



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas
Programa de Magister en Ciencias mención en Microbiología

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTI- *Helicobacter pylori* SS1 POR *Lactobacillus fermentum* UCO-979C
ENCAPSULADA EN CARRAGENINA KAPPA Y LAMBDA:
ESTUDIOS *IN VIVO* SOBRE GERBOS DE MONGOLIA.**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias con mención en
Microbiología

ENRIQUE ARMANDO SANHUEZA CARRERA
CONCEPCIÓN-CHILE
2017

Profesor Guía: Dra. Apolinaria García Cancino
Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Resumen

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa relacionada con patologías gástricas, considerándose factor de riesgo del cáncer gástrico. Se estima que alrededor del 50% de la población mundial presenta este patógeno. En la actualidad el tratamiento consiste en una triple terapia, que incluye dos antibióticos más un inhibidor de la bomba de protones. Los resultados obtenidos en esta terapia no son favorables producto de la resistencia antibiótica, es por ello que se buscan nuevas alternativas de tratamiento, una de ellas es en base a bacterias probióticas.

Los probióticos presentan propiedades beneficiosas para la salud del huésped y al ser encapsuladas, se les confiere tolerancia a los procesos de manufacturación, además de la capacidad de tolerar las condiciones del estómago a la que son expuestas cuando son consumidas, esto facilita su eficiencia en el sitio de acción.

El Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana de la Universidad de Concepción cuenta con la cepa probiótica *Lactobacillus fermentum* UCO-979C (*L. fermentum* UCO-979C), la cual presenta alta inhibición sobre diversas cepas de *H. pylori*. Es por esto que esta tesis tiene por objetivo determinar *in vivo* si la cepa *L. fermentum* UCO-979C encapsulada en carragenina Kappa y lambda sometida a condiciones de manufactura inhibe la adherencia de *H. pylori* SS1 en gerbos de Mongolia mediante tratamiento profiláctico y terapéutico. Esto se determinó empleando recuento microbiológico desde la biopsias gástrica de los gerbos, la adherencia *in vivo* sobre los gerbos se realizó marcando los microorganismos con isotiocianato de fluoresceína (FITC) para su posterior administración en los animales y visualización por medio de fluorescencia.

Los resultados mostraron que la cepa *L. fermentum* UCO-979C se adhiere en el cuerpo y antro del animal después de 24 h de haberla suministrado, con un recuento de $1,0 \times 10^6$ UFC/ml y a los 30 días con un recuento de $2,5 \times 10^7$ en el antro, $2,8 \times 10^7$ en el cuerpo y $1,2 \times 10^5$ bacterias adheridas en el fundus. Mientras que *H. pylori* SS1 presenta la misma capacidad de adherencia en el estómago de los gerbos con un recuento de $3,0 \times 10^5$ UFC/ml, pero observada mayormente en el antro y en menor

cantidad en el cuerpo. Además, se detectó que después de los 30 días induce úlceras estomacales severas, detectándose una viabilidad de $1,2 \times 10^6$ en el antro, $2,2 \times 10^4$ en el cuerpo $2,5 \times 10^3$ en el fundus de bacterias adheridas.

El efecto profiláctico del probiótico sin encapsular, muestra que a los 24 días se detecta solo la presencia de *H. pylori* SS1 en el antro, con un recuento de $1,25 \times 10^3$ UFC/ml. En el caso del probiótico se comprobó que la viabilidad fue de $3,2 \times 10^3$ en el antro, $1,8 \times 10^7$ en el cuerpo y $1,4 \times 10^5$ bacterias adheridas en el fundus. La adherencia sobre los estómagos indica que el probiótico se adhiere en el cuerpo formando parches, mientras que la cepa patógena se observa que se desplaza al antro estomacal formando diversas microcolonias.

En el proceso de encapsulación con carragenina se observó que la de tipo kappa ejerce un daño letal para los animales. Es por esto que la hipótesis no se pudo contrastar, evaluando solo la interacción con carragenina lambda que no resulto ser dañina. Sin embargo, el proceso de encapsulación ayudó a la sobrevivencia de la cepa probiótica manteniéndola viable hasta los 40 días con un recuento de $2,6 \times 10^6$ bacterias por contenido de gramo de cápsulas en condiciones de almacenamiento de 4°C . En el ensayo profiláctico que consistió en evaluar la interacción de la carragenina lambda más la cepa probiótica sobre la adherencia de *H. pylori*, se comprobó un efecto similar de formación de microcolonias por parte de *H. pylori* sobre el antro, detectándose al menos 17 microcolonias, que representaron la cantidad de $1,25 \times 10^3$ bacterias adheridas. Mientras que el probiótico se localizó en el cuerpo formando un tapiz continuo, en que se contabilizaron $1,5 \times 10^6$ bacterias. Por último, el ensayo terapéutico indicó resultados similares al ensayo profiláctico, encontrándose que la cepa probiótica coloniza el antro y *H. pylori* forma microcolonias alrededor de todo el antro estomacal.

Los resultados, permiten concluir que *L. fermentum* UCO-979C en conjunto a carragenina lambda limita el crecimiento de *H. pylori* SS1 a microcolonias, colonizando el antro de los estómago de gerbos de Mongolia. Por lo tanto, la carragenina actúa como coadyuvante en la terapia terapéutica y profiláctica anti- *H. pylori*.