

BACTERIOCINAS DE PROBIÓTICOS

Blanca Edelia González-Martínez¹, Marivel Gómez-Treviño², Zacarias Jiménez-Salas¹

1. Facultad de Salud Pública y Nutrición (Universidad Autónoma de Nuevo León), 2. Facultad de Ciencias Biológicas (Universidad Autónoma de Nuevo León)

E-mail: bedeliagzz@hotmail.com

Introducción

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero (1). La forma más frecuente de consumir probióticos es a través de alimentos lácteos que contienen especies intestinales de lactobacilos y bifidobacterias; por los efectos benéficos adicionales a los nutritivos, estos alimentos se consideran en el grupo de los alimentos funcionales (2).



Una vez que los probióticos son ingeridos ocurren cambios en la microflora intestinal que repercuten positivamente en el estado de salud del consumidor. Es importante resaltar que la flora intestinal es una comunidad interactiva de organismos con funciones específicas para mantener el estado de salud. Esta función es la suma resultante de las diferentes actividades combinadas de los organismos que la conforman como lo son la fermentación de sustratos de la dieta no digeribles y del moco producido por el epitelio con la producción de ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) favoreciendo la recuperación y la absorción de calcio, hierro y magnesio, en la regulación del metabolismo de la glucosa reduciendo la glicemia postprandial, así como, la síntesis de la vitamina K y de las del grupo B (3). Algunos beneficios incluyen mejoría en las enfermedades infecciosas, enfermedades crónicas intestinales como colitis ulcerosa, inmunomodulación, biodisponibilidad de nutrientes, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus no insulino dependiente, obesidad, osteoporosis y cáncer (4, 5, 6). Estos efectos pueden deberse directa o indirectamente a la regulación de la microflora intestinal o de la respuesta inmunológica (7). Entre las bacterias probióticas más utilizadas para el consumo humano se encuentran las llamadas bacterias ácido lácticas (BAL), que incluyen a las siguientes: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. casei* spp *rhamnosus*, *L. delbrueckii* spp *bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *Lactococcus lactis* spp *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. breve*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, entre otros (8)

Una forma de actuar de los probióticos para lograr alcanzar un buen estado de salud del individuo, es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de microorganismos patógenos, que se logra mediante la generación de sustancias antimicrobianas como ácido láctico y otros ácidos de cadena corta, metabolitos como peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas (9, 10)

Las BAL han estado presentes en la alimentación del hombre desde hace siglos ya que se encuentran en productos de leches fermentadas como yogurt, jocoque, quesos madurados, productos cárnicos y hasta en algunas hortalizas. Metchnikoff hace más de un siglo comprobó el efecto benéfico en la salud por el consumo de leches fermentadas (11)

Además de que las BAL proporcionan sabor y textura e incrementan el valor nutricional de los alimentos, desde hace décadas se utilizan en la industria alimenticia como bioconservadores debido a la producción de bacteriocinas y otras sustancias que ejercen acción antibacteriana que contribuyen a la prevención de la descomposición de los alimentos (12)

La actividad antimicrobiana de las bacteriocinas representa un gran potencial para la industria alimenticia ya que se pueden utilizar como conservadores biológicos puros que en un momento dado podrían reemplazar a los conservadores químicos ya que tienen la ventaja de ser proteínas que al biodegradarse no forman compuestos secundarios.

Existen numerosas bacteriocinas producidas por las BAL y cada una tiene espectros de inhibición particulares, esta característica es aprovechada en la industria de los alimentos para utilizarlas de diversas formas. Algunas bacteriocinas se utilizan en procesos que requieren la inhibición del crecimiento de bacterias indeseables específicas estrechamente relacionadas al productor de la bacteriocina, y en otros casos se aplican para inhibir el crecimiento de microorganismos degradadores de alimentos o de patógenos como estalilococos y listerias, respectivamente. (13)

Dada la importancia que en la actualidad están tomando los probióticos como alimentos funcionales y en particular las bacteriocinas que producen, resulta interesante conocer algunas características de estas sustancias y sus propiedades antimicrobianas. Aunque este ensayo no pretende ser una revisión exhaustiva de las bacteriocinas, se muestran algunos ejemplos de éstas y el modo de acción propuesto.

Importancia y clasificación de las bacteriocinas

Tradicionalmente se considera a las bacteriocinas como péptidos biológicamente activos que tienen propiedades bactericidas contra otras especies estrechamente relacionadas con la cepa productora, sin embargo, recientemente este concepto se ha modificado ya que se han encontrado también acciones bactericidas contra cepas distanciadas filogenéticamente de la cepa productora (14).

Diversos investigadores han buscado clasificar a las bacteriocinas de acuerdo a sus características bioquímicas y genética (15, 16). A continuación se presenta la clasificación de estos compuestos propuesta por Ness en 1996 en base a las características bioquímicas y genéticas:

Clase I.- Lantibióticos.- Son péptidos pequeños activos a nivel de membrana y que contienen algunos aminoácidos poco comunes como lantionina, b-metil-lantionina y dihidroalanina que se forman debido a modificaciones posteriores al proceso de la traducción. La formación de aminoácidos no comunes se explica por la deshidratación de los aminoácidos serina y treonina, con la posterior adición de los átomos de azufre de la cisteína a los dobles enlaces de los deshidroaminoácidos. Un ejemplo bien conocido de estas bacteriocinas es la nisina.

Clase II.- No lantibióticos.- Son bacteriocinas de peso molecular variable, que contienen aminoácidos regulares. En este grupo se pueden identificar tres subclases:

- Clase IIa.- Son péptidos activos contra *Listeria*, tienen la secuencia consenso en la región N-terminal TGNGVXC y sus representantes característicos son la pediocina PA-1 y la sakacina P.

- Clase IIb.- Son formadores de complejos de poración que consisten de dos péptidos diferentes. Ambos péptidos son necesarios para una mejor actividad antimicrobiana. En este grupo se encuentran la lactococcina G y las plantaricinas EF y JK.
- Clase IIc.- péptidos pequeños, termoestables, no modificados y que se transportan mediante péptidos líder. En esta subclase solamente se reportan las bacteriocinas divergicina A y acidocina B.

Clase III.- Son péptidos grandes mayores de 30 kDa, en esta clase se encuentran las helveticinas J y V, acidofilicina A, lactacinas A y B.

Tabla1. Bacteriocinas y Microorganismos productores

Bacteriocina	Clase	Microorganismo productor	Referencias
Nisina	I	Lactococcus lactis subsp lactis	14, 17, 29, 31
Pediocina PA-1	IIa	Pediococcus acidilactici y Lactobacillus plantarum WHE92	14, 17,18, 23, 24
Pediocina JD	IIa	Pediococcus acidilactici JD1-23	23
Sakacina A	IIa	Lactobacillus sake 706	14
Sakacina P	IIa	Lactobacillus sake LTH673	14, 17, 24
Curvacina A	IIa	Lactobacillus curvatus LTH1174	24
Mesentericina Y105	IIa	Leuconostoc mesenteroides	17
Plantaricina E/F	IIb	Lactobacillus plantarum C11	14, 25
Lactococcina A	IIb	Lactococcus lactis subsp cremoris	17, 21, 23
Lactococcina B	IIb	Lactococcus lactis subsp cremoris 9B4	17, 21
Lactacina F	IIb	Lactobacillus johnsonii	21, 23
Divergicina	IIc	Carnobacterium divergens LV13	14, 37
Helveticina	III	Lactobacillus helveticus	14, 38, 39

Modo de acción

El modo de acción de las bacteriocinas es complejo. La nisina en la clase I y la pediocina como representante de la clase II, son las mas estudiadas en este concepto y comparten algunas características en común. Por lo general, actúan destruyendo la integridad de la membrana citoplasmática a través de la formación de poros, lo que provoca la salida de compuestos pequeños o altera la fuerza motriz de protones necesaria para la producción de energía y síntesis de proteínas o ácido nucléicos (17, 18, 19).

Es posible que las clases I y II de las bacteriocinas compartan mecanismos de acción semejantes (20). Al parecer, los péptidos se unen a la membrana citoplasmática a través de uniones electrostáticas con los fosfolípidos cargados negativamente, luego se insertan a la membrana con una reorientación que depende del potencial de membrana, el cual esta influenciado por el pH y la

composición fosfolipídica. Los monómeros de bacteriocina forman agregados proteicos que resultan en la formación del poro con la consecuente salida de iones (principalmente potasio y magnesio), pérdida de la fuerza motriz de protones (FMP), salida de ATP y aminoácidos. La fuerza motriz de protones juega un papel central en la síntesis de ATP, en el transporte activo y el movimiento bacteriano, por lo tanto, se inhibe la síntesis de macromoléculas y la producción de energía dando como resultado la muerte celular.

Aunque es común la formación de poros y la disipación de la fuerza motriz de protones en el modo de acción de las bacteriocinas, existen algunas particularidades en cada clase. De la clase I, la nisina no requiere de un receptor unido a la membrana de la célula blanco ya que reconoce la composición fosfolipídica de la célula (21). En cambio, para la acción de la lactococina A y la lactoestrepcina se requiere de la unión a receptores membranales (22). Para las bacteriocinas de la clase IIa se ha sugerido que la región consenso amino terminal tiene un papel importante en la capacidad de reconocimiento de la membrana de la célula blanco (23, 24). En las de la clase IIb, las plantaricinas EF y JK dependen de la acción de dos péptidos a y b para la formación de poros y consecuente disipación del potencial de membrana (25). En la clase III, que son bacteriocinas de alto peso molecular, el mecanismo de acción se desconoce y deberá ser más estudiado.

En general, es probable que las estructuras secundarias de los péptidos activos tengan un papel importante en la actividad biológica ya que las α -hélices y láminas β plegada son anfífilas, lo que sugiere una oligomerización de los monómeros en las membranas de acuerdo al mecanismo de formación de poros denominado "barrel-stave" con los lados hidrofóbicos hacia parte lipídica de la membrana y los hidrofílicos formando el poro del canal.

Bacteriocinas representativas

Nisina

La Nisina, descrita en 1928, fue la primer bacteriocina aislada a partir de la bacteria ácido láctica *Lactococcus lactis* subsp *lactis*. Es la bacteriocina mejor caracterizada y es utilizada como conservador de alimentos (26, 27); es la única reconocida por la FDA con la categoría GRAS (Generally Recognized As Safe). Se produce de forma natural en algunos productos lácteos y se utiliza en la producción de alimentos como un aditivo en productos lácteos para prevenir la descomposición ocasionada por bacterias Gram positivas, especialmente de los géneros *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Listeria*.

Es un péptido de 34 aminoácidos, de bajo peso molecular menor a 5 kDa. La síntesis de la nisina es compleja, requiere de procesos de transcripción, traducción, modificaciones post-traduccionales, secreción, procesamiento, y señales de transducción (28, 29). Existen dos variantes de esta bacteriocina, la nisina A y la nisina Z, que difieren solamente en el aminoácido de la posición 27, la histidina en la nisina A cambia por asparagina en la nisina Z.

En la síntesis de la nisina participan un grupo de genes ordenados como *nisABTCIP*, *nisRK*, y *nisFEG* que regulan la expresión del gen estructural *nisA*. El precursor inactivo NisA es modificado químicamente por los productos de *nisB* y *nisC* que deshidratan a los residuos de treonina y serina y originan la formación de los enlaces tioeter característicos de los lantibióticos. Una vez modificado el precursor, este es transportado, procesado y secretado; Para proteger a la célula productora, existen las proteínas NisI y NisFEG que le confieren inmunidad (30, 31).

Pediocina

Es una bacteriocina producida por *Pediococcus acidilactici* y es utilizada como conservador en productos vegetales y cárnicos y se ha observado una elevada actividad contra especies de *Listeria* (32).

La pediocina es sintetizada como un pre-péptido de 62 aminoácidos que al ser procesado resulta en un péptido maduro de 44 residuos, anfifílico, con carga positiva y regiones altamente hidrofóbicas y con 2 enlaces disulfuro (33). La estructura terciaria de la pediocina PA-1 ya ha sido determinada, en el extremo N-terminal contiene 3 láminas β que originan una conformación de horquilla, en cambio en el extremo C-terminal se presenta un alto grado de libertad conformacional a excepción de un enlace disulfuro entre los aminoácidos 24 y 44, que es esencial para su actividad.

Para la síntesis de la pediocina se ha descrito la participación de un grupo de genes. El gen *pedA* es el gen estructural, el gen *pedB* se requiere para la inmunidad y los genes *pedC* y *pedD* participan en la secreción del péptido maduro (34).

Dada su alta actividad contra especies de *Listeria* esta bacteriocina tiene un alto potencial para ser utilizado como conservador en alimentos lácteos.

Plantarinas E/F y J/K

Son bacteriocinas del grupo IIb producidas por *Lactobacillus plantarum* que tienen actividad antimicrobiana cuando interactúan como un sistema de 2 péptidos (35). La síntesis de la plantarina es sumamente compleja, esta regulada por la acción de 5 operones con 21 genes diferentes. Los péptidos activos para la formación de poros en la membrana citoplasmática de las células blanco son PlnE y PlnF que conforman la plantarina E/F y los péptidos PlnJ y PlnK constituyen la plantarina J/K. Se ha encontrado que esos 4 péptidos catiónicos poseen de 25 a 34 aminoácidos y tienen actividad bactericida de manera independiente, la cual se potencia cuando se interactúan en pares formando los complejos de poración E/F y J/K. Los poros formados presentan diferente selectividad iónica, ya que la plantarina E/F permite el paso de cationes monovalentes en contraste con la plantarina J/K que es selectiva para compuestos aniónicos (36). Esta actividad complementaria combinada de E/F y J/K garantizan una eficiente actividad bactericida.

Divergicina A.

Es una bacteriocina producida por *Caernobacterium divergens* LV13 que se caracteriza por poseer un sistema de secreción que involucra la presencia de un péptido señal (37). El gen estructural *dvnA* codifica para un prepéptido de 75 aminoácidos que tiene una región N-terminal de 29 aminoácidos y un péptido maduro de 46 aminoácidos. Con un peso molecular de 4.6 kDa, la divergicina A es un péptido pequeño, de naturaleza hidrofóbica y termoestable. A diferencia de las bacteriocinas de la clase II que tienen un sitio de rompimiento característico Gli-Gli, esta bacteriocina posee en su extremo N-terminal un sitio de rompimiento Ala-Ser-Ala y actúa como péptido señal para el uso del sistema de secreción de la célula. Cabe destacar que al generarse el péptido señal a partir del mismo gen estructural, resulta innecesaria la presencia de genes que produzcan proteínas necesarias para el procesamiento y secreción de la bacteriocina madura.

Helveticina J

Esta bacteriocina es producida por *Lactobacillus helveticus*, microorganismo que se encuentra de manera natural en quesos madurados. La bacteriocina presenta actividad antibacteriana contra especies relacionadas. Es una proteína de 37 kDa termolábil (30 min a 100°C) y el gen que la produce se localiza en el DNA cromosomal (38, 39). Poco se conoce de las características bioquímicas de la bacteriocina y de su modo de acción.

Conclusiones

En la actualidad, los individuos están interesados en consumir alimentos que, aparte de su valor nutricional, tengan beneficios adicionales como el prevenir enfermedades. El uso de los probióticos como parte de los alimentos o en la fermentación de los mismos, es una área en franco desarrollo en la industria de alimentos lo que origina un marcado interés por las bacterias ácido lácticas y sus metabolitos. Además, en el campo de la conservación de los alimentos, resulta interesante analizar el uso de las bacteriocinas de las BAL como una alternativa para sustituir, al menos parcialmente, a los agentes químicos.

La prevención de la ocurrencia de enfermedades en los individuos y la conservación de los alimentos han motivado que el mundo industrial y el científico se interese por conocer con mayor detalle el modo de acción de los probióticos y de las bacteriocinas en particular para otorgar confianza al consumidor.

Con lo descrito en este ensayo se puede ver que el reciente desarrollo de la biotecnología ha permitido conocer las características bioquímicas y genéticas de algunas bacteriocinas, así como su mecanismo de acción y por ende un mejor conocimiento de la forma en que las bacterias ácido lácticas inhiben a otros microorganismos pudiendo ser una de las causas de sus efectos benéficos para la salud. Además, cada día se descubren más bacteriocinas y se analizan sus mecanismos de acción a nivel molecular. No cabe duda que en los próximos años se tendrá un mejor entendimiento de estos péptidos que permitan aprovechar al máximo su potencial en beneficio del hombre.

Resumen

En la actualidad, los individuos están interesados en consumir alimentos que, aparte de su valor nutricional, tengan beneficios adicionales como el prevenir enfermedades. El uso de los probióticos como parte de los alimentos o en la fermentación de los mismos, es una área en franco desarrollo en la industria de alimentos lo que origina un marcado interés por las bacterias ácido lácticas y sus metabolitos. Además, en el campo de la conservación de los alimentos, resulta interesante analizar el uso de las bacteriocinas de las bacterias ácido lácticas como una alternativa para sustituir, al menos parcialmente, a los agentes químicos. La prevención de la ocurrencia de enfermedades en los individuos y la conservación de los alimentos han motivado que el mundo industrial y el científico se interese por conocer con mayor detalle el modo de acción de los probióticos y de las bacteriocinas en particular para otorgar confianza al consumidor.

Palabras claves: bacteriocinas, probióticos

Abstract

In the present time, the individuals are interested in consuming foods that in addition to their nutritional value, have additional benefits like coming up diseases. The use of the probiotics like part of foods or in the fermentation of the foods, is a developing area in the food industry, that originates an interest in lactic bacteria acid and their metabolitos. On the other hand, in the field of the conservation of foods, it turns out interesting to analyze the use of the bacteriocins of the lactic bacteria acid like an alternative to replace the chemical agents. The prevention of the occurrence of diseases in the individuals and the conservation of the foods has motivated that the industrial world and the scientist is interested to know with greater detail the way action the probióticos and the bacteriocinas in individual to grant confidence to the consumer.

Key words: bacteriocins, probiotics

Referencias

- 1.- Schrezenmeir, J. and M. Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics, and symbiotic-approaching a definition. *Am J Clin Nut* 73 (suppl) 361-364.
- 2.- Palou A. and F. Serra 2000. Perspectivas europeas sobre los alimentos funcionales. *Alimentación Nutrición y Salud* 7 (3) 76-90.
- 3.- Guarner F. 2000. El colon como órgano: habitat de la flora bacteriana *Alimentación Nutrición y Salud* 7 (4) 99-106.
- 4.- Marteau P, M. Vrese, CJ Cellier and J. Schrezenmeir 2001. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probióticos *Am J Clin Nut* 73 (suppl) 430-436.
- 5.- Sanders ME. 2000. Considerations for Use of probiotic bacteria to modulate human health *J. Nut* 130 384S-390S.
- 6.- Saavedra JM. 2001. Clinical applications of probiotic agents *Am J Clin Nut* 73 (suppl) 1147-1151.
- 7.- Guarner F. and JR Malagelada. 2002. Ecología Intestinal: Modulación mediante probióticos. En *Alimentos Funcionales. Probióticos.*[RM Ortega, A Marcos, J Aranceta, JA Mateos, AM Requejo, L Serra] Ed. Médica Panamericana. Cap 4.
- 8.- Farnworth ER. 2001. Probiotics and prebiotics. En *Handbook of Nutraceutical and functional foods* [RE Wildman] Ed. CRC Press. Cap. 25: 407 – 422.
- 9.- Marteau P. *et al, Op. Cit*
- 10.- Sanders ME *Op Cit*.

- 11.- Mateos JA. 2002. Aspectos Básicos de la Tecnología de las Leches Fermentadas. En Alimentos Funcionales. Probióticos.[RM Ortega, A Marcos, J Aranceta, JA Mateos, AM Requejo, L. Serra.] Ed. Médica Panamericana. Cap 6.
- 12.- Campos JA. 2002. Cultivos Probióticos y Protectores, Propiedades Funcionales (Nutraceuticas) de Valor Agregado en los Derivados Lácteos. Lácteos y Cárnicos Mexicanos. Jun/Jul 26-37.
- 13.- Stiles ME. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*.70:331-345.
- 14.- Sablon E, B. Contreras and E. Vandamme 2000. Antimicrobial peptides of Lactic Acid Bacteria: Mode of Action, Genetic and Biosynthesis. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. [Th. Scheper] Springer –Verlag.
- 15.- Klenhamer TR 1993. Genetics of bacteriocin produced by lactic acid bacteria *FEMS Microbiol Rev*. 12: 39-86.
- 16.- Nes IF, DB Diep, LS Havarstein, Mi Brurberg, V Eijsink and H Holo 1996. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 70 (2) 113-128
- 17.- Montville TJ and Y Chen 1998. Mechanistic action of pediocin and nisin: recent progress and unresolved questions *Appl Microbiol Biotechnol* 50: 511-519.
- 18.- Chikindas ML, MJ García –Garcera, AJM Driesessen, AM Ledebøer, J Nissen-Mejer , IF Nes, T Abee, WN Konings and G Venema.1993. PediocinPA-1, a Bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1.0 Forms Hydrophilic Pores in the Cytoplasmic Membrane of Target Cells. *Appl. Environ. Microbiol*. 59: 3577-3584.
- 19.- Sablon E. *et al* . *Op Cit*.
- 20.- Montville TJ, *et al.*,. *Op Cit*.
- 21.- Abee T, TR Klaenhammer and L. Letellier. 1994. Kinetic studies of Lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus johnsonii* that form poration complex in the cytoplasmic membrane. *Appl. Env. Microbiol*. 60 (3) : 1006-1013.
- 22.- Kok J, H Holo, Mj van Belkum, AJ Haandrikman and IF Nes 1993. No nisin bacteriocins in lactococci : biochemistry, genetics and mode of action. En *Bacteriocin of lactic acid bacteria* (D Hoover, L Steevenson) Academic Press, New York, 121-150.
- 23.- Bruno MEC and T Montville 1993. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol*. 59: 3003-3010.
- 24.- Eijsink VGH, M Skeie, PH Middelhoven, MB Brurberg and IF Ness. 1998. Comparative Studies of Class IIa Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol*. 64: 3275-328.
- 25.- Moll GN, EVD Akker, HH Hauge, J Nissen-Meyer, IF Nes, WN Konings and AJ Driessen 1999. Complementary and overlapping selectivity of the two-peptide bacteriocins plantaricin EF and JK. *J. Bacteriol*. 181 (16): 4848-4852.
- 26.-Delves-Broughton J. 1990. Nisin and its use as a food preservative. *Food Technol*. 44: 100-112.

- 27.- Delves-Broughton J, P Blackburn, RJ Evans and Hugenholtz. 1996. Application of the bacteriocin nisin. *Antonie Leeuwenhoek* 69: 193-202.
- 28.- Montville TJ and Chen Y. *Op.Cit.*
- 29.- Engelke G, Z Gutochowski-Eckel, M Hammelman, and KD Entian. 1992. Biosynthesis of the lantibiotic nisin: genomic organization and membrane localization of the NisB protein. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3730-3743.
- 30.- Li H and DJ O'Sullivan. 2002. Heterologous expression of the *Lactococcus lactis* Bacteriocin, Nisin, in a dairy Enterococcus strain. *Appl. Environ. Microbiol* 68: 3392-3400.
- 31.- Abee T, FM Rombouts, J Hugenholtz, G Guihard and L Letellier 1994. Mode of Action of Nisin Z Against *Listeria monocytogenes* Scott A Grown at High and Low Temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1962-1968.
- 32.- Yousef AE, JB Luchansky, AJ Degnan and MP Doyle. 1991. Behavior of *Listeria monocytogenes* in wiener exudates in the presence of *Pediococcus acidilactici* H or pediocin AcH during storage at 4 or 25°C. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1461-1467.
- 33.- Montville TJ and Y Chen *Op. Cit.*
- 34.- Venema K, J Kok, JD Marugg, MY Toonen, AM Ledebøer, Venema G, Chikindas ML. 1995. Functional analysis of the pediocin operon of *Pediococcus acidilactici* PAC1.0: Ped B is the immunity protein and PedD is the precursor processing enzyme. *Mol. Microbiol.* 17:515-522.
- 35.- Anderssen EL, DB Diep, IF Ness IF, VGH Eijssink and J Nissen-Meyer. 1998. Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* C11: two new two-peptide bacteriocins, plantaricin EF and JK, and the induction factor plantaricin A. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2269-2272.
- 36.- Moll GN, *et al.*, *Op. Cit.*
- 37.- Worobo RW, MJ Van Belkum, M Sailer, KL Roy, JC Vederas and ME Stiles. 1995. A signal peptide secretion-depend bacteriocin from *Caernobacterium divergens*. *J. Bacteriol.* 177 (11): 3143-3149.
38. Joerger MC and TR Klaenhemmer. 1986. Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481. *J. Bacteriol.* 167 (2): 439-446.
- 39.- Joerger MC and TR Klaenhemmer TR. 1990. Cloning, expression, and nucleotide sequence of the *Lactobacillus helveticus* 481 gene encoding the bacteriocin helveticin J. *J. Bacteriol.* 172 (11): 6339-47.