



Nacameh

Vocablo náhuatl para “carnes”

Volumen 1, Número 1, Junio 2007

Difusión vía Red de Computo semestral sobre Avances en Ciencia y Tecnología de la Carne

Derechos Reservados[©] MMVII

ISSN: 2007-0373

<http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>



http://www.geocities.com/nacameh_carnes/index.html

ISSN DIFUSIÓN PERIODICA VIA RED DE CÓMPUTO: 2007-0373

NACAMEH, Vol. 1, No. 1, pp. 41-52, 2007

Aplicación de bacteriocinas en el control de contaminación de la carne

Raquel Schneider

*Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805
(3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina. E-mail: raqueloides@hotmail.com.*

Introducción

El manejo inadecuado de productos alimenticios puede traer consigo serias consecuencias para la salud del consumidor y representar además importantes pérdidas económicas. La deficiencia en métodos de conservación apropiados y fallas en la cadena de frío sumadas a las altas temperaturas registradas en países de clima tropical favorecen la proliferación de microorganismos patógenos y alterantes en tiempos muy cortos. La situación se agrava al considerar la falta de conocimiento de normas mínimas de higiene y seguridad alimentaria de los manipuladores.

Si bien los factores mencionados anteriormente son de importancia fundamental en la contaminación de los alimentos, los hábitos alimenticios de los consumidores juegan también un rol primordial. En México, un alto porcentaje de la población adquiere los alimentos que consume a diario en puestos callejeros de venta al paso que no cuentan con las condiciones mínimas de higiene y seguridad requeridas para la manipulación de estos productos.

En el caso de alimentos de origen cárnicos se debe considerar además otro importante factor de riesgo que es la contaminación al momento de la faena. La falta de cuidado y de normas higiénicas en la manipulación de las canales fundamentalmente durante el eviscerado, representan un peligro potencial de contaminación con microorganismos provenientes del tracto digestivo (Schoebitz y col., 1990; Biss y Hathaway, 1996).

Contaminación De La Carne

El desarrollo de los microorganismos en los alimentos va a depender de diversos factores, donde algunos son propios del alimento, como la composición en nutrientes, la cantidad de agua disponible (a_w), el pH, el potencial de oxido reducción (E_h), y otros se relacionan con el ambiente en el cual se encuentra el alimento, como la temperatura y humedad de almacenamiento y los requerimientos de O_2 y/o CO_2 .

La susceptibilidad de los alimentos a la contaminación y proliferación microbiana va a depender de su composición fisicoquímica y de los procesos de elaboración y/o conservación a los que haya sido sometido. La composición química de la carne fresca la convierte en un excelente sustrato para el desarrollo de los microorganismos. Aunque se ha sugerido la existencia de una flora microbiana intrínseca en el tejido muscular del animal vivo, la mayoría de las investigaciones coinciden en que el interior del músculo de los animales sanos, sacrificados en condiciones higiénicas es estéril. Los microorganismos presentes en la carne recién obtenida proceden fundamentalmente de las heces, piel y vísceras del animal. Los utensilios empleados en la manipulación de la carne y los propios manipuladores son los que mayormente provocan esta contaminación. También puede ser una fuente importante de contaminación el agua de lavado de canal, si no está sanitizada (Lawrie, 1985). La carne se considera alterada cuando los cambios organolépticos la hagan inaceptable para el consumidor. Las características organolépticas alteradas pueden incluir: cambios en la apariencia, como pérdida de color, desarrollo de olores extraños, formación de mucosidad en la superficie y cambios en el sabor (Ellis y col., 2002).

Si bien la actividad de las enzimas endógenas durante el post-mortem puede contribuir con los cambios generados durante el almacenamiento, las alteraciones organolépticas detectables son, mayormente, el resultado de la descomposición y formación de metabolitos causados por la proliferación microbiana. Los principales organismos alterantes pertenecen a los siguientes géneros: *Pseudomonas*, *Moraxella spp.*, *Psychrobacter spp.*, *Acinetobacter spp.*, algunas bacterias acidolácticas y *Brochotrix Termosphacta* (Huis in't Veld, 1996; Tu y Mustapha, 2002).

Además de flora alterante podemos encontrar también contaminación por flora patógena. La presencia y desarrollo de estos microorganismos no ocasionan alteración de caracteres organolépticos pero representa un gran riesgo para la salud. Los patógenos reportados más frecuentemente como contaminantes en carnes son *Listeria monocytogenes*, *E.coli* O157: H7, *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium Perfringens*, y *Staphilococcus aureus* (Schillinger y col., 1991; Tu y Mustapha, 2002).

Las bacterias lácticas: Su Importancia en la preservación de alimentos.

Las técnicas de conservación natural de los alimentos basados en procesos fermentativos con bacterias acidolácticas (BAL) fueron empleadas ancestralmente por el hombre. Sin embargo recién a inicios del siglo XX, con los avances en los estudios de la microbiología, se conoció el papel fundamental que algunos microorganismos cumplían en procesos tecnológicos y de conservación. El uso de cultivos iniciadores en productos cárnicos crudos es relativamente reciente. En la década del 60 surgieron los primeros iniciadores disponibles comercialmente para la preparación de embutidos secos. No obstante existen antecedentes del empleo de microorganismos para la elaboración de este tipo de productos desde los años 20s (Lücke y Hechelmann, 1988).

Los cultivos de BAL actúan como conservadores efectivos contra la proliferación de patógenos alimentarios y otros microorganismos indeseables. Aunque la producción de ácido es el mecanismo primario de inhibición (Daeschel, 1989), se ha demostrado que esta inhibición puede deberse a la producción de peróxido de hidrógeno (Hugas, 1994) y/o a otras sustancias como CO₂, diacetilo, antibióticos, D-isómeros de aminoácidos, reuterina y bacteriocinas (Klaenhammer, 1988; 1993).

Los cultivos protectores pueden ser descritos como microorganismos empleados principalmente para la supresión de gérmenes indeseables y que contrariamente a los cultivos iniciadores, modifican escasamente las propiedades sensoriales del producto (Hammes y Knauf, 1994). Además de la aplicación directa del cultivo de BAL a un alimento se ha probado también la aplicación de sustancias producidas por ellas, como ácido láctico (Larpent, 1995; García y col., 1995; Signorini, 2002) y bacteriocinas, ya sea sintéticas o purificadas directamente de los cultivos microbianos (Martínez, y col. 2000), en forma de spray (Cutter y Siragusa, 1994, 1996; Castillo y

col., 1998), inmersión (Mustapha y col., 2002) o mediante la incorporación de biopelículas conteniendo la bacteriocina (Natrajan y Sheldon, 2000a, 2000b; Quintero Salazar, 2001). Estos métodos tienen la ventaja de trabajar directamente con la bacteriocina purificada evitando así los problemas de manejar un cultivo de células vivas en donde sería necesario controlar factores como la temperatura, tensión de oxígeno, inhibición por metabolitos, generación de metabolitos no deseados y competencia con otros microorganismos.

Bacteriocinas

Las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas son definidas como compuestos de naturaleza proteica que muestran actividad bactericida contra bacterias Gram-positivas y particularmente contra bacterias taxonómicamente próximas. Estos compuestos constituyen una clase heterogénea de metabolitos, ya que muestran grandes diferencias en su composición, propiedades bioquímicas, modo de acción, así como en su espectro de actividad, además no siempre requieren receptores específicos para ejercer su actividad antimicrobiana y sus determinantes genéticos pueden situarse en el cromosoma o en plásmidos. Los géneros reportados como productores de bacteriocinas incluyen a *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Bifidobacterium*. Se ha sugerido que las bacteriocinas tienen un papel primordial en la selección de la microflora que inicia la fermentación y que además son responsables de la capacidad de las bacterias lácticas para competir exitosamente con otros microorganismos en ecosistemas no fermentativos como el tracto intestinal. Algunas bacteriocinas contienen varias proteínas en su estructura o incluso estas proteínas están asociadas a carbohidratos o lípidos. Sin embargo, se sabe que el componente proteico es esencial para la función bactericida de las bacteriocinas, por lo que éstas son inactivadas por al menos una proteasa. Esta propiedad es interesante ya que se pueden inactivar por acción de las enzimas gastrointestinales, lo cual permite considerarlas como seguras, ya que no ofrecen efectos indeseables cuando son consumidas (Nettles y Barefoot, 1993). Debido a lo anterior, la producción de este grupo de compuestos se ha explorado recientemente como una forma eficiente de reducir poblaciones de microorganismos indeseables en alimentos.

En general, la mayor parte de las bacteriocinas producidas por bacterias Gram positivas ejercen su acción mediante la permeabilización de la membrana plasmática de las células sensibles. Además, la célula productora se protege a sí misma mediante una proteína de inmunidad, específica para su propia bacteriocina (Jack y col., 1995). Por el contrario las bacteriocinas producidas por bacterias Gram negativas (por ejemplo, colicinas) precisan receptores celulares específicos para ejercer su actividad, habitualmente de codificación plasmídica y cuya síntesis está asociada a la muerte de la célula productora (Rodríguez González, 1999).

Los péptidos antimicrobianos o bacteriocinas producidos por bacterias lácticas se clasifican en tres clases o grupos de acuerdo a Cintas, 2001:

➤ Clase I

Constituida por péptidos pequeños estables al calor que contiene aminoácidos modificados, llamados lantibióticos. Son péptidos pequeños, generalmente menores a 5 kDa, termoestables que se caracterizan por la presencia de aminoácidos no esenciales (dehidroalanina, dehidrobutirina, lantionina, B-metil-lantionina). Se sintetizan en forma de prepéptidos, sufriendo modificaciones post-traduccionales que originan la aparición de aminoácidos modificados. Se dividen en péptidos de tipo A y tipo B., según aspectos estructurales y funcionales (Jack y col., 1995, Cintas y col., 2001).

Dentro de las de tipo A encontramos a la nisina, subtilina, Pep5, epilacina K7, epidermina, plantaricina C, y algunas otras. Son moléculas anfifílicas, flexibles y de forma alargada, con 2-7 cargas positivas netas. El blanco primario es la membrana plasmática, en la que forman poros. En el grupo B encontramos a la mersacidina y actagardina (Rodríguez González, 1999). Son péptidos globulares, fuertemente anfifílicos, que inhiben actividades enzimáticas. Producen la muerte celular por inhibir la síntesis de la pared celular. La bacteriocina mejor caracterizada de la clase I es la nisina. Es producida por *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. En los Estados Unidos ha recibido el grado de GRAS (*generally recognized as safe*, generalmente reconocida como segura) y esta aprobado su uso como aditivo por la Food and Drug Administration desde 1988 (Tu y Mustapha, 2002). El mecanismo de acción de la nisina se basa su absorción e inserción a la membrana con la subsiguiente formación

de poros y despolarización de la misma. El aumento en la permeabilidad de la membrana interfiere en el transporte de la membrana celular e inhibe la producción de energía y la biosíntesis de proteínas o ácidos nucleicos (Mustapha y col., 2002). La nisina posee un amplio espectro de acción contra bacterias Gram positivas incluidos *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, además de prevenir el desarrollo de esporas y de inhibir células vegetativas de *Bacillus spp.* y *Clostridium spp.* (Cintas y col., 2001). Las bacteriocinas de esta clase no sólo han sido utilizadas en la preservación de alimentos sino también en aplicaciones clínicas como en el caso de lacticina 3147 y nisina que pueden prevenir la mastitis bovina (Ryane y col., 1998).

➤ Clase II

Son bacteriocinas no modificadas, o no lantibióticos, que incluyen pequeños péptidos estables al calor, divididos en cuatro subclases. A partir de la caracterización de la pediocina PA-1 (pediocin AcH), una de las más ampliamente estudiadas (Chikindas, y col., 1993; Ray y col. 1999; Martínez y col., 2000). Las bacteriocinas de este grupo se suelen denominan “tipo pediocinas” (Aymerich y col., 1996). Aquí se agrupan péptidos pequeños (<10 kDa) que no contienen lantioninas, son estables al calor y su acción bactericida se produce por desestabilización de la membrana plasmática de las células sensibles. Se caracterizan por ser sintetizadas en forma de prepéptido, con un péptido líder de 12-24 residuos, cuyo sitio de procesamiento se corresponde con dos residuos adyacentes de glicina. Son usualmente catiónicas y anfifílicas (Klaenhammer, 1993; Cintas y col., 2001). Se las divide en cuatro subgrupos a saber:

Clase II a. Las bacteriocinas de este grupo son las que más interés han despertado debido, fundamentalmente a que poseen una alta actividad anti *Listeria* (Aymerich y col., 1996; Fimland y col., 1996; Le Marrec y col., 2000). Son producidas por especies de *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* y *Enterococcus*. Se caracterizan por tener una región en común YGNGV y un puente disulfuro en una región N-Terminal y por su modo de acción de permeabilización de la membrana. Las bacteriocinas de esta clase comparten una alta homología en cuanto a secuencia de aminoácidos

(alrededor del 38 al 55%) que es más pronunciada en el extremo N-terminal. A pesar de la similitud en su estructura primaria, difieren enormemente en cuanto a la especificidad del blanco sobre el que actúan. Estudios realizados con bacteriocinas híbridas que contienen las regiones N y C-terminal de bacteriocinas distintas, indicaron que el C-terminal tiene un importante papel en la especificidad del blanco. Esta región interacciona con la membrana causando la aparición de poros ya que es hidrofóbica o anfifílica. (Moll, y col., 1999).

Clase II b. Esta subclase comprende las bacteriocinas cuya actividad depende de la acción complementaria de dos péptidos (Klaenhammer, 1993). Están constituidas por dos péptidos catiónicos diferentes de 25-40 residuos cada uno. La actividad microbiana requiere la presencia de los dos péptidos, como la Lactococina G que forma canales selectivos para cationes monovalentes (K^+) pero no para protones, disipando el potencial protomotriz pero no el gradiente de pH. Las mitades N-terminal son hidrofílicas y forman hélices alfa anfifílicas, característica estructural que permitiría a los péptidos formar los poros en la membrana (Moll y col., 1999).

Clase II c. Las bacteriocinas de esta clase reciben el nombre de “sec-dependientes” debido a que se exportan al exterior celular por la vía general de secreción (Cintas y col.; 2001). En este subgrupo se situaron inicialmente bacteriocinas cuya actividad biológica parecía depender del estado reducido del grupo tiol de la cisteína (lactococina B). Sin embargo, la oxidación del grupo sulfidrilo no interfiere en la actividad (Venema y col., 1995).

Se ha propuesto la inclusión de una cuarta subclase, **Clase II d**, que agrupa a las bacteriocinas que no concuerdan del todo con las características de los grupos anteriores (Cintas y col., 2001). Aquí se incluye a la Enterocina L50 (A y B) producida por *E. faecium* L 50 aislada de embutidos secos fermentados. Esta bacteriocina no comparte secuencias similares con otras bacteriocinas de la Clase II y además no requieren de un péptido señal para su secreción. Sin embargo se parecen a la Clase IIb en que sus dos péptidos actúan sinérgicamente y son requeridos para una actividad completa de la EntL50 (Cintas y col., 1998, 2001).

➤ Clase III

Constituida por bacteriocinas de un relativamente alto peso molecular (> 30 kDa) y sensibles al calor, como por ejemplo, helveticina J y lactacinas A y B. Los géneros que se han reportado las produzcan son *Lactobacillus* y *Enterococcus*. Algunas de ellas son: helveticina J, helveticina V-1829 y lactacinas A y B (Klaenhammer, 1993; Cintas y col., 2001).

Utilización de bacteriocinas en carnes

La producción de bacteriocinas de amplio espectro de inhibición contra otras bacterias acidolácticas de otros géneros es una herramienta importante para el control de la fermentación láctica en productos cárnicos. Como ya se ha mencionado, la utilización de extractos libres de células presenta muchas ventajas comparado a la utilización de cultivos íntegros ya que se minimizan cambios de textura y sabor, especialmente en productos no fermentados. Sin embargo, la utilización de cultivos iniciadores con cepas productoras de bacteriocinas durante el proceso de fermentación de embutidos fermentados resulta en productos de alta calidad y homogeneidad además de controlar efectivamente a microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus* (Hammes y Knauf, 1994; Kenneally y col., 1998). El uso de bacteriocinas en el control de patógenos es de especial interés en productos frescos o minimamente procesados, en donde la elevada acidificación resulta indeseable. *Listeria monocytogenes* y *Clostridium botulinum* representan el principal peligro en este tipo de productos ya que la primera crece a temperaturas de refrigeración y la segunda forma esporas resistentes a procesos térmicos moderados, pudiendo luego germinar y desarrollarse con la consiguiente producción de toxina en condiciones de abuso de temperatura (De Vuyst y Vandamme, 1994).

Para la aplicación de cultivos productores de bacteriocinas se deben estudiar y comprobar fehacientemente sus propiedades como cultivo iniciador, su desempeño durante los procesos respectivos y la calidad del producto. Diversos autores realizaron estudios sobre el comportamiento de cepas potenciales productoras de bacteriocinas en sistemas cárnicos. Los trabajos tendientes a controlar *Listeria monocytogenes* se realizaron

mayormente utilizando *Pediococcus acidilacti*, uno de los cultivos iniciadores más utilizados en la fabricación de embutidos fermentados estilo americano (Hugas y Monfort, 1996). Nielsen y col. (1990) observaron una reducción de 2.2 log UFC, en los recuentos de *Listeria monocytogenes* en lotes de carne fresca inoculadas con una cepa bacteriocigénica de *Pediococcus acidilacti*. Por otra parte, Schillinger y col. (1991) encontraron que los niveles de *L. monocytogenes* permanecieron constantes durante 14 días en carne molida inoculada con una cepa bacteriocigénica de *Lactobacillus sake*, mientras que en la muestra control el patógeno creció exponencialmente. Existen diversos reportes sobre la utilización de lactobacilos bacteriocigénicos en embutidos fermentados de tipo europeo. Hugas y col. (1995) también encontró diferencias de 1.25 log en los recuentos de *L. monocytogenes* en embutidos secos fermentados contaminados por una cepa de *Lactobacillus sake* productora de la bacteriocina sakacina.

Actualmente varias cepas de *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium* y otras, han sido estudiadas exhaustivamente a nivel de estructura genética, lo que ha permitido esclarecer gran parte de los mecanismos de acción e inmunidad de cepas productoras, mecanismos de transporte, etcétera. Los avances en esta área se orientan además a la optimización de cepas productoras de bacteriocinas de amplio espectro y el desarrollo de cepas hiperproductoras de bacteriocinas de interés en el control de patógenos y alterantes alimentarios.

Referencias

- AYMERICH T, HOLO H, HAVARSTEIN LS, HUGAS M, GARRIGA M, NES IF 1996. Biochemical and genetic characterization of enterocin a from *Enterococcus faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 1676-1682.
- BISS ME, HATHAWAY SC 1996. Microbiological contamination of ovine carcasses associated with the presence of wool and faecal material. *Journal of Applied Bacteriology* 81: 594-600.
- CASTILLO A, LUCIA LM, GOODSON KJ, SAVELL JW, ACUFF GR 1998. Comparison of water wash, trimming and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of faecal origin on beef carcasses. *Journal of Food Protection* 61: 823-828.

- CHIKINDAS ML, GARCÍA-GARCERÁ MJ, DRIESSEN AJM, LEDEBOER AM, NISSEN-MEYER J, NES IF, ABEE T, KONINGS WN, VENEMA G 1993. Pediocin PA-1, a bacteriocin from *Pediococcus acidilacti* PAC1.0, forms hydrophilic pores in the cytoplasmic membrane of target cells. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 3577-3584.
- CINTAS LM, CASAUS MP, HERRANZ C, NES IF, HERNÁNDEZ PE 2001. Review: bacteriocins of lactic acid bacteria. *Food Science and Technology International* 7: 281-305.
- CUTTER CN, SIRAGUSA GR 1994. Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer. *Food Microbiology* 11: 481-489.
- DAESCHEL MA 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology* January 1989 p. 164-167.
- DE VUYST L, VANDAMME EJ 1994. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. En *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Edited De Vuyst, L. and Vandamme. Blackie Academic & Professional. Great Britain p. 91-142.
- ELLIS DI, BROADHURST D, KELL DB, ROWLAND J, GOODACRE R 2002. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of meat by Fourier transform infrared spectroscopy and machine learning. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 2822-2828.
- FIMLAND G, BLINGSMO RO, SLETTEN K, JUNG G, NES IF, NISSEN-MEYER J 1996. New biologically active hybrid bacteriocins constructed by combining regions from various pediocin-like bacteriocins: the c-terminal region is important for determining specificity. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 3313-3318.
- GARCÍA T, MARTÍN R, SANZ B, HERNÁNDEZ PE 1995. Revisión: Extensión de la vida útil de la carne fresca. I: envasado en atmósferas modificadas y utilización de bacterias lácticas y bacteriocinas. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 35: 1-18.
- HAMMES WP, KNAUF HJ 1994. Starters in the processing of meat products. *Meat Science* 36: 155-168
- HUGAS M 1994. Caracterización bioquímica de lactobacilos aislados de salchichones. *Eurocarne* 26. 53-62.
- HUGAS M, GARRIGA M, AYMERICH T, MONFORT JM 1995. Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC494. *Journal of Applied Bacteriology* 79: 322-330.
- HUGAS M, MONFORT JM 1996. Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chemistry* 59: 547-554.
- HUIS IN'T VELD JHJ 1996. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology* 33: 1-18.

- JACK RW, TAGG JR, RAY B 1995. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiological Review* p. 171-200.
- KLAENHAMMER TR 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* 70: 337-349.
- KLAENHAMMER TR 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS. Microbiology Reviews* 12: 39-86.
- KENNEALLY PH, LEUSCHNER RG, ARENDT EK 1998. Evaluation of the lysoytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes. *Journal of Applied Microbiology* 89: 839-896.
- LARPENT JP. 1995. Las bacterias lácticas. En *Microbiología Alimentaria*. Vol. II, Fermentaciones Alimentarias. Editado por Bourgeois, C.M. y Larpent, J.P.. Ed. ACRIBIA S.A., Zaragoza. 3-17.
- LAWRIE RA 1985. *Meat Science*. Pergamon Press, Great Britain p.92-111.
- LE MARREC C, HYRONIMUS B, BRESSOLLIER P, VERNEUIL B, URDACI M 2000. Biochemical and genetic characterization of coagulin, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins, produced by *Bacillus coagulans* I4. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 5213-5220.
- LÜCKE FK, HECHELMANN H 1988. Cultivos starter para embutido seco y jamón crudo. *Fleischwirtschaft español* 1:38-48.
- MARTÍNEZ JM, KOK J, SANDERS JW, HERNÁNDEZ P 2000. Heterologous coproduction of enterocin a and pediocin pa-1 by *Lactococcus lactis*: detection by specific peptide-directed antibodies. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3543-3549.
- MOLL GN, KONINGS WN, DRIESSEN AJM 1999. Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation. *Antonie van Leeuwenhoek* 76:185-198.
- MUSTAPHA A, ARIYAPITIPUN T, CLARKE AD 2002. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on Vacuum-Packaged Raw Beef Treated with Polylactic Acid, Lactic Acid and Nisin. *Journal of Food Science* 67: 262-267.
- NATRAJAN N, SHELDON BW 2000a. Efficacy of nisin-coated polymer films to inactivate *Salmonella Typhimurium* on fresh broiler skin. *Journal of Food Protection* 63: 1189-1196
- NATRAJAN N, SHELDON BW 2000b. Inhibition of *Salmonella* on poultry skin using protein and polysaccharide-based films containing a nisin formulation. *Journal of Food Protection* 63: 1268-1272.
- NETTLES CG, BAREFOOD SF 1993. Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *Journal Food Protection* 56: 338-356.
- NIELSEN JW, DICKSON JS, CROUSE JD 1990. Use of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilacti* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 2142-2145.

- QUINTERO SALAZAR, B. 2001. Empleo de cultivos bioprotectores y nisina sobre la calidad microbiológica y fisicoquímica de carne de pollo almacenada en condiciones de abuso de temperatura. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. Distrito Federal, México.
- RAY B, SCHAMBER R, MILLER K 1999. The Pediocin AcH Precursor is Biologically Active. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2281-2286.
- RODRIGUEZ GONZÁLEZ A. 1999. Modo de acción de las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas, con especial referencia a la lactococina 972. Resúmenes curso de Biotecnología y Biología Molecular de Bacterias Lácticas. Tucumán. Argentina.
- RYANE MP, MEANEY WJ, ROSS RP, HILL C. 1998. Evaluation of lacticin 3147 and a teat seal containing this bacteriocin for inhibition of mastitis pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 2287-2290.
- SCHILLINGER U, KAYA M, LÜCKE FK 1991. Behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sake*. *Journal of Applied Bacteriology* 70: 473-478.
- SCHOEBITZ R, DE LA VEGA JA, TAMAYO R 1990. Calidad microbiológica y sensorial de la carne de vacuno envasada al vacío almacenada a diferentes temperaturas. *Fleischwirtschaft español* 2: 31-36.
- SIGNORINI M 2002. Fermentación láctica y su efecto sobre las propiedades funcionales de la carne. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- TU L, MUSTAPHA A 2002. Reduction of *Bochotrix termosphaeta* and *Salmonella* Serotype Typhimurium on Vacuum-Packaged Fresh Beef Treated with Nisin and Nisin Combined with EDTA. *Journal of Food Science* 67: 302-306.
- VENEMA K, KOK J, MARUGG JD, TOONEN MY, LEDEBOER AM, VENEMA G, CHIQUINDAS ML. Functional analysis of the pediocin operon of *Pediococcus acidilacti* PAC1.0: PedB is the immunity protein and PedD is the precursor processing enzyme. *Molecular Microbiology* 17: 515-522.