

Detección de enterococos resistentes a la vancomicina en pollos de engorde tratados con células probióticas convencionales

Vancomycin-resistant enterococci detection in broiler chicks treated with a conventional probiotic cells

Mariela Seilee¹, Rebeca Carem², González Auxiliadora³

¹Facultad de Biología, Universidad Pontificia Bolivariana, Colombia

²Facultad de Ciencias, Universidad del Norte, Colombia

³Faculty of Medicine, Universidad de Cartagena, Colombia

Resumen

Hoy en día existe un interés generalizado en los beneficios para la salud de los componentes de los alimentos o la salud basada en la nutrición y los probióticos en particular son potencialmente una parte importante de una estrategia de salud basada en la nutrición. Los probióticos generalmente se definen como suplementos dietéticos, que contienen microorganismos viables no patógenos, que se consideran que confieren beneficios para la salud del huésped a través de sus interacciones con la microflora gastrointestinal y directamente con el sistema inmune.

Palabras clave: probióticos, inmunomodulación, patógenos, enfermedad de Crohn.

Abstract

There is a widespread interest nowadays in the health benefits of food components or nutrition-based health and probiotics in particular are potentially an important part of a nutrition-based health strategy. Probiotics are usually defined as dietary supplements, containing viable nonpathogenic micro-organisms, which are considered to confer health benefits to the host through their interactions with the gastrointestinal microflora and directly with the immune system.

Key words: probiotics, Immunomodulation, pathogens, Crohn's disease

1. Introducción

Actualmente existe un interés generalizado en la salud. beneficios de los componentes alimentarios o la salud basada en la nutrición y los probióticos en particular son potencialmente una parte importante de un estrategia de salud basada en la nutrición. Los probióticos son generalmente definido como suplementos dietéticos, que contienen viables no patógenos microorganismos, que se consideran confieren beneficios de salud al huésped a través de sus interacciones con la microflora gastrointestinal y directamente con el sistema inmunitario[1].

La prevención y reducción de enfermedades entéricas es un factor importante en el mantenimiento de la salud y la microflora de el tracto gastrointestinal es bien reconocido como jugar un papel fundamentalmente importante aquí. Sin embargo, las interacciones entre la microflora gastrointestinal y el huésped no son siempre beneficioso. Un reconocimiento desordenado de los componentes. de la flora comensal por el huésped parece más probable. Un importante efecto causal de la enfermedad inflamatoria intestinal[2].

La patogenia de la enfermedad de Crohn ahora es ampliamente aceptada como consecuencia de una respuesta inmune agresiva a la estimulación antigénica continua por microflora gastrointestinal. Los patógenos tradicionales probablemente no son responsables para el inicio de la enfermedad de Crohn pero una mayor virulencia de bacterias comensales que interactúan con patógenos estimula la respuesta inmune perjudicial[3].

Por lo tanto, modificación de la microflora gastrointestinal. por terapia probiótica tiene potencial terapéutico en clínicas condiciones asociadas con disfunciones de la barrera gastrointestinal y mucosa inflamada. Los probióticos pueden ofrecer un nuevo opción terapéutica para el tratamiento del intestino inflamatorio enfermedad revisada por Geier. Los probióticos han sido eficaz en el tratamiento de la diarrea infecciosa aguda en niños y en la prevención de antibióticos asociados diarrea. Hay evidencia alentadora para un efecto beneficioso de los probióticos contra la diarrea por rotavirus en niños. Los probióticos también pueden ser efectivos en la prevención y el tratamiento de la

pouchitis, atópica pediátrica, enfermedades y la prevención de infecciones postoperatorias. Hay muchas otras propiedades beneficiosas de los probióticos. Pueden inhibir *Salmonella* y *Helicobacter pylori*, elimina el colesterol y secreta enzimas y bacteriocinas en el tracto gastrointestinal[4].

Las aplicaciones futuras de los probióticos en la salud humana tienen sido revisado concisamente por Vanderhoof. Probióticos podría ser útil para controlar enfermedades inflamatorias, tratamiento y prevención de enfermedades alérgicas, prevención del cáncer y estimulando el sistema inmune, lo que puede reducir la incidencia de enfermedad respiratoria[5].

A nivel celular, los microorganismos probióticos tienen varios posibles modos de acción. Pueden ser capaces de inhibir o matar bacterias patógenas y especies de lactobacilos a menudo se consideran valiosos aquí. Un segundo modo de acción es el de inhibir el apego de patógenos a la pared del tracto gastrointestinal. Las bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal necesitan adherirse a la pared del intestino para poder desarrollarse síndromes de enfermedad; si las células probióticas pueden efectivamente competir con los patógenos para sitios de unión o unirse a los patógenos, la virulencia de los patógenos será reducido. Pueden tener un efecto sobre la mucosa del huésped, superficies, incluyendo la boca, tracto gastrointestinal, superior tracto respiratorio y tracto urogenital. Defensa de la mucosa contra las bacterias es esencial para la homeostasis del huésped. En el caso del intestino colonizado, protección contra enteropatógenos depende en parte de los indígenas La microflora y los probióticos pueden desempeñar un papel aquí [6].

Los probióticos también se han implicado en la interacción directa, con el sistema inmune revisado por Isolauri. Muchos efectos probióticos están mediados por inmunos regulación y a través del equilibrio de proinflamatorios y citoquinas antiinflamatorias. La población de intraepiteliales Las células CD8⁺T se mejoraron significativamente en lechones tratados con un probiótico *Bacillus cereus* var. *Toyoii* y se suprimió la proliferación de células T humanas por cepas de *Lactobacillus* 3. Consumo de *Lactobacillus plantarum* por humanos sanos mostró una modulación de vías dependientes de NF-κB, que pueden estar relacionadas con el establecimiento de tolerancia inmune en sujetos sanos [7].

Hay una amplia gama de respuestas biológicas reportadas del tratamiento por varios probióticos. Estos biológicos las respuestas también se obtienen de una amplia gama de productos microbianos. La definición generalmente aceptada de los probióticos son microorganismos vivos no patógenos ingerido por la especie objetivo que puede ser humano, animal o aviar. Sin embargo, hay considerable evidencia publicada de que las preparaciones probióticas comprenden las células muertas y sus metabolitos también pueden ejercer un efecto biológico respuesta, en muchos casos similar a la observada con células vivas. En consecuencia, los probióticos consisten en vivos o muertos, las células y sus metabolitos pueden desempeñar un papel importante en mantenimiento de la salud y prevención de enfermedades en el huésped, incluida la modulación de las respuestas inmunes. Este es el quid de la paradoja probiótica donde parecen células vivas y muertas ser capaz de generar una respuesta biológica [8].

Un problema importante en la aplicación práctica de los probióticos, y también en la comprensión de su modo de acción es que a menudo se obtienen efectos heterogéneos. Esto bien puede ser debido a la diferente capacidad de las cepas probióticas para colonizar el tracto gastrointestinal. Dos cepas de lactobacilos, *L. johnsonii* y *L. paracasei*, se ha encontrado que tienen propiedades in vitro similares. Sin embargo, cuando estaban administrados a ratones libres de gérmenes colonizaron el intestino luz y translocado en tejidos linfoides de la mucosa en diferentes densidades. La cepa *L. johnsonii* colonizó el intestino muy eficiente a niveles altos mientras que el número de las células de *L. paracasei* disminuyó rápidamente y colonizó a niveles bajos. Ambas cepas pudieron activar las células B respuestas, pero hubo diferencias claras en los patrones de inmunoglobulinas en la mucosa y en la periferia. Por lo tanto, a pesar de propiedades similares in vitro, distintas Las cepas de lactobacilos pueden colonizar el tracto gastrointestinal de manera diferente y generar respuestas biológicas divergentes[9].

2. Metodología

Las células vivas en productos probióticos inevitablemente perderán viabilidad y los productos reales contendrán diferentes poblaciones de células muertas. La población de células muertas podría ser incluso más grande que el de las células vivas, pero esto no suele ser conocido. Esto afectará la evaluación de cualquier positivo respuesta cuando la dosis fue controlada por el número de células vivas. En la práctica, puede que no sea posible alimentar solo en vivo bacterias a un sujeto. Siempre habrá la posibilidad de que se administra una cantidad desconocida de células muertas con las células vivas[10].

Otra dificultad práctica con los probióticos es que idealmente deben establecerse dentro del aparato digestivo tracto y sobrevivir en cantidades suficientes. Sin embargo, para hacer esto necesitan ser de una cepa adecuada particular para el huésped animal y esto es difícil de lograr en la práctica, ya que los productos estandarizados deben ser producidos comercialmente. Además, un probiótico solo puede lograr un efecto transitorio. colonización del tracto gastrointestinal. Esto podrá surgir de una pérdida sustancial de viabilidad de los organismos en paso a través del ambiente relativamente hostil de la estómago e intestino delgado. Los organismos probióticos tendrán que sobrevivir bajo pH y enzimas proteolíticas. Sin embargo, muchas especies probióticas como *L. delbrueckii* y *Streptococcus thermophilus* no sobrevive fácilmente al estómago acidez. La recuperación de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* desde el leon terminal de minipigs fue de 0.04 a 0.5%. Tasas de recuperación del estreptococo total. *thermophilus* fueron 1.2 y 2.2%. Por lo tanto, algunos de los beneficios derivados de El consumo de estos probióticos es más probable que se acumulen por la presencia de metabolitos o de células probióticas muertas en el tracto gastrointestinal[11].

A pesar de la definición general de que los probióticos son microorganismos vivos, una variedad de respuestas biológicas han sido reportado por la administración de muertos, frecuentemente matados por calor, probióticos a varias especies de mamíferos y aves. los preparaciones de células muertas también se han fraccionado y Se ha demostrado que varios componentes celulares producen una gama de respuestas biológicas.

Una sola administración de *Enterococcus faecalis* matado por calor La preparación de FK-23 se evaluó para las respuestas inmunes en perros sanos. El probiótico no tuvo efecto sobre el recuento sanguíneo completo o con recuento diferencial de leucocitos. Sin embargo, el tratamiento causó un aumento de 1.4 veces en actividad fagocítica de neutrófilos en comparación con no tratada perros sanos Una sola administración de calor-matado Las bacterias probióticas aumentaron la resistencia del huésped a través de estimulación de respuestas inmunes no específicas in vivo[12].

Se han realizado considerables trabajos adicionales sobre el calor *E. faecalis*, que condujo a la producción de un comercial producto, EC-12. Este es un polvo seco de células matadas por calor que tiene una función inmunoestimuladora. Dietético EC-12 dado a pollitos recién nacidos a 0.05% de la alimentación estimulado el sistema inmune gastrointestinal y reforzó la reacción inmune contra un resistente a la vancomicina desafío de enterococos VRE para acelerar su defecación del intestino del pollito. Como se muestra, el frecuencia de detección % de VRE en hisopos cloacales de polluelos dado EC-12 en la alimentación fue menor en los días 3 y 7 en comparación con el grupo control y con un grupo dado pollo vivo *Lactobacillus* spp. El producto EC-12 es producido a partir de células muertas y no hubo tratamiento con células vivas de *E. faecalis*, por lo que no hay comparación directa entre Se pueden hacer células de *E. faecalis* vivas y muertas. Sin embargo, la preparación de células muertas fue claramente capaz de generar un respuesta biológica[13].

La concentración total de IgA en la digesta caeca fue mayor en el grupo EC-12 que en el grupo control. Suero total La concentración de IgG también tendió a ser mayor en la EC-12- pollitos tratados que en los otros tratamientos.

Esta podrá ser una técnica de tratamiento útil, como una vez VRE se establecen en una granja, es prácticamente imposible eliminarlos de los intestinos de los animales debido a sus múltiples resistencia contra antimicrobianos. Por lo tanto hay un necesidad real de estrategias alternativas para prevenir infecciones o para eliminar la colonización de VRE desde el tracto gastrointestinal tracto de animales.

En un estudio posterior, la administración de células muertas de EC-12 a pollos de engorde recién nacidos estimularon el producción del péptido antimicrobiano, b-defensina. Esta puede ser uno de los principales mecanismos de defensa que inhiben Colonización de VRE en polluelos jóvenes[14].

Tanto *E. faecalis* como *Lactobacillus* spp. son grampositivos Se sabe que las bacterias y sus paredes celulares estimulan la reacción inflamatoria que involucra macrófagos en el tracto gastrointestinal de mamíferos. También pueden inducir la activación de células B y estimular la secreción de IgA en el intestino. Este tipo de inmunoestimulación puede conducir a una eliminación rápida del patógeno del tracto digestivo en polluelos La disminución rápida relativa en la detección de VRE con El tratamiento EC-12 sugiere la participación de El sistema inmune innato. Como EC-12 se deriva de muertos células el efecto protector de este material es probable que sea un inmunoestimulación Una posible ventaja al usar un muerto la preparación celular es que no puede adquirir y

transmitir el plásmido resistente a vancomicina VCM de VRE. Ahí esta Evidencia claramente sustancial de que las preparaciones de *E. faecalis* tiene un efecto inmunomodulador en ambos perros y polluelos[15].

Las bifidobacterias son organismos gramnegativos no patógenos. que se usan con frecuencia en productos lácteos como probiótico adjunto. Marin y col mostraron que varias cepas de las bifidobacterias tenían una actividad inmunopotenciadora en clonal macrófagos murinos y líneas de células T. Hubo considerable variación en la actividad entre las catorce cepas diferentes de las bifidobacterias estudiadas, pero cuatro cepas utilizadas en los productos lácteos comerciales fueron las más estimulantes. Esta inmunomodulación podrá ser provocada por calor matado bifidobacterias que fueron capaces de inducir pronunciadas aumentos, de hasta varios cientos de veces, en la producción de TNF- α comparado con el de los controles. Producción de IL-6 también aumentado significativamente. Tras la estimulación concurrente de la macrófagos con lipopolisacárido habrá sustanciales aumento de la producción de TNF- α e IL-6 cuando fueron cultivados con bifidobacterias. Parece que un directo interacción de bifidobacterias con macrófagos mejorada producción de citoquinas. Claramente, las bifidobacterias matadas por el calor son capaz de actuar como modificadores de la respuesta biológica aunque el La respuesta observada aquí fue proinflamatoria. Moderar la estimulación de citocinas proinflamatorias podrá ser beneficioso para mantener un buen equilibrio inmunológico y aumento de la resistencia a las infecciones. Sin embargo, alto las concentraciones de TNF- α no son deseables. Ahí esta sin duda el potencial de células probióticas muertas para tener efectos adversos y cuidadosa detección y selección de cepas aún ser requerido[16].

Las células epiteliales gastrointestinales secretan una variedad de citoquinas inflamatorias después de la estimulación por patógenos bacterias En particular, IL-6 se produce en respuesta a infección bacteriana. Esta es una citocina multifuncional involucrado en diversos procesos biológicos como el huésped respuesta a patógenos entéricos, reacciones de fase aguda, hematopoyesis, factor de crecimiento normal o neoplásico células y diferenciación terminal de linfocitos B. Esta La interleucina ha sido considerada tradicionalmente el producto de células proinflamatorias. Sin embargo, también se sabe que IL-6 posee varias características antiinflamatorias como su capacidad de regular a la baja los monocitos inducidos por lipopolisacáridos IL-1 y TNF- α expresión de ARNm. Ambas viables y las células probióticas no viables fueron capaces de estimular IL-6 producción en células epiteliales murinas del intestino Delgado[17].

La reducción de la producción de IL-6 cuando intestinal las células epiteliales fueron tratadas con bacterias vivas a una dosis una tasa de 1×10^8 células / ml podrá deberse a una disminución en el pH del medio de cultivo por las bacterias metabólicamente activas. Esto es consistente con los resultados para las bacterias que matan el calor donde la producción de IL-6 aumenta a medida que la carga bacteriana aumentado.

Chuang y col mostraron que tres cepas de *Lactobacillus* pudieron modular las respuestas inmunitarias mediante estimulando la proliferación de esplenocitos murinos. Adicionalmente, estas células probióticas matadas por el calor también estimularon niveles altos secreción de IL-12 p70 en células dendríticas de ratones y cambiaron las células T helper a T helper 1 Th1 inmune respuestas Los componentes de las células lactobacilos tienen la potencial para jugar un papel importante en la modulación inmune respuestas y reacciones alérgicas, pero esto no depende de Las células están vivas[18].

Tanto el *Lactobacillus* GG vivo como el matado por calor tienen un antiinflamatorio efecto en ratas que sufren de experimentación artritis. Esto es similar al tratamiento oral con vivo. *L. reuteri* que atenuó significativamente una vía a área alérgica respuesta en ratones. Claramente el efecto antiinflamatorio de estos probióticos no dependió de la viabilidad de El microorganismo. En marcado contraste con estos resultados, Ma y col informaron que los cultivos vivos de *L. reuteri* eran esencial para un efecto inhibitorio sobre la expresión de IL-8 en líneas celulares epiteliales humanas. IL-8 es un mediador importante de El sistema inmune innato. La citocina proinflamatoria TNF- α induce la producción de IL-8 y esto solo podrá ser suprimido por células probióticas vivas. Ni matado por el calor ni Las células irradiadas con g pudieron generar una respuesta. Esta ejemplifica la dificultad de llegar a un consenso general sobre la acción de los probióticos. En estos dos estudios con Se utilizaron diferentes modelos experimentales de *L. reuteri*, ratones v. un modelo in vitro con células epiteliales humanas .

Se ha publicado una cantidad considerable de trabajo sobre las interacciones de los probióticos y TNF- α y otros citoquinas El probiótico *L. rhamnosus* GG modulado la liberación de IL-8 inducida por TNF- α de las células Caco-2. Altas dosis de *L. rhamnosus* GG vivo en ausencia de TNF- α en realidad indujo la producción de IL-8. Matado por el calor los probióticos también redujeron la producción de IL-8 de Células inducidas por TNF- α . Sin embargo, por sí

mismos, células muertas causó solo un pequeño aumento en la producción de IL-8. Esta sugerencia que los probióticos matados por calor pueden prevenir el intestino inflamación sin el posible efecto proinflamatorio exhibido cuando el epitelio intestinal está expuesto a altas cantidades de *L. rhamnosus* GG.

El trabajo adicional con TNF-a mostró que seis mataron al calor Las cepas de *Lactobacillus* tuvieron un efecto proinflamatorio al inducir la secreción de TNF-a del esplénico del ratón. células mononucleares. Sin embargo, había una clara diferencia. entre cepas El *L. rhamnosus* más activo inducido aproximadamente cuatro veces más TNF-a que el menos activo *L. casei*. Parece que la cepa *Lactobacillus L. rhamnosus* es particularmente eficaz para inducir la producción de TNF-a. Además, estos ejemplos sugieren que tanto las células probióticas vivas como las muertas pueden tener un efecto fuera del tracto gastrointestinal, según lo revisado por Lenoir-Wijnkoop y col[19].

Un problema potencial con las células probióticas vivas es que puede causar alguna patología propia, particularmente en pacientes severamente inmunodeficientes. Sin embargo, el uso de tanto *L. acidophilus* como *L. casei* matados por calor fueron capaces de inducir una protección limitada contra la infección con *Candida albicans* en ratones inmunodeficientes. En ratones que había sido cuestionado por *C. albicans*, tratamiento con los probióticos matados por calor suprimieron la candidiasis orofaríngea 2 semanas después de la colonización y también suprimió el número de células viables de *C. albicans* en el tracto gastrointestinal. Las células muertas de estos probióticos no exacerbaron ninguna problemas y pudimos ofrecer una protección limitada contra la candidiasis en ratones inmunodeficientes.

La colitis experimental como modelo de enfermedad puede ser inducida en Ratas Wistar por tratamiento con indometacina. Tratamiento con un probiótico patentado administrado por vía oral o subcutáneamente tuvo un efecto antiinflamatorio y Prevención de lesiones gastrointestinales. La respuesta fue obtenido con células probióticas vivas y muertas. Abastecimiento el sulfato de sodio de dextrano en el agua potable también puede inducir colitis experimental en ratones y este es otro útil modelo para estudiar el efecto de los probióticos. La severidad de esta colitis experimental fue atenuada por cualquiera no viable irradiado con g, o por probióticos viables, pero no por calor probióticos en este caso. Los probióticos utilizado aquí fueron una preparación comercial que contiene cuatro cepas de lactobacilos, tres cepas de bifidobacterias y una cepa de estreptococo salivarius subsp. *Thermophilus*.

Investigaciones posteriores mostraron que el experimento la colitis se mejoró mediante la administración de probióticos ADN. Sin embargo, ADN probiótico metilado, timo de ternera El ADN y los probióticos tratados con ADNasa no tuvieron efecto. Estas Los resultados sugieren que los efectos protectores de los probióticos en este instancia fueron mediadas principalmente por su propio ADN en lugar que por sus metabolitos o su capacidad de colonizar colon. El tratamiento térmico puede haber desnaturalizado el ADN para que las células matadas por calor ya no estaban activas[20].

Administración oral de *Bacillus polyfermenticus* por vía oral. la administración protegió la mucosa colónica del ratón de respuestas inflamatorias debidas a colitis inducida por sulfato sódico de dextrano o por 2,4,6 trinitrobenzenosulfónico ácido. Las respuestas biológicas vistas aquí tanto con vivo y las células muertas son el resultado de la interacción de los probióticos con la mucosa gastrointestinal en lugar de con la microflora. Son los componentes moleculares del probiótico que generar la respuesta biológica y esto probablemente podrá lograrse con células vivas o muertas. Lo más probable modo de acción es a través de la estimulación de Toll-like receptores que ejercen un efecto inmunomodulador en El tracto gastrointestinal.

L. reuteri o medio vivo, matado por calor o irradiado con g conteniendo metabolitos de la bacteria fueron por vía oral administrado a ratas que sufren dolor visceral inducido por distensión colorrectal. El tratamiento probiótico inhibido La respuesta al dolor a la distensión colorrectal a través de los efectos. en nervios entéricos. Este es otro ejemplo donde muerto las células probióticas parecen tener un efecto fuera del tracto gastrointestinal.

Enfermedades alérgicas como dermatitis atópica, eccema atópico. y la rinitis alérgica son problemas sociales graves en muchos países. Estas enfermedades alérgicas se caracterizan por un elevación en los niveles séricos de IgE, que a su vez es generalmente se cree que es causado por un equilibrio sesgado entre Th1 y Células T helper tipo 2 Th2 . El equilibrio de los dos tipos. de las células se considera importante para mantener homeostasis del huésped. *L. casei* cepa Shirota fue asesinada por calentamiento y liofilizado antes de ser usado para tratar ratones que se inyectó por vía intraperitoneal con ovoalbúmina OVA para inducir la producción de IgE. Tratamiento con el *Lactobacillus*

matado por calor redujo la producción total de IgE en suero de ratón. Esto sugiere que la administración de heatkilled las células de *L. casei* cepa Shirota podrán ser un tratamiento contra enfermedades alérgicas.

Un total de cincuenta y nueve cepas de *L. brevis* matadas por calor fueron examinadas por su capacidad para inducir IL-12 e interferón- γ de las células de parches de Peyer del ratón. Cepas que fueron seleccionadas por su capacidad para inducir un fuerte sistema inmune Th1 la respuesta inhibió tanto la IgE total como la IgE específica de antígeno producción y mejoró el equilibrio Th1 / Th2 al mejorar IL-12 e interferón- γ e inhibiendo la producción de IL-4 de Esplenocitos de ratón sensibilizados con OVA.

Estos resultados in vitro fueron seguidos por ensayos con animales, utilizando ratones. Una cepa particular de *L. brevis*, SBC8803, fue alimentada a ratones sensibilizados con OVA al 0,5% de la dieta durante 4 semanas. IgE total y específica de OVA en el suero de ratones que fueron alimentados con la bacteria eliminada por calor fue significativamente más bajo que el de los ratones de control. El interferón- γ / IL-4 valor, que representa el saldo Th1 / Th2, desde los esplenocitos de los ratones alimentados con *L. brevis* fue significativamente mayor que la observada en los esplenocitos de los ratones control no alimentados a *L. brevis*. Los resultados mostrados aquí para *L. casei* Shirota y *L. brevis* probablemente se debieron a los probióticos matados por calor que mejoraron el Th1 / Th2 equilibrio a favor de un predominio de células Th1.

En un estudio posterior, veinte cepas de calor mataron los lactobacilos aislados de sujetos humanos se examinaron para su actividad estimuladora para producir citocinas por murinos esplenocitos in vitro y por su capacidad para suprimir IgE producción cuando se administraron por vía oral a alérgicos ratones. Una cepa de *L. gasseri* tuvo un mayor estímulo actividad de la producción de citoquinas IL-12 que la otra Lactobacilos probados. La administración oral de *L. gasseri* fue más eficaz para reducir la IgE específica de antígeno sérico niveles en ratones sensibilizados con OVA en comparación con otros lactobacilos y el control. Además, el la actividad estimuladora para la producción de IL-12 se redujo después de tratar los lactobacilos con N-acetil-muramidasa y tendió a estar positivamente correlacionado con la cantidad de peptidoglicano en las células.

Varios informes diferentes indican que el calor mató cepas de lactobacilos - *L. casei* cepa Shirota, *L. brevis* y *L. gasseri*: pueden mejorar el equilibrio Th1 / Th2 e inhibir la producción de IgE. Claramente, las células probióticas muertas pueden actuar como modificadores de la respuesta biológica para enfermedades alérgicas.

Otro efecto de los probióticos es el de reducir el colesterol. Once cepas de lactobacilos fueron capaces de eliminar entre 31 y 97% de colesterol del medio, entonces esto fenómeno puede ser un efecto general de los probióticos. Una vez más, tanto las células vivas como las muertas por calor pudieron eliminar colesterol. Colesterol eliminado por células muertas o en reposo varió de 0,79 a 3,82 mg / g de peso seco en comparación con células en crecimiento, que oscilaron entre 4,53 a 16,03 mg / g de peso seco. Células de lactococos y de células muertas por calor. los lactobaccilli también pudieron absorber el colesterol aunque a un ritmo menor que las células vivas. Esto probablemente se deba a se une a la superficie celular. Cepas de lactococos y de los lactobaccilli probablemente eliminan el colesterol por dos mecanismos. Uno es a través de la asimilación del colesterol viviendo células y dos es mediante la unión a las paredes celulares. Adhesión a la superficie celular podrá ocurrir tanto en vivos como en muertos las células y, por lo tanto, las células muertas pueden ser candidatos prometedores como suplemento dietético para reducir el colesterol en suero.

Existe evidencia considerable de que no solo las células muertas, sino También los metabolitos y las fracciones celulares de los probióticos pueden ejercer una respuesta biológica. Varios componentes microbiológicos. tales como homogeneizados celulares, b-glucanos, teicoico y ácidos lipoteicoicos, peptidoglucanos, lipopolisacáridos y el ADN tienen un efecto inmunomodulador, probablemente a través de la estimulación del sistema inmune innato.

Los homogeneizados tratados térmicamente se prepararon a partir de diversas bacterias probióticas; *L. rhamnosus* GG, *Bifidobacterium lactis*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Todos los homogeneados suprimieron fitohemaglutinina proliferación inducida de sangre humana células mononucleares periféricas. Cuando los ensayos de proliferación se repitieron con extractos citoplasmáticos y de pared celular derivado del homogeneado de *L. rhamnosus* GG, el extracto citoplasmático, pero no el extracto de la pared celular, fue supresivo. Estas bacterias poseen un antiproliferativo termoestable. componente que no está asociado con el pared celular.

Las respuestas biológicas mediadas por probióticos también han sido demostradas en células de pescado. Dos líneas de células de peces teleosteos SAF-1, una línea celular de fibroblastos y epiteloma papuloso chipriota EPC, un epiteloma de carpa, se utilizaron. Estas células proliferan rápidamente y las respuestas biológicas se analizaron como un efecto antiproliferativo y la inducción de apoptosis. Las células se cultivaron en presencia de citoplasma. extractos de dos cepas probióticas de *L. delbrueckii* subsp. *lactis*. Las células SAF-1 fueron más susceptibles al crecimiento. inhibición por los extractos probióticos que fueron las células EPC. La apoptosis tuvo lugar después de la inhibición del crecimiento, que indicó que los extractos citoplasmáticos de bacterias probióticas fueron capaces de ejercer una respuesta inmunológica en cultivo células de pescado.

Estos estudios son un buen modelo para las respuestas de bacterias comensales y patógenas en el tubo digestivo tracto. En general, las bacterias y los homogeneizados bacterianos de la microflora gastrointestinal comensal no estimula proliferación de células mononucleares y esto juega un papel importante en el mantenimiento de la hiporeactividad a antígenos extraños. Los patógenos, por el contrario, estimulan la proliferación de células inmunes de la mucosa y esto produce una reacción inflamatoria. Contenido celular de probióticos las bacterias suprimen las respuestas inmunes in vitro en sangre humana células mononucleares y en células de peces, lo que sugiere que esto puede ser una respuesta generalizada. Esto tiene interesantes posibilidades para un mayor desarrollo de probióticos productos Los extractos celulares no viables probablemente tendrán una larga vida útil y ser más fáciles de almacenar en la práctica comercial.

Extractos crudos y ácidos lipoteicoicos purificados de *L. casei* y *L. fermentum* podrán inducir significativamente TNF- α secreción de células mononucleares esplénicas de ratón. Esta sugiere que los ácidos lipoteicoicos purificados pueden ser mejores candidato para uso clínico que bacterias enteras ya que no contienen otros componentes bacterianos que puedan causar efectos secundarios.

En ratones con colitis inducida experimentalmente, el ADN de una mezcla probiótica comercial mejoró la gravedad de la enfermedad. ADN probiótico metilado, timo de ternera Los probióticos tratados con ADN y ADNasa no tuvieron efecto.

El tratamiento oral de ratones con ADN probiótico resultó en una reducción en la secreción mucosa de TNF- α y una mejora en enfermedad histológica. Es interesante notar aquí que el ADN probiótico fue efectivo cuando se administró por vía oral. La posibilidad de dosificación oral es una gran ventaja para la aplicación práctica de los probióticos. En estos ejemplos también Los efectos protectores de los probióticos fueron mediados por su ADN en lugar de por la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal.

Polisacáridos extracelulares de *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1 fueron capaces de generar una respuesta inmunomoduladora. Fraccionamiento de estos los polisacáridos produjeron un alto peso molecular activo fosfopolisacárido ácido que contiene D-glucosa y D-galactosa. Estimulación de esplenocitos de ratón por este ácido El polisacárido aumentó significativamente la producción de interferón- γ . Administración oral del fosfopolisacárido a ratones aumentó la actividad de las células asesinas naturales. Producción de el fosfopolisacárido activo era específico de la cepa en ese *L. bulgaricus* OLL1256 y *Strep. thermophilus* OLS3059 no tuvo un efecto inmunomodulador.

Los b-glucanos en particular se han denominado modificadores de respuesta biológica, pero este término puede ser aplicado a muchos componentes diferentes de origen microbiano. Tales respuestas claramente no tienen nada que ver con vivir o ser viable. preparaciones probióticas. b-glucanos extraídos de la célula Las paredes de *Saccharomyces cerevisiae* son capaces de potenciar el sistema inmunitario. Una tasa de dosis de 50 partes por millón ppm fue capaz de mejorar la tasa de crecimiento de los cerdos. El modo de la acción puede estar relacionada con respuestas inmunes, como los b-glucanos a 50 ppm parcialmente suprimido aumenta en plasma concentración de IL-6 y TNF- α provocada por un desafío con lipopolisacáridos. Había un aumento de IL-6 hasta 415 ng / ml sin b-glucanos, pero solo 349 ng / ml con b-glucanos. Del mismo modo, el aumento de TNF- α se redujo de 5,94 a 4,67 ng / ml. Por el contrario, los b-glucanos aumentó el aumento en las concentraciones plasmáticas de IL-10.

Las citocinas IL-6 y TNF- α son proinflamatorias y no solo modulan la inmunidad sino que también pueden Regular el metabolismo de los nutrientes y causar efectos perjudiciales. sobre el rendimiento animal. IL-10 es un antiinflamatorio citocina que suprime la actividad de la transducción de NF- κ B, que es un importante factor de transcripción de proinflamatorios citoquinas Por lo tanto, si se alimentan los b-glucanos promueve la secreción de

citocinas antiinflamatorias como la IL-10 y disminuye la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF-a e IL-6, entonces menos activación de se lograr á el sistema inmune, lo que podr á resultar en mejor rendimiento de crecimiento.

Est á claro que tanto las c éulas vivas como las muertas en los productos probióticos puede generar una amplia gama de respuestas biológicas. Las respuestas biológicas específicas generadas por los muertos. las c éulas probióticas se resumen. Estas respuestas se han obtenido de estudios de cultivo celular in vitro y de estudios in vivo con ratones, ratas, perros y pollos.

Muchas de las respuestas biológicas encontradas con ambos viven y los probióticos muertos no son efectos antimicrobianos pero son, más bien, efectos inmunomoduladores. Con frecuencia parecen ejercer un efecto antiinflamatorio sobre las c éulas de El tracto gastrointestinal. Esto es bastante an álogo al modo de acción propuesto de los promotores de crecimiento antimicrobianos en producción animal.

Los promotores de crecimiento antimicrobiano tienen desde hace muchos años demostró ser eficaz para mejorar el crecimiento y la alimentación eficiencia en especies como cerdos y aves de corral. Estas los promotores de crecimiento antimicrobianos son, de hecho, antibióticos añadidos a la alimentación de animales en bajas cantidades subterapéuticas. A pesar de su uso generalizado durante muchos años, la precisión modo de acción de los promotores de crecimiento antimicrobiano tiene nunca ha sido aclarado de manera concluyente.

3.Resultados

Parece, sin embargo, que un mecanismo antibiótico para el el modo de acción de los promotores de crecimiento antimicrobianos es poco probable y que su objetivo no sea la microflora en el tracto gastrointestinal. La mayoría de los antibióticos también tienen un no antibiótico, efecto antiinflamatorio sobre las c éulas de la tracto gastrointestinal. Atención la inflamación respuesta. En consecuencia, los niveles de proinflamatorio Las citocinas serán más bajas que las de los animales no tratados.

El efecto de los probióticos podr á ser doble. donde las c éulas probióticas vivas podr án influir en el aparato digestivo microflora y tienen una inmunomodulación efecto, mientras que los componentes de las c éulas muertas podr án ejercer una respuesta antiinflamatoria. sin embargo, el La importancia relativa de estos dos efectos es difícil de evaluar desde una respuesta inmunomoduladora tanto de vivo como las c éulas probióticas muertas han sido ampliamente investigadas. Las c éulas probióticas muertas no son un requisito necesario para generan una respuesta biológica pero pueden ser suficientes.

Por lo tanto, los efectos positivos mostrados tanto en vivo como preparaciones de probióticos muertos ilustran la paradoja probiótica. Los hallazgos de que los probióticos vivos pueden no ser obligatorios para ser beneficioso podr á tener un gran impacto en el uso práctico y fabricación de probióticos. Sera difícil evaluar la proporción de c éulas muertas en un probiótico viable cultura. En consecuencia, cantidades variables de c éulas muertas podr án bien contribuir a la variación en la respuesta a menudo visto con Cultivos probióticos vivos. Por el contrario, es relativamente fácil demostrar que cultivos de productos probióticos muertos No contiene c éulas vivas. Productos basados en c éulas muertas será relativamente fácil de estandarizar y tendrá un Larga vida útil. También el uso de c éulas muertas permitir á un una gama más amplia de microorganismos para ser considerados como probióticos Claramente con cultivos vivos, solo se pueden utilizar especies no patógenas bien reconocidas. Productos basados en Se podr án producir c éulas muertas a partir de muchas especies de microorganismos.

El uso de probióticos muertos como respuesta biológica. modificadores tiene varias otras ventajas atractivas. Ahi esta siempre el riesgo de que las bacterias probióticas vivas puedan causar alguna patología propia. Sujetos severamente inmunodeficientes puede estar en riesgo por el tratamiento con probióticos vivos y por lo tanto, el uso de c éulas muertas será una alternativa más segura. Es probable que las c éulas muertas no sufran la baja Condiciones de pH en el estómago. También puede ser posible producir microbiológicamente no viable pero inmunológicamente Productos alimenticios probióticos activos que son más fáciles de almacenar y tener una larga vida útil.

4.Conclusiones

La actividad modificadora de la respuesta biológica de los muertos. las c éulas probióticas es claramente algo similar a un oral respuesta de inmunización de una vacuna. En terneros, el uso de un vacuna viva basada en Salmonella

typhimurium dio excelente protección contra una infección por un desafío cepa virulenta de *S. typhimurium*. Inmunización oral de ratones con una vacuna basada en *S. typhimurium* muerto también bastante efectivo. Una vacuna preparada a partir de formalina muerta células de *Escherichia coli* enterotoxigénicas inducidas Una fuerte respuesta inmune en sujetos humanos. Similar, una dosis oral de *Pseudomonas* de células enteras inactivadas la vacuna aeruginosa administrada a voluntarios humanos no tenía implicaciones adversas para la seguridad. También hubo un significativo aumento de la matanza intracelular de macrófagos de opsonizados *P. aeruginosa* en presencia de sueros posvacunación.

Existe evidencia sustancial de estudios in vitro y estudios en animales de que tanto las células probióticas vivas como las muertas pueden actuar como modificadores de la respuesta biológica. Estas observaciones Sugerir que un suplemento alimenticio basado en probióticos muertos las células podrán representar una etapa intermedia entre un vacuna oral y un clásico probiótico vivo. Tal producto podrá tener aplicaciones tanto en la cría de animales como en salud humana.

Referencias

- [1] Golkhalkhali, B., Rajandram, R., Paliyany, A.S., Ho, G.F., Wan Ishak, W.Z., Johari, C.S., Chin, K.F. "Strain-specific probiotic microbial cell preparation and omega-3 fatty acid in modulating quality of life and inflammatory markers in colorectal cancer patients: a randomized controlled trial", 2018 *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 14 3 , pp. 179-191.
- [2] Sherf-Dagan, S., Zelber-Sagi, S., Zilberman-Schapira, G., Webb, M., Buch, A., Keidar, A., Raziell, A., Sakran, N., Goitein, D., Goldenberg, N., Mahdi, J.A., Pevsner-Fischer, M., Zmora, N., Dori-Bachash, M., Segal, E., Elinav, E., Shibolet, O. "Probiotics administration following sleeve gastrectomy surgery: A randomized double-blind trial", 2018 *International Journal of Obesity*, 42 2 , pp. 147-155.
- [3] D'Accolti, M., Soffritti, I., Piffanelli, M., Bisi, M., Mazzacane, S., Caselli, E. "Corrigendum: Efficient removal of hospital pathogens from hard surfaces by a combined use of bacteriophages and probiotics: Potential as sanitizing agents *Infect Drug Resist* 2018, 11 1015-1026 , 10.2147/IDR.S170071 ", 2018 *Infection and Drug Resistance*, 11, p. 1521.
- [4] Guevorkyan, A.G., Alchujyan, N.K., Madoyan, R.A., Sargsyan, H.H., Hovhannisyanyan, M.R., Aghababova, A.A., Aznauryan, A.V., Aghajanyan, M.I. "Effects of the selected probiotic mixture in free and immobilized forms on the pathophysiology of sodium dextran sulphate-induced ulcerative colitis and associated mood disturbances", 2018 *New Armenian Medical Journal*, 12 1 , pp. 20-33.
- [5] Van Biervliet, S., Hauser, B., Verhulst, S., Stepman, H., Delanghe, J., Warzee, J.-P., Pot, B., Vandewiele, T., Wilschanski, M. "Probiotics in cystic fibrosis patients: A double blind crossover placebo controlled study: Pilot study from the ESPGHAN Working Group on Pancreas/CF", 2018 *Clinical Nutrition ESPEN*, 27, pp. 59-65.
- [6] Ibrahim, N.S., Muhamad, A.S., Ooi, F.K., Meor-Osman, J., Chen, C.K. "The effects of combined probiotic ingestion and circuit training on muscular strength and power and cytokine responses in young males", 2018 *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, 43 2 , pp. 180-186.
- [7] Súkeníková, L., Černý, V., Novotná, O., Petrásková, P., Boráková, K., Kolářová, L., Prokešová, L., Hrdý, J. "Different capacity of in vitro generated myeloid dendritic cells of newborns of healthy and allergic mothers to respond to probiotic strain *E. coli* O83:K24:H31", 2017 *Immunology Letters*, 189, pp. 82-89.
- [8] Splichalova, A., Jenistova, V., Splichalova, Z., Splichal, I. "Colonization of preterm gnotobiotic piglets with probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG and its interference with *Salmonella Typhimurium*", 2019 *Clinical and Experimental Immunology*, 195 3 , pp. 381-394.
- [9] Offei, B., Vandecruys, P., De Graeve, S., Foulquié-Moreno, M.R., Thevelein, J.M. "Unique genetic basis of the distinct antibiotic potency of high acetic acid production in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii*", 2019 *Genome Research*, 29 9 , pp. 1478-1494.
- [10] Trivić, I., Mlakar, A.S., Hojsak, I. "The role of probiotics in the prevention of necrotizing enterocolitis", 2019 *Current Pediatric Reviews*, 15 2 , pp. 88-91.
- [11] Musa Trolic, I., Todoric, Z., Pop Acev, D., Makreski, P., Pejova, B., Spalj, S. "Effects of the presence of probiotic bacteria in the aging medium on the surface roughness and chemical composition of two dental alloys", 2019 *Microscopy Research and Technique*, 82 9 , pp. 1384-1391.
- [12] Romo-Araiza, A., Ibarra, A. "Prebiotics and probiotics as potential therapy for cognitive impairment", 2020 *Medical Hypotheses*, 134, art. no. 109410.
- [13] Cerrada W, Velasco A (2017) "Evaluation of emergency services for trauma attention in Merida, Venezuela", *MEDULA*, Volume 26, Issue 2, Pages 31-37

- [14] Eigenmann, P. “Local rhinitis needs allergen-challenges for diagnosis, late infancy supplementation of probiotics prevents eczema, and milk oral immunotherapy is effective in the long term”, 2019 *Pediatric Allergy and Immunology*, 30 3 , pp. 257-258.
- [15] Shamriz, O. “Probiotics and autoimmunity: Current evidence”, 2018 *Autoimmunity Reviews*, 17 11 , pp. 1150-1151.
- [16] Isidro, R.A., Lopez, A., Cruz, M.L., Gonzalez Torres, M.I., Chompre, G., Isidro, A.A., Appleyard, C.B. “The Probiotic VSL#3 Modulates Colonic Macrophages, Inflammation, and Microflora in Acute Trinitrobenzene Sulfonic Acid Colitis”, 2017 *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 65 8 , pp. 445-461.
- [17] Weizman, Z. “Consider this probiotic for functional abdominal pain”, 2017 *Journal of Family Practice*, 66 7 , p. 419.
- [18] Sedlmayer, F., Fussenegger, M. “Synthetic biology: A probiotic probe for inflammation”, 2017 *Nature Biomedical Engineering*, 1 7 , art. no. 0097.
- [19] Amaral, M.A., Guedes, G.H.B.F., Epifanio, M., Wagner, M.B., Jones, M.H., Mattiello, R. “Network meta-analysis of probiotics to prevent respiratory infections in children and adolescents”, 2017 *Pediatric pulmonology*, 52 6 , pp. 833-843.
- [20] Beyitler, I., Kavukcu, S. “Probiotics for prophylaxis and treatment of urinary tract infections in children”, 2017 *Iranian Journal of Pediatrics*, 27 2 , art. no. e7695.