

2010 Diciembre, 2(2): 1-2

PERSISTENCIA INTESTINAL Y EFECTO INMUNOMODULADOR DE ENTEROCOCCUS FAECALIS CECT7121 EN RATONES INMUNOSUPRIMIDOS CON DEXAMETASONA

Del Coco VF^{1,2}, Córdoba MA^{1,3}, Sparo MD¹, Basualdo JA¹

¹ Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. Calle 60 y 120 s/n. La Plata (1900). ² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. ³ Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

e-mail: vdelcoco@aetos.med.unlp.edu.ar

Introducción

Los agentes bioterapéuticos son microorganismos vivos que a través de su acción local o general producen efectos profilácticos y/o terapéuticos sobre ciertas enfermedades en humanos. Dentro de este grupo se encuentran los probióticos, microorganismos vivos que al ser administrados en dosis adecuadas confieren efectos beneficiosos a la salud del hospedador. Los probióticos tienen efectos beneficiosos en la prevención y/o tratamiento de varias enfermedades entéricas. *Enterococcus faecalis* CECT 7121 (*Ef* 7121), una cepa aislada de un ensilado de maíz cumple con varios requisitos para ser considerado un probiótico. Resiste: pH gástrico, presencia de bilis, persiste en intestino de ratones BALB/c inmunocompetentes y produce una bacteriocina con actividad inhibitoria sobre *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y algunas cepas de *Escherichia coli*.

El **objetivo** de este trabajo fue evaluar la persistencia intestinal y el efecto inmunomodulador de *Ef*7121 en ratones inmunosuprimidos con dexametasona (DXM).

Ratones N: NIH-Swiss machos de 4 semanas de edad (n=24) fueron distribuidos al azar en 4 grupos.

Grupo I: ratones inmunosuprimidos por vía oral con 200 ug/día DXM durante 19 días que los días 8, 9 y 10 de la experiencia recibieron x vía oral PBS.

Grupo II: ratones inmunosuprimidos por vía oral con 200 ug/día DXM durante 19 días que los días 8, 9 y 10 de la experiencia recibieron x vía oral una suspensión 1×10^7 UFC/ml de *Ef* 7121.

Grupo III: ratones no inmunosuprimidos que los días 8, 9 y 10 de la experiencia recibieron x vía oral PBS.

Grupo IV: ratones no inmunosuprimidos por vía oral con 200 ug/día DXM que los días 8, 9 y 10 de la experiencia recibieron x vía oral una suspensión 1×10^7 UFC/ml de *Ef*7121.

Los animales fueron sacrificados 3 y 6 días post última inoculación de *Ef*7121 para evaluar persistencia intestinal y estado inmunológico. Un score de salud diario fue utilizado.

Valoración de la persistencia intestinal de *Ef*: Los intestinos fueron extraídos y posteriormente homogeneizados en PBS para evaluar persistencia. Diluciones seriadas fueron sembradas en medios selectivos para recuento de enterobacterias y enterococos. La caracterización fenotípica fue realizada por pruebas bioquímicas. Colonias al azar de *E. faecalis* (n=10) fueron sometidas a pruebas de inhibición para evaluar su actividad sobre *L. monocytogenes* CEB101, *S. aureus* CEB162 y *E. coli* MR34. Para el análisis estadístico se empleó test de Student.

Evaluación del efecto inmunomodulador: De cada ratón sacrificado, el bazo fue extraído para evaluar el estado de inmunosupresión alcanzado tras la administración de dexametasona. El recuento total de células de bazo sin y con estímulo mitógeno (Concavalina A –ConA-) fue llevado a cabo por Elisa mediante kit comercial (BD Biosciences).

Para el análisis estadístico, se utilizó análisis de varianza (ANOVA).

Resultados

En todas las muestras de intestino se recuperaron *E. coli* y *P. mirabilis*. En el grupo inoculado con *Ef*7121 el promedio de UFC/g de intestino de *E. coli* al día 3 postinoculación fue: $5,2 \times 10^8 \pm 6,2 \times 10^7$ mientras que al día 6 fue: $5,4 \times 10^7 \pm 1,9 \times 10^7$. En el grupo control los recuentos fueron: $5,1 \times 10^8 \pm 7 \times 10^7$ y $5,4 \times 10^8 \pm 1,9 \times 10^8$ respectivamente. En el grupo inoculado con *Ef*7121 los recuentos de *P. mirabilis* al día 3 fueron: $2,6 \times 10^3 \pm 2,4 \times 10^3$ y al día 6: $8 \times 10^3 \pm 1,3 \times 10^3$ mientras que en el grupo control fueron: $2 \times 10^3 \pm 1,6 \times 10^3$ y $7 \times 10^3 \pm 1,2 \times 10^3$ respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en los recuentos de la microbiota endógena al comparar ambos grupos. El promedio de UFC/g de

2010 Diciembre, 2(2): 2-2

intestino de *E. faecalis* al día 3 postinoculación fue: $5 \times 10^5 \pm 1,3 \times 10^5$ mientras que al día 6 fue: $1 \times 10^5 \pm 1,4 \times 10^5$. Todas las colonias demostraron inhibición sobre las cepas indicadoras sensibles, caracterizándose como *Ef7121*. Los ratones control e inoculados presentaron igual score de salud.

El conteo de las células de bazo mostró diferencias significativas entre los grupos I y II respecto a los grupos III y IV tanto al día 3 como al 6 postinoculación ($p < 0,001$ y $p < 0,01$ respectivamente). Respecto a la proliferación de células de bazo con estímulo mitógeno, la administración de *Ef* produjo al día 3 postinoculación, una disminución del número de células tanto en los animales inmunosuprimidos como inmunocompetentes. Este efecto no se mantuvo al día 6 postinoculación.

Conclusiones

Ef7121 fue capaz de persistir durante por 6 días en el intestino de ratones N:NIH-Swiss sometidos a inmunosupresión química con DXM en valores del orden de 10^5 UFC/g, sin desplazar la microbiota endógena. El efecto inmunomodulador de *Ef7121* se observa a los 3 días postinoculación pero no al día 6, lo cual indicaría que para mantener dicho efecto es necesaria su administración continua.