expresa en el cuadro N° 1.

Los resultados resumidos en el cuadro N° 1 serán analizados en la discusión.

Del examen periódico de dos quesos, desde su elaboración, se llegó a obtener las dos curvas de acidez láctica expresadas en la figura N° 1.

Era de interés obtener el resultado de la acidez láctica en un mayor número de muestras a partir del 16º día, en que la cifra de acidez láctica de los dos quesos analizados se acercaba sensiblemente al 2%. Como hemos visto en el cuadro N° 1, el contacto con ácido láctico al

CUADRO Nº 1

ACCION DEL ACIDO LACTICO SOBRE EL M. TUBERCULOSIS VAR. BOVIS AL
1º, 2º, 4º Y 6º DIA DE CONTACTO

Muestra Nº	Diluciones de ácido láctico					
	0.1%	0.5%	1%	2%	5%	10%
	1 2 4 6	1 2 4 6	1 2 4 6	1 2 4 6	1 2 4 6	1 2 4 6
1	AAAA	AAAR	AARE	RRNN	RENN	RNNN
2	AAAA	AAAA	ARRE	ARNN	RENN	RNNN
3	RRRR	RRRR	RRRE	RNNN	RNNN	ENNN
4	AAAA	AAAA	AARE	RENN	RNNN	ENNN
5	AAAA	AAAR	AARR	REEE	RENN	ENNN
6	AAAA	AAAA	AARE	AEEN	RENN	RENN
7	AAAA	AAAA	AARE	REEN	ENNN	ENNN
8	AAAA	AAAA	AARE	REEN	RENN	RNNN
9	AAAA	AAAR	RREE	RENN	EENN	ENNN
10	AAAA	AAAA	AARE	REEN	RENN	ENNN
11	AAAA	AAAA	ARRE	REEN	RENN	RNNN
12	AAAA	AAAA	AARE	AREE	RENN	RNNN
13	AAAA	AAAA	ARRE	AREN	RENN	RNNN
14	AAAA	AAAA	AARE	RENN	RNNN	RNNN
15	AAAA	AAAR	AREE	AREN	RENN	RNNN
16	AAAA	AAAA	AARE	AARN	AENN	RNNN
17	AAAA	AAAA	AARE	AREN	RENN	RNNN
18	AAAA	AAAA	AARE	RRNN	RENN	ENNN
19	AAAA	AAAA	ARRE	RENN	RENN	ENNN
20	AAAA	AAAA	AARE	RREN	RNNN	RNNN

A : más de 50 colonias en el total de tubos sembrados.

R : 20 a 50 colonias.

E : 1 a 20 colonias.

N : ausencia de colonias.

2% durante 6 días tuvo un efecto indiscutible sobre el M. tuberculosis. Los exámenes realizados en 30 muestras diferentes a los 16, 17, 18, 19 y 22 días dieron los siguientes resultados:

CUADRO Nº 2

RESULTADO DEL EXAMEN DE LA ACIDEZ LACTICA DE 30 MUESTRAS DE
QUESO CHANCO A LOS 16, 17, 18, 19 Y 22 DIAS DE ELABORACION

Días de elaboración	Gramos por ciento de ácido láctico						Número de muestras
16	1.7	1.7	1.6	1.5	1.5	1.3	6
17	1.7	1.7	1.7	1.6	1.6	1.4	6
18	1.9	1.8	1.8	1.65			4
19	2	2	1.9	1.9	1.9	1.8	8
22	2.4	2.3	2.25	2.2	2	2	6

ACIDEZ LÁCTICA DE LOS QUESOS 1 Y 2 HASTA LOS 24 DÍAS DE MADURACIÓN

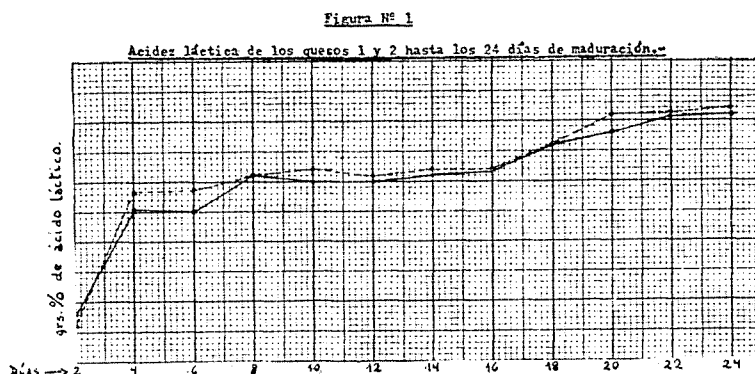


Figura N° 1

Los datos anotados en la figura N° 1 y el cuadro N° 2 fueron el punto de partida para una experiencia final. Los resultados obtenidos entre los 17 y 24 días dieron un promedio aproximado de 1,8 el que permite suponer que durante 8 días por lo menos, hay en el queso Chanco una acidez láctica cercana a 1,8 grs. por ciento. Por este motivo, otras 10 cepas de *M. tuberculosis* fueron sometidas durante 8 días a la acción del ácido láctico al 1,8%.

Las técnicas seguidas para aislar las 10 cepas, ponerlas en contacto con ácido láctico y su siembra después de 8 días, fueron las mismas que se emplearon para las 20 primeras cepas.

DISCUSIÓN

En el cuadro N° 1, resultado de la acción del ácido láctico sobre el *M. tuberculosis*, prueba realizada antes de la determinación de la acidez láctica del queso Chanco, podemos ver que el bacilo resiste a la acción del ácido láctico, mantenido bajo su efecto durante 24 horas, aún a la concentración de 10%.

CUADRO N° 3

EFFECTO DEL ACIDO LACTICO AL 1.8% DURANTE 8 DIAS SOBRE DIEZ CEPAS
DE *M. TUBERCULOSIS VAR. BOVIS*

Cepa N°	Lectura de las siembras	
	30 días	60 días
21	—	—
22	—	—
23	—	—
24	—	—
25	—	—
26	—	—
27	—	—
28	—	—
29	—	—
30	—	—

A las 48 horas, en cambio, ya empieza a notarse el efecto nocivo del ácido sobre el germen a la dilución de 2%, ya que varias cepas dieron sólo escaso desarrollo; este efecto es francamente notorio con las diluciones de 5 y 10%.

A los 4 días de contacto, la concentración de 1% demuestra ya alguna acción, que se va acentuando en las concentraciones más altas hasta ser de tal modo efectiva en las concentraciones de 5 y 10% que no permite ningún desarrollo.

A los 6 días, la concentración de 1% sólo permite el desarrollo de escasas colonias en 19 de las 20 cepas probadas. Al 2%, con este tiempo de contacto, no hubo desarrollo en 18 de las 20 cepas. Sólo dos dieron colonias aisladas.

Las concentraciones 0,1 y 0,5% no demostraron tener acción sobre el *M. tuberculosis* ni aún a los 6 días de contacto.

De la observación de la figura 1 y del cuadro 2 podemos notar que a excepción de dos muestras, las 18 restantes examinadas entre el 18 y el 24º día, dieron cifras de acidez láctica iguales o superiores a 1,8%.

Debemos hacer notar que en los dos quesos cuya acidez láctica se determinó cada dos días hasta el 24º día, las cifras tendían a seguir elevándose (fig. 1). Detuvimos las observaciones en el día señalado (24º) porque fué indicado por el técnico como término de la maduración y por lo tanto, susceptible de ser vendido y entregado al consumo a partir de ese día.

En el cuadro N° 3 se puede observar la acción efectiva del ácido láctico al 1,8% sobre el *M. tuberculosis* a los 8 días de contacto.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten afirmar que el bacilo muere en el queso Chanco durante la maduración, en gran parte debido a la acidez láctica, ya que ésta alcanza una concentración conveniente durante varios días; sin duda, a este efecto se suma la acción conjunta de la variada flora microbiana del queso Chanco (7) cuyos procesos metabólicos impiden la vida del bacilo.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. A las concentraciones de 0.1 y 0.5% el ácido láctico no tiene acción sobre el *M. tuberculosis* después de 6 días de contacto.

2. Al 1%, el ácido láctico tiene algún efecto perjudicial sobre el bacilo después de 4 días de contacto; se acentúa esta acción, sin llegar a ser absoluta, a los 6 días de contacto.

3. El ácido láctico al 2% tiene una acción nociva manifiesta sobre el *M. tuberculosis* a los 4 días de contacto; a los 6 días esta acción es casi absoluta.

4. El ácido láctico al 5 y 10% mata al bacilo a los dos días de estar sometido a su acción.

5. La acidez láctica del queso Chanco alcanza un promedio de 1.8 gramos por ciento a partir del 18º día de maduración, manteniéndose por encima de este promedio alrededor de 8 días.

6. El ácido láctico al 1.8% mantenido en contacto con el *M. tuberculosis* durante 8 días, tiene un efecto bactericida absoluto.

7. La acidez láctica de más de 1.8% alcanzada en el queso Chanco durante el proceso de maduración y que se mantiene por más de 8 días, destruye al *M. tuberculosis*.

SUMMARY

Lactic acid has no action on *M. tuberculosis* after six days of contact, in concentrations of 0.1 and 0.5%.

At 1% lactic acid has some noxious effect on the germ after four days of contact; this action is increased, without becoming absolute, in six days of contact.

Lactic acid of 2% has a manifest noxious effect on *M. tuberculosis* in four days of contact; in six days, this action is nearly absolute.

Lactic acid at 5 and 10% kills the bacillus in two days of exposure.

The lactic acidity of "Chanco" cheese reaches an average of 1.8 per cent around the eighth day of ripening.

Lactic acid at 1.8% maintained in contact with *M. tuberculosis* during eight days has an absolute bactericidal effect.

Lactic acidity higher than 1.8 gm. per cent reached in "Chanco" cheese during the process of ripening and which persists more than eight days, kills *M. tuberculosis*.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—RIVAS, M. y BARRIA, V. — Investigación del *M. tuberculosis* en el queso Chanco. Bol. Inst. Inv. Vet., 1951, **1**(5): 1-11.
- 2.—MANNINGER, R. — Enfermedades infecciosas. 8ª ed. Edit. Labor. Buenos Aires, 1947, 436.
- 3.—VOICULESCU, TH. — Action de l'acide lactique sur les bacilles acido résistants. Comptes Rend. Soc. Biol., 1939, **131**: 435.
- 4.—PEÑAFIEL, R. y GARCIA, R. — Análisis físico y químico de los quesos "Chanco" y "Holandés". Tesis Esc. Agronomía. Universidad de Chile, 1947.
- 5.—ALVAREZ, M. y RAZMILIC, R. — Algunos aspectos bacteriológicos del queso Chanco. Tesis Esc. Med. Veterinaria. Universidad de Chile, 1947.
- 6.—SCHMIDT-HEBBEL, H. — Tratado de Bromatología. Edit. Nascimento. Santiago de Chile, 1942, 184.
- 7.—HAMMER, B. — Dairy Bacteriology. 2ª Edit. 1938.