

EVALUACIÓN *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LEVADURAS CON POSIBLE ACCIÓN PROBIÓTICA.

Oscar Osiris García-Solache^{1,2}, Miguel Ángel Ares-Jiménez^{2,4}, Jossue Mizael Ortiz-Álvarez³,
Vanessa Blas-Valdivia¹ y Edgar Cano-Europa¹.

¹Departamento de Fisiología y ²Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB-IPN). CDMX, México. 11340.

³Programa "Investigadoras e Investigadores por México". CONACyT. México. 03940.

⁴Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. CDMX, México. 06720.

Correo electrónico: ogarcias1400@alumno.ipn.mx

Palabras clave: Probióticos, levaduras, genotipificación.

Introducción. Los probióticos son microorganismos viables que transitoriamente ejercen efectos beneficiosos en el hospedero, modificando el microbioma intestinal residente, evitando la disbiosis, inflamación, y daño celular, entre otros¹. En la actualidad, ha crecido enormemente el interés por los efectos terapéuticos de los probióticos, en especial, en el uso de levaduras vivas y sus derivados como una alternativa a la disbiosis intestinal secundaria al tratamiento con antibióticos, así como, en la prevención de diarreas de diversa etiología y en el control del síndrome del intestino irritable².

El objetivo de este trabajo fue determinar el potencial probiótico de distintas levaduras aisladas del kéfir y frutas fermentadas.

Metodología. Se aislaron levaduras a partir de kéfir y frutas fermentadas en medio YPD por el método de estría cruzada y se realizó una selección primaria de levaduras con capacidad de crecer a diferentes pH (2-10) a 37 °C. Los aislados seleccionados se conservaron y, empleando siempre F2, se procedió a los ensayos de genotipificación y prueba de toxicidad aguda *in vivo*. Para la genotipificación, se extrajo el ADN empleando la técnica del choque térmico y extracción con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1). Se utilizaron los ITS-1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG) e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC)³ para amplificar el operón ribosomal 18S a través de una PCR punto final. Se verificó el producto de PCR y se procedió a su purificación para su secuenciación. Se hizo un análisis bioinformático utilizando la herramienta BLAST del NCBI y se comparó contra la colección de nucleótidos de este, que comprende las bases de datos GenBank, EMBL, DDBJ, PDB y RefSeq para identificar género y especie. Para evaluar la seguridad de la ingesta de las levaduras vivas, se realizó la prueba de toxicidad aguda mediante el método de Lohrke (1983)⁴ modificado por Tapia Martínez y colaboradores (2020)⁵ para la evaluación del daño tisular a órganos del tracto gastrointestinal (estómago y colon) y los

detoxificadores (riñón e hígado). Brevemente, se administró 6 y 12 millones de levaduras viables por Kg de peso. Se determinaron datos de toxicidad por día durante 15 días. Al término, los animales fueron eutanasiados y se realizó la necropsia en búsqueda de datos macroscópicos de daño tisular. Posteriormente, los órganos evaluados se fijaron en formalina y se incluyeron en parafina para la evaluación del daño celular.

Resultados. Se aislaron y conservaron 50 levaduras, de las cuales 9 demostraron un crecimiento óptimo a 37°C y en los distintos pH (2-10). Las levaduras que fueron seleccionadas por esta prueba se genotipificaron y se encontraron cuatro levaduras predominantes de las especies *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefyr* (2) y *Pichia kudriavzevii*. Se realizó el ensayo de toxicidad aguda y en ninguna de las dosis empleadas se observaron datos de toxicidad o letalidad, con excepción de distensión abdominal durante las primeras 24 horas y una disminución de la consistencia de las heces. Respecto al análisis macroscópico, los órganos se encontraron sin alteraciones, lo cual fue corroborado por el análisis histopatológico.

Conclusiones. Las levaduras aisladas y caracterizadas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefyr* y *Pichia kudriavzevii* tiene potencial probiótico sin inducir datos de toxicidad o letalidad.

Agradecimiento. SIP-IPN Proyecto 20231024.

Bibliografía.

1. Coriat B., Azuero O., Gil S., Rueda M., Castañeda C., Rosselli D. (2017). *Revista Colombiana de Gastroenterología*, Vol. 32: 141-149.
2. Guzmán E., Montes P., Monge E. (2012). *Acta Médica Peruana*. (2012). Vol. 29: 92-98
3. Ciardo D., Schar G., Bottger E., Altwegg M., Bosshard P. (2006). *Journal Of Clinical Microbiology*, Vol. 44: 77-84.
4. Lorke D. (1983) A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol* 54:275-287.
5. Tapia J., Hernández K, Franco M., Mateo L, Mendoza C., Blas V., Cano E. (2020) *Journal of Applied Phycology*, Vol. 31: 2597-2607.