



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE POSTBIÓTICOS  
UNA REVISIÓN**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA  
MÉDICA**

**AUTORES: ALEJANDRA BASCUÑAN CERPA  
FABIAN DIAZ YAÑEZ  
PROFESOR GUÍA: DRA. T.M. VERÓNICA CARRASCO SÁNCHEZ**

**TALCA-CHILE 2022**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023



## ***Dedicatoria***

*A nuestras madres Amalia Cerpa y Ruth Yáñez, por estar siempre ahí, ser un pilar fundamental en nuestras vidas, por su amor incondicional y su enorme paciencia.*

*Y en memoria de Carbón y Sombrita, dos angelitos que recuerdo con amor cada día.*

## ***Agradecimientos***

*A nuestros profesores de la Escuela de Tecnología Médica por habernos formado y preparado durante estos años, de manera especial a la Dra. T.M. Verónica Carrasco Sánchez profesora guía de esta memoria, por su constante apoyo, indicaciones y orientaciones que nos ayudaron en todo el desarrollo de este trabajo.*

*Y a nuestras familias, porque el camino hasta aquí no ha sido sencillo, pero con su ayuda, comprensión, aportes y amor logramos llegar hasta este punto victoriosos.*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

1.Resumen	4
2.Introducción	5
3.Objetivos	7
4.Metodología de búsqueda	8
5.Marco teórico	9
5.1 Postbióticos, clasificación y mecanismos de acción antimicrobiana	9
5.1.1 Postbióticos basados en ácidos orgánicos	12
5.1.2 Postbióticos basados en péptidos	14
5.1.3 Postbióticos basados en ácidos grasos	21
5.1.4 Postbióticos a base de peróxido de hidrogeno	22
5.2 Actividad antibacteriana de los postbióticos, estudios <i>in vitro e in situ</i>	24
5.2.1 Estudios <i>in vitro</i>	25
5.2.2 Estudios <i>in vivo</i>	30
5.3 Efecto antiviral de los postbióticos	32
5.3.1Efecto antiviral de postbióticos sobre SARS CoV-2	39
6. Conclusiones	44
7. Referencias Bibliográficas	45

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Grupos principales de postbióticos	10
Figura 2. Mecanismos antibacterianos de ácidos orgánicos	12
Figura 3. Mecanismo de acción de las bacteriocinas	20
Figura 4. Mecanismos antibacterianos de AGCC sobre la membrana de las bacterias.	21
Tabla 1. Clasificación de péptidos antimicrobianos	15
Tabla 2. Clasificación de bacteriocinas	18

## 1. RESUMEN

A lo largo de los años se ha estudiado la microbiota intestinal de los seres humanos, y se ha investigado para entender en profundidad sus funciones nutritivas y de defensa para el organismo, es así como el mercado se ha especializado en crear productos que mejoren y ayuden a regularla cuando ésta se encuentra alterada.

Desde hace algunos años, la forma de ayudar a mantener estable la microbiota intestinal es con la ingesta de prebióticos y probióticos. Sin embargo, hoy en día se estudia y analiza el concepto de “postbióticos”, los cuales corresponden a metabolitos producidos por el metabolismo de las bacterias y también a parte de sus estructuras.

Asimismo, como los prebióticos y los probióticos, los postbióticos poseen varias características beneficiosas para la salud humana, entre las cuales se destacan sus funciones antimicrobianas y antivirales, en esta revisión se busca desarrollar el concepto de postbióticos y sus mecanismos de acción mediante un análisis crítico de las publicaciones disponibles hasta la fecha.

Palabras claves: “Probiótico”, “postbiótico”, “actividad antimicrobiana”, “SARS-CoV-2”, “actividad viral”

## 2. INTRODUCCIÓN

La alimentación es una parte fundamental de la vida, es a través de esta que se obtienen los nutrientes necesarios para crecer y desarrollarse de manera adecuada.

En los últimos años, se ha incrementado el interés por el consumo de alimentos que brinden mayores y mejores beneficios a la salud humana. Dentro de estos, se encuentran los denominados alimentos funcionales, que pueden contener ciertos metabolitos activos y/o microorganismos conocidos como probióticos.

Los probióticos, en general se describen como microorganismos vivos que cuando son ingeridos en cantidades suficientes y de forma constante, ofrecen una serie de efectos beneficiosos a la salud del ser humano.

Dentro de estos microorganismos destacan las bacterias intestinales beneficiosas tales como especies de *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacteria*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia* y *Lactobacillus* y dentro de sus efectos beneficiosos se ha reportado que ayudan a reducir la intolerancia a la lactosa, el colesterol en la sangre, la presión arterial, ayudan a fortalecer el sistema inmunológico, y a nivel intestinal provocan mejoría de los síntomas del síndrome del intestino irritable y la colitis, y previenen el crecimiento y la proliferación de bacterias invasoras, entre otras.

Es debido a los múltiples beneficios que ofrecen los probióticos, que se han estudiado los mecanismos por los cuales ejercen su acción lo que ha dado como resultado que sus metabolitos o partes de sus estructuras son los responsables de ejercer las acciones benéficas, denominándose en la actualidad como postbióticos. Por lo tanto, el término postbiótico se utiliza para referirse a los metabolitos producidos por el metabolismo de microorganismos probióticos vivos y a los componentes que se obtienen producto de la lisis de celular, que podrían incluir ácidos grasos de cadena corta, fragmentos de la pared celular, enzimas, y exopolisacáridos, los cuales poseen la capacidad de ejercer un efecto beneficioso en el huésped.

Los postbióticos pueden ser una alternativa a los probióticos más segura, ya que sus estructuras químicas son conocidas, por lo que se pueden administrar en dosis óptimas. Por lo tanto, la seguridad de los postbióticos es una buena razón para aplicarlos en las industrias farmacéuticas y alimentarias.

La siguiente revisión bibliográfica tiene como objetivo desarrollar una definición y descripción general de los postbióticos, realizando un análisis minucioso de diferentes estudios científicos relacionados con la definición de postbióticos y su rol como metabolitos con actividad antimicrobiana, todo esto con el fin de aportar a lo que actualmente se conoce sobre estas nuevas sustancias.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL:**

- Revisar y analizar la literatura sobre postbióticos y su rol como sustancias antimicrobianas

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- Contextualizar el concepto de postbiótico y revisar sus mecanismos de acción antimicrobiana
- Revisar y analizar los estudios antibacterianos de postbióticos
- Revisar antecedentes sobre la actividad antiviral de los postbióticos con énfasis en su estudios sobre SARS- CoV-2

#### 4. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

La presente revisión bibliográfica fue realizada en base a la búsqueda de información disponible sobre postbióticos y su rol antibacteriano y antiviral, considerando artículos publicados en la última década, pero con un enfoque mayor en las investigaciones realizadas en los últimos años.

De este modo, para la recopilación de antecedentes, se utilizaron fuentes como revistas indexadas, disponiendo así de información y datos internacionales fiables. Se realizó una búsqueda de artículos y libros relacionados con el tema publicados en las bases de datos: *Web of Science*, *Pubmed* y *Scielo*, empleando el término “postbióticos”, encontrando 404, 2 y 321 artículos respectivamente, los cuales se refinaron entre los años 2018 y 2022 lo cual genero 610 artículos en total. Se realizó una selección según el título y resumen de cada artículo relacionado con el tema, independiente de su diseño. Se incluyeron artículos publicados en inglés y español. De estos, se enfocó en la búsqueda de los términos “postbióticos”, “actividad antimicrobiana”, “bacteriocinas”, “actividad antiviral” y “SARS CoV-2”, obteniendo un total de 146 artículos.

## 5. MARCO TEÓRICO

### 5.1 Postbióticos, clasificación y mecanismos de acción antimicrobiana

Los postbióticos derivan de los probióticos y aunque no corresponden a microorganismos vivos, también son capaces de producir efectos beneficiosos en el huésped cuando son consumidos, sin los riesgos asociados a la ingesta de estos (1).

El término postbiótico es una combinación de “*post*”, un prefijo que significa “después”, y “*biótico*”, definido como “relacionado con o resultante de organismos vivos”. Juntos, estos términos sugieren “después de la vida” (2).

El concepto de que los microorganismos inanimados podrían promover o preservar la salud no es nuevo, y se han utilizado en literatura varios términos para describir dichas sustancias, tales como: biogénico, sobrenadante libre de células, abiótico, probiótico fantasma, metabiótico, paraprobiótico, pseudoprobótico y postbióticos, siendo este último el más utilizado (3).

El término postbiótico corresponde entonces, a una “preparación de microorganismos inanimados y/o sus componentes que confiere un beneficio para la salud del huésped”. (1).

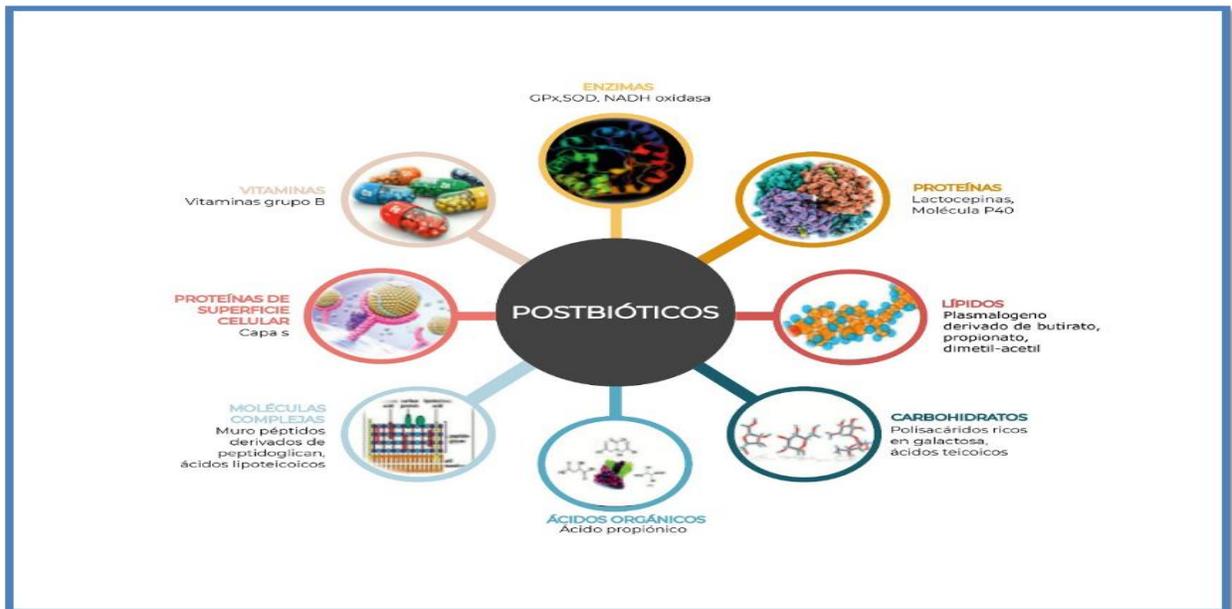
Los metabolitos microbianos o los productos finales del crecimiento de un probiótico en una matriz específica también forman parte del concepto de postbiótico (2).

Entre los tipos de postbióticos (figura 1) (3,4), se destacan:

- Ácidos grasos de cadena corta (AGCC)
- Fragmentos de paredes celulares
- Enzimas
- Bacteriocinas
- Ácidos (láctico, cítrico, acético, tartárico, entre otros.)
- Sobrenadante libre celular

En general, se han reportado dos métodos para la producción y obtención de postbióticos. El primero corresponde al proceso de fermentación o método natural, y el segundo es el método de laboratorio (5).

En cuanto a las fermentaciones, muchas de ellas están mediadas por bacterias del ácido láctico (BAL), que pueden aportar una variedad de estructuras celulares y producir metabolitos tales como ácido láctico, AGCC y péptidos bioactivos, entre otros (6).



**Figura 1.** Grupos principales de postbióticos. Adaptado de Homayouni A. 2020.

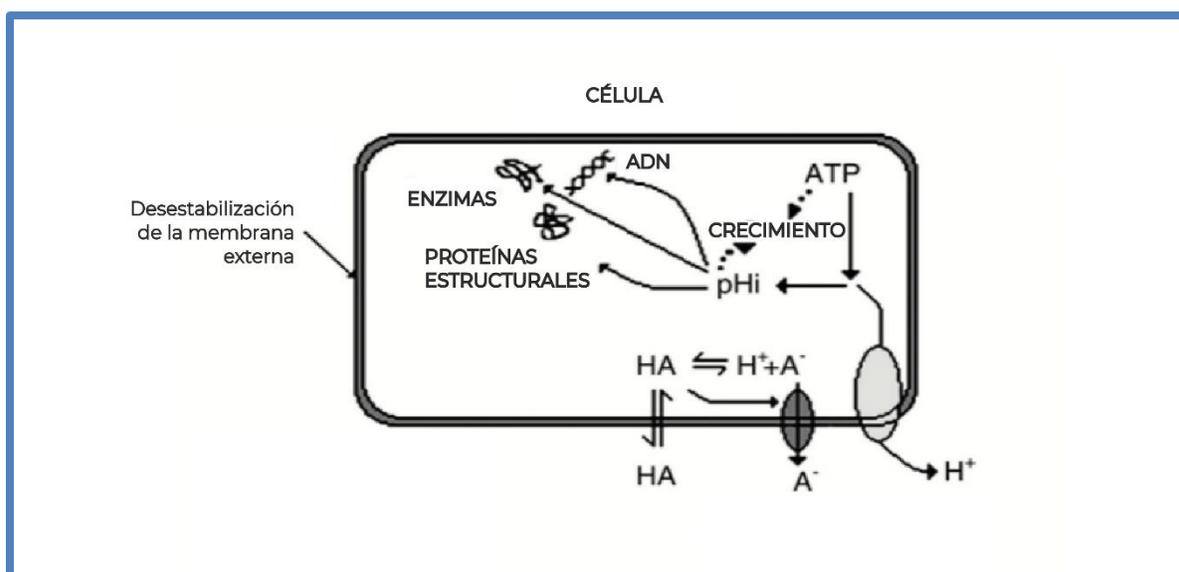
En general, se ha demostrado a través de estudios *in vitro* e *in vivo* que los postbióticos ejercen efectos positivos que se comparan al efecto de los probióticos. Entre estos efectos demostrables, se encuentran que fortalecen el sistema inmune y presentan efectos antibacterianos, antivirales (7), antioxidante (8), antihipertensivos, anti proliferativos (8), anti-obesidad, anti-diabetes (9), anti-mutagénicos y anticancerígenos (10). Estos efectos dependen tanto del tipo de probiótico del que provengan, así como del tipo de postbiótico.

Se cree que los postbióticos tienen un mejor perfil de seguridad que los probióticos (11), en general, no se han reportado efectos adversos en los estudios clínicos y experimentales realizados (12), incluso, gracias al conocimiento de sus estructuras químicas, seguridad de dosis y larga vida media, los postbióticos son una alternativa segura a los probióticos, recomendándose su aplicación en las industrias alimentarias y farmacéuticas (13).

Los mecanismos de acción de cada compuesto postbiótico derivado de probióticos difieren en base a su composición (14). A continuación, se presentan los mecanismos de acción de diferentes postbióticos relacionados a sus efectos antimicrobianos.

### 5.1.1 Postbióticos basados en ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos son conocidos como uno de los postbióticos claves. Algunos ácidos como el láctico, ácido acético, tartárico, ácido málico y ácido cítrico ejercen su acción inhibitoria de patógenos mediante una reducción significativa del pH del medio (15) provocando alteración de la integridad de las membranas (16) (Figura 2).



**Figura 2.** Mecanismos de acción de ácidos orgánicos en la membrana bacteriana. Adaptado de Mani-López E., 2011.

El ácido láctico (producido por procesos de fermentación bacteriana) en sus dos formas isoméricas, L y D, el ácido cítrico y el ácido acético inhiben el crecimiento de patógenos al reducir el pH intracelular de los patógenos, lo que interfiere en la integridad de la membrana (17-20).

En un estudio sobre la caracterización de la actividad antimicrobiana de cepas de *Lactobacillus* aisladas de productos lácteos tradicionales chinos, aislaron ácidos orgánicos

(ácido láctico, acético, tartárico, málico y cítrico) producidos por tres cepas de *Lactobacillus plantarum* (P1, S11 y M7) e investigaron el efecto antimicrobiano de estos ácidos contra bacterias patógenas (*Escherichia coli* y *Salmonella*). Descubrieron que los ácidos orgánicos secretados por las cepas de *L. plantarum* impedían el desarrollo de estas bacterias patógenas, siendo el ácido láctico y el ácido acético los que presentaron la mayor actividad antibacteriana (20).

### 5.1.2 Postbióticos basados en péptidos

Los postbióticos basados en péptidos destruyen bacterias mediante diversos mecanismos, entre estos se sabe que participan en la degradación de la membrana microbiana y en la inhibición de la síntesis de macromoléculas esenciales (21, 22).

Desde la pasada década se han descubierto cientos de péptidos antimicrobianos (PAM) naturales, generados por microorganismos, y con un amplio rango de acción contra otros microorganismos (23).

Los PAM pueden ser sintetizados de dos maneras. La primera sigue la traducción del mensaje génico por medio de ribosomas (23) y se presenta en todas las especies; algunos ejemplos de estos péptidos son las lisozimas (24) y las  $\beta$ -defensinas (25). La segunda forma de síntesis usa rutas enzimáticas biosintéticas, ejemplo de esto son los poli aminoácidos, tales como la e-poli-L-lisina (24).

Ciertos microorganismos llevan a cabo la síntesis de los péptidos no ribosomales o poli aminoácidos, realizando ensambles consecutivos de aminoácidos por medio de un gran complejo enzimático multifuncional tipo sintetasa (catalizan la unión carbono–nitrógeno, E.C.A). La enzima puede contener de 4 a 6 dominios, y cada dominio tiene la capacidad de reconocer un residuo, activarlo, modificarlo si es necesario y agregarlo a la cadena peptídica naciente (23).

Existe una gran variedad de péptidos antimicrobianos esto se debe a su estructura y composición química (Tabla 1). Estos se han desarrollados por procesos de duplicación,

divergencia y presión selectiva, dada la interacción de cada especie con su ambiente y patógenos específicos (24).

**Tabla 1.** Clasificación de péptidos antimicrobianos. Tomado de Téllez GA, 2010.

Tipos de PAM	Ejemplos	Origen
Péptidos aniónicos	- Maximin.	Anfibios.
Péptidos catiónicos lineales de hélice alfa	- Cecropinas. - Andropín. - Moricín. - Ceratotoxina. - Mellitín.	Insectos.
	- Cecropín P1.	Nematodos; <i>Ascaris</i> spp.
	- Megainín. - Dermaseptín. - Bombinín. - Brevinín-1. - Esculentinas. - Buforín.	Anfibios.
	- Pleurocidín.	Secreción mucosa de la piel de peces.
	- Plasmina seminal. - BMPA. -SMAP (SMAP29, ovispirín y PMAP).	Ganado, ovejas y cerdos.
	- LL37.	Humanos.
Péptidos catiónicos que contienen prolina	- Apidaecinas.	Abejas.

Péptidos catiónicos que contienen prolina y arginina	- Drosocín. - Pirrocoricín. - Bactenicinas. - PR-39.	Drosophila sp, chupasavia europeo, ganado (Bac7), ovejas, cabras y cerdos.
Péptidos catiónicos que contienen prolina y fenilalanina	- Profeina.	Cerdo.
Péptidos catiónicos que contienen glicina	- Himenoptaecina.	Abejas.
Péptidos catiónicos que contienen prolina y glicina	- Coleopterícín - Holotripcina.	Escarabajos.
Polipéptidos salivales pequeños ricos en histidina	- Histatinas.	Humanos y primates mayores.
Péptidos aniónicos y catiónicos que contienen cisteína y forman puentes disulfuros.	- Brevinina.	Anfibios.
Péptidos con dos puentes disulfuro	- Protegrinas. - Taquiplesinas.	Cerdo y cangrejo cacerola.
Péptidos con 3 puentes disulfuro	- Alfa defensinas (HBD1, DEFB118) - 0-defensina Rhesus.	Humanos, ganado, ratón, cabra y aves de corral y mono Rhesus.
Péptidos aniónicos catiónicos que son fragmentos de proteínas mayores.	- Lactoferricina de la lactoferrina I.	Humano.
	- Casodicina I.	Humano

	- Dominios antimicrobianos de la alfa lactoalbúmina, hemoglobina, lisozima y ovoalbúmina.	Bovino y humano.
--	---	------------------

Uno de los mecanismos más conocidos de los péptidos es la interacción con las membranas de las bacterias. Esto ocurre gracias a la carga positiva del péptido y su atracción electrostática hacia las superficies polianiónicas de las paredes bacterianas, ya sea por los ácidos teicoicos y lipoteicoicos en los Gram positivo o los lipopolisacáridos en los Gram negativo. Después de esta interacción, los péptidos antimicrobianos generan áreas de inestabilidad en la membrana externa, generando principalmente poros, permitiendo así la translocación de estos mismos a través de la bicapa externa; una vez localizados en la membrana, pueden sufrir modificaciones en su conformación y producir daños en la membrana o internamente (26-28).

El entender en profundidad la utilidad que ofrecen los péptidos nos ofrece una fuente prácticamente inagotable de antimicrobianos en la naturaleza, estos pueden ser evaluados para la creación de potenciales medicamentos para tratar de contrarrestar la resistencia microbiana a los antibióticos actuales. Así, las múltiples propiedades antimicrobianas que poseen los péptidos los hacen sustancias ideales para el desarrollo de futuras aplicaciones terapéuticas(26).

Uno de los péptidos antimicrobianos más estudiados son las bacteriocinas, las cuales son producidas por diversas bacterias, siendo las de mayor interés aquellas producidas por bacterias ácido lácticas (BAL) debido a que estos organismos se consideran seguros (29).

La potente actividad antibacteriana de algunas bacteriocinas ha sido utilizada por miles de años por los humanos en los procesos de alimentos fermentados (30). Estas se definen como péptidos de origen ribosomal que son secretados al medio extracelular y pueden inhibir el crecimiento de otros microorganismos (31).

En la naturaleza existe una gran diversidad bacteriana y se estima que un 99% de las bacterias producen cuando menos una bacteriocina (32).

Estos péptidos contienen residuos de aminoácidos tales como lisina, arginina e histidina, los cuales les confieren un carácter catiónico, y también contienen residuos de alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, metionina, fenilalanina y triptófano, lo que les proporciona su naturaleza hidrofóbica; además, son de carácter anfipático (33).

Las bacteriocinas han sido agrupadas en cinco clases según varios criterios de clasificación (Tabla 2) (34).

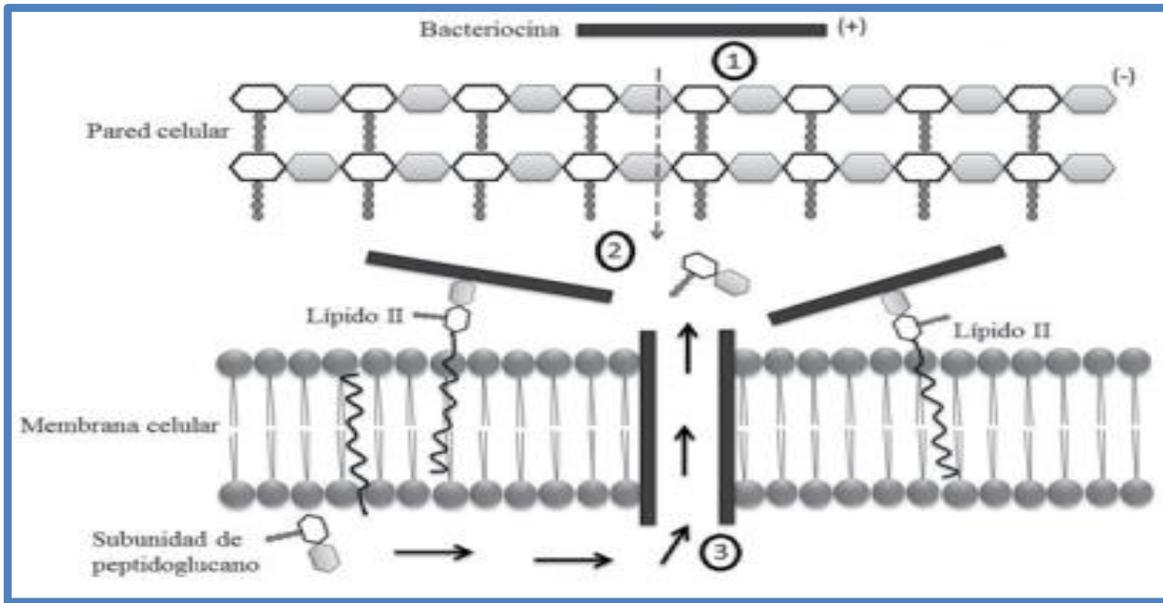
**Tabla 2.** Clasificación de bacteriocinas. Tomado de Wong-Villarreal A, Corzo-González H, Hernández-Núñez E, González-Sánchez A, Giacómán-Vallejos G, 2021.

C	Características	Subcategoría	Ejemplo
Clase I (Lantibiótico)	-Péptidos que contienen aminoácidos modificados	-Tipo A (moléculas lineales) -Tipo B (moléculas globulares)	-Nisina -Subtilina -Epidermina -Mersacidina
Clase II	-Clase heterogénea de péptidos termoestables pequeños	-Subclase IIa (pediocina-antilisteria)	-Pediocina -Enterocina -Sakacina -Plantaricina -Lacticina F

	<hr/> -Grupo de péptidos lineales. -Degradación de proteínas grandes.	-subclase I Ib (compuesto de dos péptidos) -Subclase Ic (otras bacteriocinas) <hr/> -Subclase Id -Subclase Ie	-Lactococcina <hr/> -Lacticina Q -Propionicina F
Clase III	-Péptidos grandes termolábiles.		-Helveticina J -Millericina B
Clase IV	-Péptidos cíclicos*		-Reutericina 6
Clase V	-Péptidos de estructura circular.		-Enterocina AS-48 -Gasericina A

Las bacteriocinas de la clase I, tales como la nisina, utilizan un modo de acción dual (Figura 3).

La bacteriocina se une a la pared celular mediante atracciones electrostáticas en una primera etapa. Luego, se une al lípido II, principal transportador de las subunidades de péptidoglucano y utiliza esta molécula para anclarse a la membrana celular, lo que corresponde a la segunda etapa del proceso. A continuación, la bacteriocina cambia su orientación en relación con la membrana y se inserta en ésta. Finalmente, la unión de diversos péptidos en el sitio de inserción provoca la formación de un poro transmembrana que permite la salida de moléculas importantes como aminoácidos y ATP, lo que lleva a la bacteria a una rápida muerte celular y consolida la tercera etapa de este mecanismo de acción(35).



**Figura 3.** Modelo que muestra el mecanismo de acción de las bacteriocinas. Tomado de Ceron J. 2013. 1: Unión de bacteriocinas a la pared celular; 2: Anclaje a la membrana; 3: Formación de poros

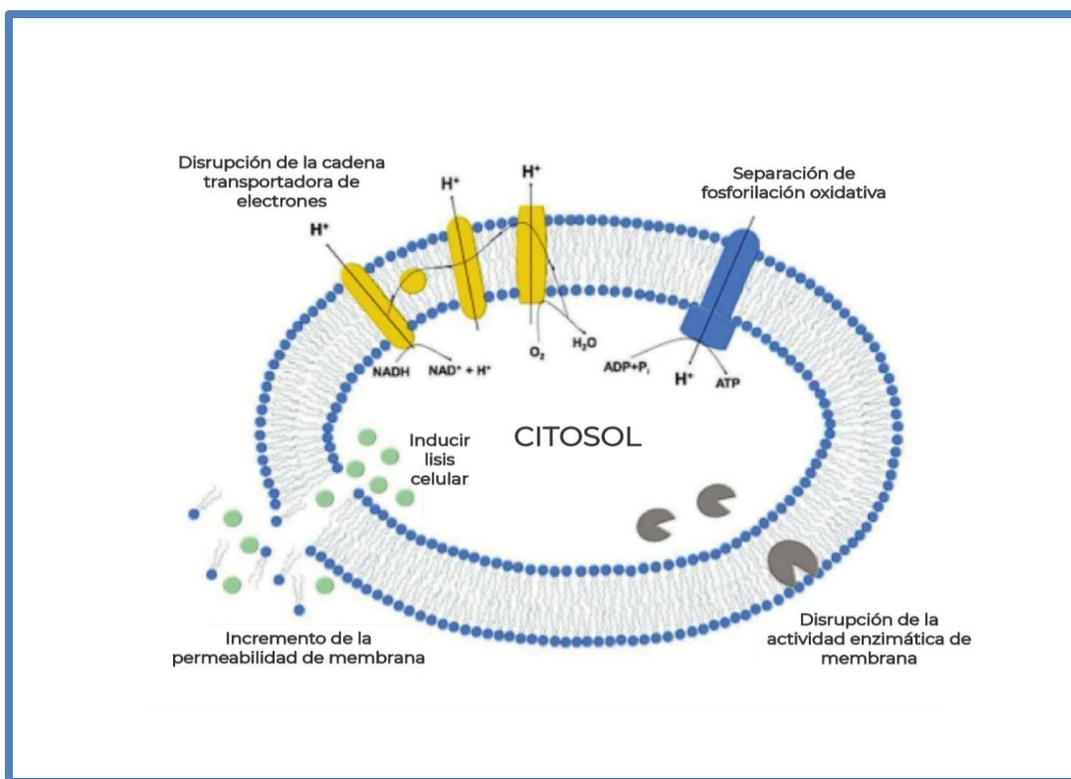
Como se mencionó anteriormente, muchas bacteriocinas son producidas por bacterias del ácido láctico de calidad alimentaria, un fenómeno que ofrece a los científicos alimentarios la posibilidad de dirigir o prevenir el desarrollo de especies bacterianas específicas en los alimentos. Esto puede ser particularmente útil en aplicaciones de conservación o seguridad alimentaria, pero también tiene implicaciones para el desarrollo de flora deseable en alimentos fermentados. En este sentido, las bacteriocinas se pueden utilizar para conferir una forma rudimentaria de inmunidad innata a los alimentos, ayudando a los procesadores a extender su control sobre la microbiota alimentaria mucho después de la fabricación.

### 5.1.3 Postbióticos basados en ácidos grasos

Este tipo de postbióticos han sido estudiados como una alternativa viable a los antibióticos debido a su alta actividad antibacteriana.

El ácido graso más utilizado en los últimos años corresponde a los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales se forman a partir de una cadena de carbonos saturada y una no saturada unida a un grupo carboxilo (36).

Entre éstos, los ácidos láurico y mirístico son altamente activos contra el crecimiento y desarrollo bacteriano (36). Los mecanismos de acción de los AGCC sobre bacterias incluyen, causar un aumento en la permeabilidad bacteriana lo que conlleva a la lisis celular, disrupción de la cadena transportadora de electrones, disrupción en la estructura y actividad de enzimas, y cambios en la morfología y funcionabilidad de componentes sensibles tales como proteínas (37) (Figura 4).



**Figura 4.** Mecanismos antibacterianos de AGCC sobre la membrana de las bacterias. Adaptado de Yoon B. K. 2018.

#### 5.1.4. Postbióticos a base de peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) es el principal metabolito de las bacterias del ácido láctico y se ha reportado que presenta excelentes propiedades antimicrobianas. Estos compuestos pueden desinfectar materiales al interactuar con constituyentes vitales de bacterias, hongos y virus, incluidas enzimas y ácidos nucleicos (ADN y ARN), evitando así su replicación y capacidad de infección (38).

El  $H_2O_2$  es comúnmente observable en cultivos aeróbicos de bacterias catalasa negativas y es el principal metabolito de las bacterias probióticas (39). Además, el  $H_2O_2$  es sintetizado fisiológicamente por la microbiota intestinal y juega un papel importante en el equilibrio del microbioma intestinal.

El  $H_2O_2$  se descompone en iones superóxido en las células epiteliales por la enzima superóxido dismutasa (40).

Klebanoff y Coombs (41) informaron que los *Lactobacillus* que se encuentran en el ambiente vaginal pueden producir  $H_2O_2$  como un microbicida natural tóxico para una serie de virus, como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2).

En pruebas *in vitro*, los autores revelaron que la cantidad de peróxido de hidrógeno producido por  $1 \times 10^7$  organismos productores de peróxido de hidrogeno fue adecuada para inactivar el VIH en ausencia de peroxidasa, además, al adicionar mieloperoxidasa y cloruro, concentraciones de *L. acidophilus* de  $2 \times 10^5$  UFC/ml eran efectivas para inactivar el virus.

Debido a su actividad, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de bacterias probióticas puede considerarse como candidato antiviral, que debe evaluarse más a fondo contra la enfermedad por SARS-CoV-2. Hasta la fecha, los estudios solo han reportado el efecto del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente viricida para la desinfección de materiales y superficies.

Ibáñez-Cervantes y colaboradores informaron que el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue eficaz para desinfectar máscaras N95 contaminadas por SARS-CoV-2 (42). Kampf y colaboradores en el año 2020 reportaron que una solución de peróxido de hidrógeno al 0,5 % fue eficaz para inactivar coronavirus como el SARS-CoV-2 y el del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) en superficies inanimadas (43).

## 5.2 Actividad antibacteriana de postbióticos, estudios *in vitro* e *in situ*

Se ha evidenciado que la actividad antibacteriana de los postbióticos ofrece diversas ventajas en comparación a los probióticos, tales como su incapacidad de transferir resistencia, estabilidad a diversas temperaturas y pH, estructuras químicas conocidas, y un amplio espectro de actividad antimicrobiana (44).

El efecto antibacteriano de los postbióticos depende del tipo de probiótico del cual es obtenido, del tipo de bacteria objetivo y la concentración de este (45).

La utilización de bacterias ácido lácticas como probióticos para la obtención de postbióticos mediante su excreción al sobrenadante libre en suspensión durante el crecimiento bacteriano es uno de los métodos más populares de obtención de postbióticos, siendo las especies del género *Lactobacillus*, los probióticos más estudiados (46-48).

En los últimos años, numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* han sido realizados para evaluar el potencial de bioactividad de diversos postbióticos, desde componentes de la pared celular hasta metabolitos intracelulares, de manera aislada o en conjunto(49).

La mayoría de los postbióticos que se han estudiado, provienen de cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, seguidos por especies de *Streptococcus* y *Faecalibacterium* (50) y, generalmente, los estudios screening se realizan con los sobrenadantes de las bacterias en cultivo.

### 5.2.1 Estudios *in vitro*

Moradi y colaboradores (48) realizaron un estudio para evaluar las características funcionales y actividad inhibitoria del crecimiento de *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115) de los sobrenadantes libres de células (SLC) de *Lactobacillus acidophilus* LA5, *L. casei* 431 y *L. salivarius* (Ls-BU2). Se realizó la investigación *in vitro* e *in situ* en carne molida y leche entera pasteurizada.

Como resultado obtuvieron que los sobrenadantes se caracterizaron por su abundancia de ácidos orgánicos, péptidos, compuestos que contenían ácidos grasos, alcoholes, ésteres y aldehídos en diferentes porcentajes. Los compuestos pirrolo[1,2-a]pirazina-1,4-diona, ácido benzoico y ciclopentano se encontraron en todos los SLC analizados.

Así, los postbióticos de todas las cepas probadas se consideraron agentes ricos en pirrolo[1,2-a] pirazina-1,4-diona. Y como resultado antagónico, todos los postbióticos mantuvieron su actividad antimicrobiana residual sobre 50% a diferentes pHs (4, 5, 6, 7, 8 y 9).

Sorprendentemente, las propiedades antagónicas sobre *Listeria sp.* de los postbióticos derivados de *L. acidophilus* LA5 y *L. casei* 431 estuvieron relacionadas con la presencia de ácidos orgánicos, mientras que en el caso del sobrenadante de *L. salivarius*, además de la presencia de ácidos orgánicos se debió a la presencia de otros compuestos resistentes al pH (probablemente compuestos proteicos).

Estos hallazgos fueron similares a los trabajos publicados anteriormente que reportaron que la actividad antimicrobiana del sobrenadante proveniente de *L. casei* contra *Shigella flexneri* y *S. sonnei* desapareció después de ajustar el pH a 7 (51).

También se reportaron hallazgos similares para la actividad antibacteriana de sobrenadantes de *L. acidophilus* sobre *Escherichia coli* y *S. aureus*, y para el SLC de *L. casei* y *Bifidobacterium bifidum* contra algunos patógenos transmitidos por los alimentos (*E. coli* y *S. aureus*) (52).

En alimentos, la concentración mínima eficaz (CME) de los agentes antimicrobianos refleja la concentración mínima de punto final de los agentes para inhibir el crecimiento de un patógeno.

Así, SLC de cepas de *Lactobacillus spp.* fueron estudiados en diferentes matrices alimentarias contaminadas con *L. monocytogenes* observándose un alto índice de eficiencia para los SLC de *L. salivarius* en carne molida y leche, al contrario del SLC de *L. acidophilus* que mostró una actividad antibacteriana débil (45 mg/mL en modelos alimentarios).

Sin embargo, cuando se ha estudiado la actividad antimicrobiana combinada de SLC de *L. acidophilus*, *B. bifidum* y *L. plantarum* se ha visto efectividad contra *E. coli* presente en leche y queso(53), resultado de la composición de ácidos orgánicos del SLC.

También se ha reportado la eficacia antagónica del SLC aislado de *Leuconostoc sp.* sobre *E. coli* en carne de res molida. Los autores relacionaron la actividad antibacteriana de *Leuconostoc* con la producción de ácidos orgánicos por parte de esta bacteria(54).

Está claro que la eficacia de SLC en medios de cultivo es mucho mayor que en matrices alimentarias debido a la complejidad del producto, la solubilidad, y adsorción de SLC a la matriz alimentaria, e interacciones de los componentes de SLC con los ingredientes alimentarios (48).

Safari y colaboradores en el año 2019 (55) estudiaron cepas inactivas de *Acetobacter cerevisiae*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* y cepas inactivas de *Acetobacter pasteurianus* y *Lactobacillus crustorum* (LcK) aisladas de vinagre tradicional chino y Kumeh, sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Escherichia coli* no patógena (ATCC 25922).

Entre las bacterias patógenas, *S. mutans* fue la más sensible a las bacterias muertas con un 70% de reducción en su viabilidad. Esta investigación mostró que diferentes postbióticos tenían diferentes efectos sobre las bacterias patógenas, dependiendo del método de inactivación del probiótico (calor, ozono o para-formaldehído).

La inhibición del crecimiento se verificó después de 24 horas de incubación. Todas las bacterias muertas por calor tenían actividad antibacteriana y de inhibición del crecimiento, pero entre ellas, LcK expresó los mejores resultados en *S. mutans*; aproximadamente un 65% de disminución en el crecimiento bacteriano en cada concentración examinada.

No hubo una diferencia significativa entre la actividad de inhibición del crecimiento de las concentraciones en cada muestra muerta y el efecto no dependió de la concentración de bacterias muertas (muertas por ozono, muertas por calor y muertas con para-formaldehído).

Tres muestras de bacterias muertas por ozono, *A. cerevisiae*, *L. acidophilus* y LcK, tuvieron un efecto casi similar en *S. mutans*. Se observó una disminución del 60 % en el

crecimiento bacteriano como resultado de la aplicación de estas muestras. Todas las bacterias muertas con para-formaldehído también revelaron un impacto significativo en el crecimiento bacteriano de *S. mutans*. Similar a las bacterias muertas por calor, LcK expresó el mejor efecto antibacteriano y provocó una disminución del 70% en el crecimiento bacteriano.

En contraste con el efecto de las bacterias muertas en *S. mutans* que pudo detectarse en todas las concentraciones de todas las muestras, en algunas situaciones no se observó el efecto antibacteriano de las bacterias muertas por calor contra *E. coli*. En general, *E. coli* se mostró más resistente a las bacterias muertas que *S. mutans*.

La mejor actividad antibacteriana de las bacterias muertas por calor se observó en *B. lactis*, que disminuyó el crecimiento bacteriano en aproximadamente un 20%. Las bacterias muertas por ozono mostraron un efecto similar en *E. coli* y nuevamente el mejor resultado lo logró *B. lactis* con una disminución del 30% en el crecimiento bacteriano.

Las bacterias muertas con para-formaldehído tuvieron un mayor impacto en la viabilidad de *E.coli* en comparación con otros métodos. Todas las bacterias muertas redujeron el crecimiento de *E.coli* en aproximadamente un 40 %.

Se ha evidenciado que postbióticos (SLC) de *L. acidophilus* LA5, *L. casei* 431 y *L. salivarius* (Ls-BU2) exhiben actividad de remoción de biopelículas de *L. monocytogenes* dependiente del tiempo de contacto. Entre los compuestos activos identificados, se encontró un ácido graso saturado ceroso de cadena de 18 carbonos conocido como ácido lauroesteárico en los postbióticos de *L. salivarius*.

El ácido lauroesteárico podría actuar como un biosurfactante y ayudar a eliminar la biopelícula de patógenos de la superficie, en consecuencia, la alta actividad de eliminación de biopelículas del SLC de *L. salivarius* puede atribuirse principalmente al ácido esteárico.

La toxicidad del SLC de *L. salivarius* se examinó en fibroblastos de prepucio humano (FPH). Se expusieron células FPH ( $1 \times 10^4$  células) frente a diversas concentraciones (0, 0,1, 1, 10, 100 y 1000  $\mu\text{g/ml}$ ) de SLC de *L. salivarius* durante 24 horas. Así, el SLC de *L. salivarius* no mostró ningún efecto citotóxico en todas las concentraciones sobre la viabilidad de FPH.

Curiosamente, SLC simuló el crecimiento de células FPH a altas concentraciones (100 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ ). Del mismo modo, se evaluó la actividad citotóxica de *L. salivarius* SMXD51 en monocapas de Caco-2/TC7 e informaron que esta cepa no tenía efectos citotóxicos. Sin embargo, se ha informado que existe efecto citotóxico dependiente de la dosis de las suspensiones de *L. salivarius* HA8 y *Enterococcus faecium* sobre la proliferación de células de mieloma (56).

Otro estudio informo que el ácido láctico proveniente de seis cepas de *Lactobacillus* (*L. acidophilus* IBB 801, *L. amylovorus* DCE 471, *L. casei* Shirota, *L. johnsonii* La1, *L. plantarum* ACA-DC 287, y *L. rhamnosus* GG) bloqueó el efecto patogénico *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium SL1344 (57).

### 5.3.2 Estudios *in vivo*

Un estudio realizado en ratones demostró que la administración de SLC provenientes de las bacterias *L. casei*, *L. acidophilus* y *L. delbrueckii* cepas RI11, aumentaron los niveles de anticuerpos intestinales IgA en la lámina propia del intestino delgado y grueso, y los niveles de interleucina-10 (IL-10). Esto conllevó a una disminución notable de infecciones patógenas inducidas por microorganismos, tales como *E. coli* y *Salmonella enteritidis* serotipo *Typhimurium* (55,58).

Zhang H y colaboradores, estudiaron las infecciones por *E. coli* O157: H7 en un modelo de ratón. En el estudio, la actividad de la bacteria fue prevenida por el postbiótico HM0539, que corresponde a ácidos grasos de cadena corta producidos por *Lactobacillus rhamnosus* cepa GG (59). HM0539 inhibió significativamente la adhesión e invasión de *E. coli* O157: H7 hacia las células HT-29 de una forma dosis dependiente.

Otro estudio realizado, analizó como algunas cepas de bacterias del ácido láctico producen riboflavina, una vitamina hidrosoluble del complejo B, esencial para el ser humano (60). Se evaluó así la producción de riboflavina por cinco cepas de *Lactobacillus plantarum* aisladas de chicha argentina, una bebida alcohólica fermentada tradicional a base de maíz. Dando como resultado que todas las cepas produjeron y secretaron vitamina B2 en un alto nivel en un rango de 1,3 a 3,2 mg/L.

Luego, se evaluó la supervivencia de la mejor cepa productora de *L. plantarum* (codificada como M5MA1-B2[pRCR12]) bajo estrés del tracto digestivo en presencia de microbiota en un modelo intestinal dinámico de múltiples etapas y en un modelo murino.

Los resultados indicaron una resistencia satisfactoria de la cepa a las condiciones de estrés gástrico e intestinal pero una baja capacidad de colonización observada tanto *in vitro* como *in vivo* (60). Sin embargo, por su capacidad de producir riboflavina, *L. plantarum* M5MA1-B2 podría proponerse como una cepa probiótica para el desarrollo de postbióticos.

Otros postbióticos estudiados *in vivo*, son los de carácter peptídico, los que han demostrado el éxito de los lantibióticos en el tratamiento de infecciones causadas por *S. pneumoniae*.

Tal como realizo Goldstein B. (61) y colaboradores mediante un ensayo *in vivo* en ratones. Los autores administraron nisina, un postbiótico de origen peptídico proveniente de *Lactococcus lactis* de manera intravenosa(IV) a los ratones, siguiendo un régimen de dos administraciones para luego medir su nivel sérico y evaluar su actividad contra *S. pneumoniae*. Los resultados demostraron que la nisina presentaba una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0.03 mg/L, un valor similar a la vancomicina, otro antibiótico altamente utilizado que también fue estudiado a modo de comparación, sin embargo, la nisina presento una efectividad 8-16 veces mayor que la vancomicina en el régimen de dos administraciones IV.

Además, se ha demostrado que los sellos de pezones que contienen lacticina 3147( otra bacteriocina de amplio espectro producida por el organismo de calidad alimentaria *Lactococcus lactis*), previenen la infección deliberada por *Staphylococcus* y *Streptococcus* mastíticos en ensayos con vacas (62).

Ryan MP y colaboradores pretrataron a las vacas con los sellos para pezones que contenían lacticina 3147, y luego de 8 días, los tejidos de las ubres de las vacas fueron infectadas con *Streptococcus dysgalactiae* mediante inoculación directa. Los resultados obtenidos indicaron que solo el 6% de las vacas pretratadas con los sellos con lacticina 3147 desarrollaron mastitis producto de la inoculación con *S. dysgalactiae*, por lo que este postbiótico es una buena alternativa para la prevención de mastitis en el ganado (62).

## 5.5 Efecto antiviral de los postbióticos

Las infecciones virales son consideradas problemas globales, debido a que son una amenaza para la salud pública. Esta científicamente comprobado *in vitro*, que los postbióticos ejercen efectos antivirales cuando se encuentran con virus envueltos (63). Se sabe que, para eliminar los virus con éxito, la célula infectada necesita inducir una respuesta inmune proinflamatoria y desarrollar inmunidad de tipo Th1, lo que conduce a la restricción de la replicación viral. Estas respuestas dependen de la producción de quimiocinas, citocinas e interleucinas inflamatorias, como TNF- $\alpha$ , interferones, Interleuquinas (IL-23, IL-18 e IL12), y de la activación citotóxica de linfocitos T, células NK y monocitos/macrófagos (63).

Se ha evidenciado que los probióticos y los metabolitos derivados de ellos o postbióticos pueden proteger contra las infecciones virales ya que mejoran tanto la inmunidad innata como la adaptativa. Al mejorar la inmunidad se logra reducir la duración de la enfermedad, la propagación del virus, y la normalización de la permeabilidad intestinal, indirectamente el número de episodios también va a mejorar la generación de anticuerpos específicos del virus.

Se ha reportado también que los postbióticos pueden llegar a interferir con la absorción y penetración del virus en la célula huésped e inhibir varias transcriptasas inversas retrovirales (64).

Benítez P. y colaboradores (65) evaluaron el péptido Frenatina 2.3S para evidenciar si tenía algún efecto de protección contra la infección del virus del Dengue-2(DENV-2) en células Vero.

Para el estudio se cultivaron DENV-2 en la línea celular Vero y se cuantificaron mediante dosis infectiva de tejido celular. Se realizaron pruebas de citotoxicidad del virus y

el péptido frente a las células y se realizó un ensayo antiviral para evidenciar la capacidad de protección al día 2, 4 y 6 post infección. Al cuarto día post infección se observó la presencia de efectos citopáticos hasta el desprendimiento inicial de la monocapa, como señal para almacenar el sobrenadante. Los efectos citopáticos que presentaron fueron cambios en la morfología celular pasando de fibroblástica a circular sin que hubiese aún desprendimiento de la monocapa, igualmente a medida que pasaban los días de infección había una mayor cantidad de células refringentes.

La Frenatina 2.3S no presentó actividad citotóxica en las células Vero entre concentraciones de 0-100  $\mu$ M. Por otro lado, el péptido demostró una capacidad de protección hasta el 6 día post infección, de cerca del 80% de las células Vero frente al DENV-2. Al día 6 post infección mediante la prueba de Dunn se obtuvieron diferencias significativas entre el control viral frente al control negativo y los tratamientos. El promedio de los porcentajes de protección fue de 82.1%, 87% y 77.5 % para las concentraciones 50 $\mu$ M, 25 $\mu$ M y 12.5 $\mu$ M, respectivamente.

El péptido antimicrobiano Frenatina 2.3S, presentó un efecto de protección aproximadamente del 80% en las células Vero frente a la infección con DENV-2. Probablemente el mecanismo de acción de este péptido antiviral se relacione con el bloqueo de la fusión de membranas entre las células blanco y el virus, o con la agregación de las partículas virales inhibiendo su actividad infectiva, sin embargo, es pertinente continuar con estudios para dilucidar exactamente el tipo de acción que presenta la Frenatina 2.3S (65).

Otro estudio, realizado por Wang J. y colaboradores (66), evaluó los exopolisacáridos (EPS) obtenidos de *L. plantarum* JLK0142 (aislada de tofu lácteo) reportando que este estaba compuesto de glucosa y galactosa.

También reportaron que la administración oral de EPS obtenido de *L. plantarum* en ratones redujo la infección viral, aumentó la actividad de las células asesinas naturales (NK),

las respuestas inmunitarias mediadas por células T helper 1 (Th1) y la producción de citoquinas Th1 ( $\gamma$  e IL-12) se activa. En particular, promueve la inmunidad de la mucosa mediada por inmunoglobulina A (IgA) en el intestino delgado y los pulmones.

*In vitro*, los exopolisacáridos de *L. plantarum* JLK0142 pueden activar las actividades bactericidas y tumoricidas de macrófagos y podrían ser inmunoestimulantes potenciales en productos lácteos. Además, pueden mejorar la actividad fagocítica de los macrófagos y, por lo tanto, pueden ser útiles para tratar infecciones microbianas y tumores.

El estudio *in vivo* demostró que la administración oral con una alta concentración de exopolisacáridos de *L. plantarum* JLK0142 (100 mg/kg de peso corporal) puede aumentar el contenido de IgA de la mucosa intestinal en ratones inmunosuprimidos.

Adicionalmente, el tratamiento con exopolisacáridos de *L. plantarum* JLK0142 de ratones inmunosuprimidos estimuló la producción de citoquinas séricas en diferentes grados en comparación con el grupo control inmunosuprimido, y aumentos significativos de IL-2 y TNF- $\alpha$ .

Bacteriocinas también han sido estudiadas, para esto se evaluó la actividad antiviral de la secreción de bacteriocinas por probióticos aislados de leche de cabra contra el virus del herpes simple 1 (VHS-1) y el poliovirus (PV-1) en células Vero (67).

Los investigadores Quintana V. y colaboradores (67) utilizaron seis aislados de bacterias ácido lácticas obtenidas de leche de cabra y caracterizadas en cuanto a su potencial bacteriocinogénico para obtener bacteriocinas semipurificadas. Se utilizaron las bacterias *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (GLc03 y GLc05) y *Enterococcus durans* (GEn09, GEn12, GEn14 y GEn17).

Observaron que la bacteriocina GEn17 presentó el mayor porcentaje (71,6 %) de inhibición del VHS-1, con una concentración inhibitoria al 50 % (IC50) de 24  $\mu$ g/ml y un

índice de selectividad (IS) de 17,8, mientras que GEn09 mostró el mejor comportamiento antiviral frente a PV-1, alcanzando una inhibición del 92,2%, con IC<sub>50</sub> de 22,2 µg/ml y IS de 25,8 (67).

La mayoría de las bacteriocinas semipurificadas probadas presentaban actividad antiviral contra PV-1 y VHS-1, con porcentajes variables de inhibición. Cuatro de las seis bacteriocinas semipurificadas probadas (GLc05, GEn09, GEn12 y GEn17) presentaron porcentaje de inhibición viral antes y después de la adsorción del virus en diferentes niveles, que van desde 3,4% a 24,7% y de 32,7% a 93,7%. Con respecto al VHS-1, GEn12, GEn14 y GEn17 (todas producidas por cepas de *E. durans*) presentaron actividad antiviral antes de la adsorción del virus que varió de 27,9% a 58,7%, mientras que solo GEn17 presentó actividad antiviral después de la adsorción con 71,6% (67).

El poliovirus (PV-1, cepa Sabin 1) y el virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1, cepa EK) se propagaron en células Vero de riñones de mono. Estas se contactaron con bacteriocinas semipurificadas a diferentes concentraciones individualmente. Las bacteriocinas semipurificadas presentaron bajos niveles citotóxicos a la línea celular Vero. El CC<sub>50</sub> para GLc03 y GLc05, producido por *L. lactis* subsp. *lactis*, fue de 358,1 µg/mL y 256,2 µg/mL, respectivamente. Para GEn09, GEn12, GEn14 y GEn17, producidos por cepas de *E. durans*, los valores de CC<sub>50</sub> fueron 573,3 µg/mL, 518,7 µg/mL, 1084,5 µg/mL y 426,9 µg/mL, respectivamente.

Estos resultados indicaron que las bacteriocinas sintetizadas por *Enterococcus durans* son eficaces para inhibir este virus.

Estos datos concuerdan con lo reportado por Svetoslav Dimitrov Todorov y colaboradores (68) quienes determinaron que una bacteriocina producida por *E. faecium* era activa contra el virus VHS-1 con IS 173 y IC<sub>50</sub> de 50 µg/mL en células Vero.

Otra bacteriocina sintetizada por *L. delbrueckii* representó actividad efectiva contra el virus de la influenza H7N7 y H7N1, con IC<sub>50</sub> de 5,6 ng/mL y 4,2 ng/mL respectivamente (69).

Junto con esto, VHS-1y VHS-2 muestran susceptibilidad al péptido ST4V sintetizado por *E. mundtii* ST4V en células Vero del riñón del mono verde africano de forma asociada a la dosis con un porcentaje de inhibición del 99,9% de los dos virus a un valor IC<sub>50</sub> de 400 µg/ml (70).

Los resultados informados por Wachsman y colaboradores también indican que la enterocina CRL35 de *E. faecium* mostró actividad antiviral con un valor de IC<sub>50</sub> de 15 µg/ml contra VHS-2 en células Vero. Los autores señalaron que esta actividad viricida puede deberse a la inhibición de la síntesis tardía de proteínas como la d -glicoproteína extracelular responsable del ensamblaje viral ya que 25 µg/ml de CRL35 fue capaz de disminuir el 65% de la síntesis de esta proteína (71).

La actividad antiviral de ECRL o melitina se evaluó en experimentos de tiempo de adición mediante ensayos de reducción de producción de virus. Se infectaron monocapas de células Vero confluentes cultivadas en placas de 24 pocillos con VHS-1 o VHS-2 a una multiplicidad de infección (MOI) de 1 y se añadieron ECRL (100 µg/ml) o melitina (3 µM) simultáneamente con el virus (tiempo 0) o en varios tiempos después de la infección y se mantuvo durante todo el período de ensayo (24 horas). La infectividad total se determinó mediante PFU después de someter los cultivos a dos ciclos de congelación-descongelación seguidos de centrifugación a baja velocidad durante 10 minutos para separar los restos celulares. Se recogieron sobrenadantes de otro conjunto de cultivos infectados tratados de forma idéntica y se cuantificó el virus liberado mediante PFU (71).

Para determinar el efecto de ECRL en la adsorción y penetración viral, se adsorbieron alrededor de 100 UFP de VHS-1 o VHS-2 durante 1 hora a 4 °C en células Vero confluentes cultivadas en placas de 24 pocillos, en presencia o ausencia de 100 µg/mL de la bacteriocina. Para el ensayo de penetración, se añadió MM que contenía o no 100 µg/mL de enterocina y la temperatura de incubación se aumentó a 37 °C para maximizar la penetración del virus durante varios períodos de tiempo (71).

Las células Vero-cultivadas en cubreobjetos de vidrio se infectaron con VHS-1 o VHS-2 a una MOI de 0,1 y se añadió ECRL (50 µg/ml) a 1 u 8 horas post infección (pi) y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Para analizar la expresión de la glicoproteína D viral (gD), células Vero-cultivadas en cubreobjetos de vidrio, infectadas a una MOI de 0,1 de clones 51C3 o 61C3 de VHS-1, se incubaron con ECRL (10 o 25 µg/ml) durante 18 h a 37° C. La inmunofluorescencia se realizó utilizando un anticuerpo monoclonal humano contra gD y conjugado FITC-antihumano (71).

La susceptibilidad al virus de la melitina se perdió gradualmente. En presencia de ECRL, los rendimientos de virus se vieron gravemente afectados incluso si se añadían a las 6 horas pi. Más tarde, el efecto inhibitor disminuyó y a las 10 horas pi la adición de bacteriocina no afectó la replicación del virus. Tanto el virus liberado como el total siguieron el mismo perfil excepto a las 8 horas. En ese momento hubo una inhibición del 90 % de la producción de virus extracelular, mientras que la infectividad del virus total se inhibió solo en un 50 %, lo que indica que la salida de partículas de virus infecciosos se vio afectada por la enterocina (71).

Se detectó una reducción máxima del número de células fluorescentes cuando se añadió la enterocina inmediatamente después de la adsorción del virus en cultivos infectados

con VHS-1 y VHS-2. Se observó un patrón característico de pequeños focos de células positivas e incluso células fluorescentes individuales en cultivos tratados con enterocina, lo que sugiere que el compuesto inhibía la diseminación viral a las células vecinas. Por el contrario, el número de focos fluorescentes en cultivos tratados se redujo solo en un 47% y un 45 % para VHS-1 y VHS-2, respectivamente, lo que indica que la infección secundaria se vio impedida en presencia de enterocina (71).

ECRL agregado a las 8 horas redujo significativamente el número de células fluorescentes positiva. El retraso en la adición del compuesto provocó un ligero aumento en el tamaño de cada foco de células fluorescentes en comparación con los observados en cultivos tratados con la enterocina desde 1 hora pi. Sin embargo, los focos positivos seguían siendo significativamente más pequeños que los detectados en cultivos no tratados (71).

Para confirmar que ECRL no interfiere con los primeros eventos del ciclo de multiplicación del virus, analizaron el efecto del compuesto sobre la adsorción y penetración del virus. No se observaron diferencias en la cantidad de virus adsorbido en las células de control infectadas tratadas y no tratadas. El proceso de penetración se completó a los 45 min después de la adsorción en células tratadas o no con 100 µg/ml de ECRL, tanto para VHS-1 como para VHS-2 (71).

El patrón de proteínas virales sintetizadas durante el período de 2 a 4 o de 4 a 6 horas pi en cultivos tratados con enterocina fue indistinguible del obtenido de los no tratados, lo que indica que las proteínas  $\alpha$  y  $\beta$  normalmente se sintetizaban en presencia de la bacteriocina. Por el contrario, se observó una inhibición extensa de la síntesis de proteínas virales en los períodos 6–8 y 8–10 horas en comparación con los no (71).

### 5.3.1 Efecto antiviral de postbióticos sobre SARS-CoV-2

Se han realizado muchos estudios sobre el efecto antiviral de los postbióticos y se demostró el efecto de estos en el SARS-CoV-2. Se observó que la plantaricina puede prevenir la infección al modular el sistema inmunológico (al afectar a las células T, producir IFN- $\gamma$  y reducir las citocinas proinflamatorias) y produce un efecto directo sobre el virus. El SARS-CoV-2 ingresa a la célula huésped a través de la glicoproteína (S) con una alta afinidad por el receptor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA2).

Una vez que esta glicoproteína ingresa al cuerpo con la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2), provoca una infección en el cuerpo. Los compuestos postbióticos (Plantaricina) pueden inhibir la patogenicidad de Covid-19 al unirse a la glicoproteína S (72).

La modulación del sistema inmunológico es el primer paso para hacer que el cuerpo sea resistente a la infección viral. Últimamente se ha investigado una relación directa y compleja entre los probióticos, la función óptima del sistema inmunológico y las condiciones de homeostasis. Los efectos positivos de la inmunomodulación por parte de la microbiota intestinal beneficiosa están significativamente relacionados con sus compuestos postbióticos derivados (72).

Varios compuestos basados en péptidos con una función antiviral, como la lactoferrina y otros péptidos antibacterianos, son probablemente proinhibidores de la enfermedad por SARS-CoV-2 (70).

El rol antiviral de los postbióticos se resume en tres mecanismos; en primera instancia evitan que el virus se logre adherir a la célula huésped y así se previenen las primeras etapas de la infección viral, evitan que el virus ingrese a la célula huésped bloqueando la unión viral a los receptores de la célula, y fortalecen del sistema inmunológico (70).

Un estudio realizado por Irfan A. Rather y Sy-Bing Choi en 2021, evaluó la acción del sobrenadante de *Lactobacillus plantarum* Probio-88 contra la replicación y la regulación inmunitaria del SARS-COV-2 mediante un estudio *in vitro* e *in silico* (73).

El efecto inhibidor de P88-SLC se evaluó inicialmente en células HEK 293, donde las células se infectaron primero con el virus SARS-COV-2 y luego se trataron con P88-SLC en concentraciones que oscilaban entre 50 y 250 mg/mL. Según las copias de ARN viral determinadas por qPCR, la carga viral en el sobrenadante del cultivo se redujo en comparación con el control infectado con SARS-CoV-2 no tratado (0 mg/mL P88-CFS).

El crecimiento viral fue significativamente inhibido del 48% al 97%, con una concentración creciente de P88-SLC. Usando el ensayo MTT para la citotoxicidad celular, el P88-SLC probado en líneas celulares HCE, HEK y HELA mostró que las células humanas toleraron bien el metabolito. Los resultados refuerzan que P88-SLC podría inhibir la replicación de coronavirus humanos altamente infecciosos sin ningún efecto de citotoxicidad grave si se administra a 100 mg/mL (73).

Además, se investigó los efectos de P88-SLC en la acumulación intracelular de especies oxidantes reactivas (ROS). ROS juega un papel fundamental en la patogénesis de COVID-19, donde la acumulación excesiva de ROS puede empeorar la gravedad de la enfermedad. Se observó un aumento significativo en los niveles de ROS al infectar células con SARS-COV-2. Sin embargo, cuando las células infectadas se incubaron con 50, 100 y 150 mg/mL de P88-SLC, los niveles de ROS se redujeron significativamente a aproximadamente 1,7, 1,2 y 0,9 veces, respectivamente (73).

Finalmente, para evaluar la relación de las infecciones por virus con la inflamación, se estudiaron las citocinas proinflamatorias IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IL-6. En las células infectadas

con SARS-COV-2, la expresión de ARNm de IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IL-6 aumentó significativamente en comparación con el control. Mientras que en las células infectadas simultáneamente con SARS-COV-2 y tratadas con 100 mg/mL de P88-SLC, los niveles de expresión de ARNm de estas citocinas proinflamatorias disminuyeron enormemente. En comparación con las células infectadas, las células tratadas con P88-SLC mostraron una reducción significativa de 2,2 veces, 1,5 veces y 1,7 veces en IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IL-6, respectivamente. Tales hallazgos sugieren que P88-SLC exhibe actividad antiviral y regula las respuestas inflamatorias causadas por la invasión del virus a las células(73).

La mayoría de los virus, incluido el coronavirus, utilizan mecanismos similares para secuestrar células huésped como maquinaria de replicación para producir su progenie. El proceso generalmente implica la unión y la entrada, la traducción de réplicas y el ensamblaje del complejo de replicación y transcripción, seguido de la replicación y transcripción del genoma, la traducción de proteínas estructurales y, finalmente, el ensamblaje y liberación del virión (74).

Las células huésped también están equipadas con respuestas inmunitarias innatas y adaptativas para limitar la proliferación viral como contramedida. En última instancia, se convierte en una carrera entre el huésped y el virus para determinar el resultado de la progresión de la enfermedad (75).

La inflamación durante una infección representa un mecanismo de protección para contener la propagación de patógenos. La primera línea de defensa suele incluir el interferón tipo 1 (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ) y la citocina multifuncional IL-6 (76). En el estudio mencionado anteriormente, la expresión génica de IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IL-6 aumentó significativamente cuando se infectó con SARS-COV-2 y la expresión de estos genes fue menor en presencia de P88-SLC (73).

Adicionalmente, el tratamiento de células infectadas por SARS-COV-2 con P88-SLC logró erradicar la mayor parte del virus post infección, y se encontró que el efecto era más pronunciado a medida que aumentaba la concentración de P88-SLC.

De acuerdo con una reducción de las copias virales, P88-SLC también redujo la inflamación y la activación de ERK, que son una importante evidencia en cascada de invasiones virales. Es vital reconocer que la eliminación de los factores inflamatorios luego de la inhibición de la replicación viral en las células también podría prevenir la tormenta de citocinas, la más mortal de todas en pacientes con COVID-19 (73).

Se ha demostrado que algunos postbióticos, incluidas las bacteriocinas, migran a través de las células epiteliales humanas para ejercer efectos terapéuticos (77).

El tracto respiratorio humano está cubierto con superficies epiteliales mucosas que se convierten en la ruta principal para la internalización del virus respiratorio, incluido el SARS-CoV-2 (77).

Por lo tanto, dirigirse a las superficies epiteliales sería una forma eficaz de frenar las infecciones virales. Esto podría ser factible mediante el desarrollo de alimentos funcionales o productos terapéuticos como el espray oro nasal incorporado con postbióticos con actividad antiviral comprobada.

En el intestino, los metabolitos producidos por los probióticos también pueden penetrar las superficies epiteliales gastrointestinales y entrar en el torrente sanguíneo para llegar a órganos específicos como los pulmones durante una infección respiratoria. Es crucial que la interacción entre los microbios intestinales y el sistema inmunitario del huésped responda a las infecciones: el eje intestino-pulmón.

Por lo tanto, los postbióticos pueden servir como nuevos horizontes en la bioterapia microbiana con una gran versatilidad (78).

La actividad inhibitoria del SARS-COV-2 demostrada con *L. plantarum* Probio-88 demostró que los postbióticos podrían usarse como un enfoque complementario junto con la

vacuna y otros medicamentos antivirales para reducir la propagación del patógeno altamente infeccioso (73).

Además, la cepa exhibió potentes actividades antiinflamatorias, lo que podría ser muy útil en pacientes con COVID-19 para prevenir respuestas inflamatorias hiperactivas tras la infección viral.

El ácido láctico es uno de los postbióticos más importantes, está presente en dos isómeros, incluidos L y D. La forma de L es más eficaz para prevenir infecciones virales.

El ácido cítrico y el ácido acético también previenen la infección de virus al crear un ambiente ácido. El mecanismo antiviral de los ácidos orgánicos producidos por las bacterias probióticas es observado a través de la unión de ácidos orgánicos a la glicoproteína S de los virus, evitando así que los virus se unan a la enzima convertidora de angiotensina (ECA2) (79).

Los ácidos grasos de las bacterias probióticas también se conocen como compuestos postbióticos. El efecto antiviral de los ácidos grasos se debe a sus estructuras especiales. Los ácidos grasos se forman a partir de una cadena de carbono saturada e insaturada unida a un grupo carboxílico (80).

Los ácidos grasos también se reconocen como postbióticos potenciales con considerables propiedades antivirales. Los ácidos láurico y mirístico son altamente activos contra el crecimiento y desarrollo del virus. Los ácidos grasos producidos por los probióticos, como los ácidos orgánicos, se unen a la glicoproteína S y evitan que se una a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2).

## 6. CONCLUSIONES

Los postbióticos son sustancias producidas a partir del metabolismo de microorganismos probióticos que brindan una serie de efectos positivos, como efectos antivirales y antimicrobianos, incluso se incluyen las estructuras de probióticos inanimados.

A diferencia de los probióticos, los postbióticos sí pueden sobrevivir a la digestión y acceder directamente al intestino brindando todo tipo de beneficios, se les atribuyen propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladores y antioxidantes, respaldan la salud digestiva y gastrointestinal, mejoran la función cerebral y ofrecen apoyo inmunológico. Incluso queda demostrado la potente actividad antibacteriana sobre patógenos para el ser humano tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*.

Debido a sus características antivirales el estudio de los postbióticos tomó una gran importancia frente al SARS-CoV-2, ya que éstos, son capaces de migrar a través de las células epiteliales ejerciendo efectos terapéuticos, y como el tracto respiratorio está cubierto por células epiteliales mucosas las cuales son la ruta principal para la internalización de los virus respiratorios, esta migración sería una forma eficaz de frenar las infecciones virales.

Por otro lado, sus propiedades antimicrobianas podrían ser la solución frente a la gran crisis de resistencia antimicrobiana que azota actualmente a gran parte del mundo, la cual va en aumento producto del uso indebido y abusivo de antibióticos.

Los postbióticos se muestran como una opción mejorada de estos, ya que, al ser inertes, no pueden causar infecciones, esto los hace más seguros incluso que los probióticos. Además, frente a fármacos sintéticos que en su mayoría presentan toxicidad secundaria, los postbióticos se convertirían en la opción más segura.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics—A Step Beyond Pre- and Probiotics. *Nutrients*. 2020; 12(8):2189.
2. Salminen S, Collado MC, Endo A, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(9):649-667.
3. Rad, A.H.; Aghebati-Maleki, L.; Kafil, H.S.; Abbasi, A. Molecular mechanisms of postbiotics in colorectal cancer prevention and treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2020, 1-17.
4. Shafipour Yordshahi, Aidin; Moradi, Mehran; Tajik, Hossein; Molaei, Rahim (2020). Design and preparation of antimicrobial meat wrapping nanopaper with bacterial cellulose and postbiotics of lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 321, 108561.
5. Bomfim, V.B.; Neto, J.H.P.L.; Leite, K.S.; de Andrade Vieira, É.; Iacomini, M.; Silva, C.M.; dos Santos, K.M.O.; Cardarelli, H.R. Partial characterization and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* CNPC003. *LWT* 2020, 109349.
6. Marco ML, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol*. 2017; 44:94–102.
7. Patel RM, Denning PW. Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: what is the current evidence? *Clin Perinatol*. 2013;40(1):11-25.
8. Delgado S, Sánchez B, Margolles A, Ruas-Madiedo P, Ruiz L. Molecules produced by probiotics and intestinal microorganisms with immunomodulatory activity. *Nutrients* 2020;12(2).
9. Rad AH, Abbasi A, Kafil HS, Ganbarov K. Potential Pharmaceutical and Food Applications of Postbiotics: A Review. *Curr Pharm Biotechnol*. 2020;21(15):1576-1587.

10. Izuddin, W.I., Loh, T.C., Foo, H.L. et al. Postbiotic *L. plantarum* RG14 improves ruminal epithelium growth, immune status and upregulates the intestinal barrier function in post-weaning lambs. *Sci Rep* 9, 9938 (2019).
11. Yelin I, et al. Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nat. Med.* 2019; 25:1728–1732.
12. Moradi, M.; Molaei, R.; Guimarães, J.T. A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology* 2020, 109722.
13. Nami, Y.; Abdullah, N.; Haghshenas, B.; Radiah, D.; Rosli, R.; Khosroushahi, A.Y. Assessment of probiotic potential and anticancer activity of newly isolated vaginal bacterium *Lactobacillus plantarum* 5BL. *Microbiology and immunology* 2014, 58, 492-502.
14. Robles-Vera, I., Toral, M., Romero, M. et al. Antihypertensive Effects of Probiotics. *Curr Hypertens Rep* 19, 26 (2017).
15. Mani-López, E.; García, H.; López-Malo, A. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International* 2012, 45, 713-721.
16. Rad, AH.; Abbasi, A.; Kafil, HS.; Ganbarov, K. Potential pharmaceutical and food applications of postbiotics: a review. *Current pharmaceutical biotechnology* 2020.
17. Baird, B.; Lucia, L.; Acuff, G.; Harris, K.; Savell, J. Beef hide antimicrobial interventions as a means of reducing bacterial contamination. *Meat science* 2006, 73, 245-248.
18. Mani-López, E.; García, H.; López-Malo, A. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International* 2012, 45, 713-721.
19. . Šušković, J.; Kos, B.; Beganović, J.; Leboš Pavunc, A.; Habjanič, K.; Matošić, S. Antimicrobial activity– the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology* 2010, 48, 296-307.
20. Hu, C.H.; Ren, L.Q.; Zhou, Y.; Ye, B.C. Characterization of antimicrobial activity of three *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese traditional dairy food. *Food science & nutrition* 2019, 7, 1997-2005.

21. Waghu, F.H.; Idicula-Thomas, S. Collection of antimicrobial peptides database and its derivatives: Applications and beyond. *Protein Science* 2020, 29, 36-42.
22. Hanson, M.A.; Dostalova, A.; Ceroni, C.; Poidevin, M.; Kondo, S.; Lemaitre, B. Synergy and remarkable specificity of antimicrobial peptides *in vivo* using a systematic knockout approach. *Elife* 2019, 8, e44341.
23. A. Piers KL, Brown MH, Hancock REW. Recombinant DNA Procedures for Producing Small Antimicrobial Cationic Peptides in Bacteria. *Gene*. 1993 Nov 30; 134 (1): 7 - 13.
24. C. Fleming A. On a Remarkable Bacteriolytic Element Found in Tissues and Secretions. *Proc R Soc Lond*. 1922 May 1; 93: 306317.
25. D. Papanastasiou EA, Hua Q, Sandouk A, Son UH, Christenson AJ, Van Hoek ML, et al. Role of acetylation and charge in antimicrobial peptides based on human beta-defensin-3. *APMIS*. 2009 Jul; 117 (7): 492-499.
26. Jenssen H, Hamill P, Hancock REW. Peptide antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19:491-511.
27. Cotter PD, Hill C, Ross RP Bacteriocins: developing innate immunity for food. 2005. *Nat. Rev. Microbiol*. 3: 777-788.
28. O'Connor, P.M.; Kuniyoshi, T.M.; Oliveira, R.P.; Hill, C.; Ross, R.P.; Cotter, P.D. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Biotechnology* 2020, 61, 160-167.
29. Rad, AH.; Abbasi, A.; Kafil, HS.; Ganbarov, K. Potential pharmaceutical and food applications of postbiotics: a review. *Current pharmaceutical biotechnology* 2020.
30. A.; Abriouel, H.; López, R.L.; Omar, N.B. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International journal of food microbiology* 2007, 120, 51-70.
31. DMC, Castro BT, Fernández PFJ, Mayorga RL. Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. 2009.
32. MC Bacteriocinas de probióticos. Nuevos enfoques bioterapéuticos: PINHE. 2008 *Nutr. Clín. Diet. Hosp*. 28: 20-37.
33. Diep DB, Nes IF Ribosomally synthesized antibacterial peptides in Gram positive bacteria. 2002. *Curr. Drug Targets* 3: 107-122.

34. Nes IF, Yoon SS, Diep DB Ribosomally synthesized antimicrobial peptides (bacteriocins) in Lactic Acid Bacteria: A Review. 2007. Food Sci. Biotechnol. 16: 675-690.
35. Ceron, Joel & Sotomayor Castellanos, Javier-Ramón. (2013). Plastificado higro-térmico de madera de *Quercus scytophylla*. *Investigacion y Ciencia*. 59. 25.
36. Mali, J.K.; Sutar, Y.B.; Pahelkar, A.R.; Verma, P.M.; Telvekar, V.N. Novel fatty acid-thiadiazole derivatives as potential antimycobacterial agents. *Chemical Biology & Drug Design* 2020, 95, 174-181.
37. Yoon, B.K.; Jackman, J.A.; Valle-González, E.R.; Cho, N.-J. Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *International journal of molecular sciences* 2018, 19, 1114.
38. Marshall, Milton & Gragg, P & Packman, E & Wright, P & Cancro, L. (2001). Hydrogen peroxide decomposition in the oral cavity. *American journal of dentistry*. 14. 39-45.
39. Meng H, Forooshani PK, Joshi PU, Osborne J, Mi X, Meingast C, et al. Biomimetic recyclable microgels for on-demand generation of hydrogen peroxide and antipathogenic application. *Acta Biomater*; 83:109–18.
40. Cheng VCC, Wong S-C, Kwan GSW, Hui W-T, Yuen K-Y. Disinfection of N95 respirators by ionized hydrogen peroxide during pandemic coronavirus disease 2019 (COVID-19) due to SARS-CoV-2. *J Hosp Infect*. 2020;105(2):358–9.
41. Klebanoff SJ, Coombs RW. Viricidal effect of *Lactobacillus acidophilus* on human immunodeficiency virus type 1: possible role in heterosexual transmission. *J Exp Med*. 1991;174(1):289–92.
42. Ibáñez-Cervantes G, Bravata-Alcántara JC, Nájera-Cortés AS, Meneses-Cruz S, Delgado-Balbuena L, Cruz-Cruz C, et al. Disinfection of N95 masks artificially contaminated with SARS-CoV-2 and ESKAPE bacteria using hydrogen peroxide plasma: Impact on the reutilization of disposable devices. *Am J Infect Control*. 2020;48(9):1037–41.
43. Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J Hosp Infect*. 2020;104(3):246–51.

44. Moradi, M.; Kousheh, S.A.; Almasi, H.; Alizadeh, A.; Guimarães, J.T.; Yılmaz, N.; Lotfi, A. Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2020, 19, 3390-3415.
45. Nataraj, B.H.; Ali, S.A.; Behare, P.V.; Yadav, H. Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial cell factories* 2020, 19, 1-22.
46. Travers MA, et al. Deconjugated bile salts produced by extracellular bile-salt hydrolase-like activities from the probiotic *Lactobacillus johnsonii* La1 inhibit *Giardia duodenalis in vitro* growth. *Front. Microbiol.* 2016; 7:1453.
47. Mullish BH, et al. Microbial bile salt hydrolases mediate the efficacy of faecal microbiota transplant in the treatment of recurrent *Clostridioides difficile* infection. *Gut.* 2019; 68:1791–1800.
48. Moradi, M.; Mardani, K.; Tajik, H. Characterization, and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes in vitro* and in food models. *LWT* 2019, 111, 457-464.
49. Korotkyi, O.; Dvorshchenko, K.; Vovk, A.; Dranitsina, A.; Tymoshenko, M.; Kot, L.; Ostapchenko, L. Effect of probiotic composition on oxidative/antioxidant balance in blood of rats under experimental osteoarthritis. *Ukr. Biochem. J* 2019, 91, 49-58.
50. Konstantinov, S., Kuipers, E. & Peppelenbosch, M. Functional genomic analyses of the gut microbiota for CRC screening. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10, 741–745 (2013).
51. Close R. Mirnejad, A.R. Vahdati, J. Rashidiani, M. Erfani, V. Piranfar. The antimicrobial effect of *Lactobacillus casei* culture supernatant against multiple drug resistant clinical isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri in vitro* Iranian Red Crescent Medical Journal, 15 (2) (2013), pp. 122-126.
52. Close V.G. Pereira, R.J.H.C. GómezAntimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus* against foodborne pathogens *Semina: Ciências Agrárias*, 28 (2) (2007), pp. 229-240.
53. G. Hamad, W. Botros, E. HafezCombination of probiotic filtrates as antibacterial agent against selected some pathogenic bacteria in milk and cheeseInternational Journal of Dairy Science, 12 (2017), pp. 368-376.

54. O.K. Koo, S.M. Kim, S.-H. Kang Antimicrobial potential of *Leuconostoc* species against *E. coli* O157:H7 in ground meat *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 58 (6) (2015), pp. 831-838.
55. Safari, M.S.; Keyhanfar, M.; Shafiei, R. Investigating the antibacterial effects of some *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *acetobacter* strains killed by different methods on *Streptococcus mutans* and *Escherichia coli*. *Molecular Biology Research Communications* 2019, 8, 103.
56. A. Zabala, M.R. Martín, A.I. Haza, L. Fernández, J.M. Rodríguez, P. Morales Efecto antiproliferativo de dos cepas de bacterias ácido lácticas de origen humano sobre el crecimiento de una línea celular de mieloma *Letters in Applied Microbiology* , 32 ( 4 ) ( 2001 ) , págs. 287 – 292.
57. Fayol-Messaoudi D, Berger CN, Coconnier-Polter MH, Liévin-Le Moal V, Servin AL. pH-, Lactic acid-, and non-lactic acid-dependent activities of probiotic *Lactobacilli* against *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(10):6008-6013.
58. Loh, T.C.; Foo, H.L.; Izuddin, W.I.; Zulkifli, I.; Samsudin, A.A.; Mustapha, N.M. Supplementation of postbiotic R111 improves antioxidant enzyme activity, upregulated gut barrier genes, and reduced cytokine, acute phase protein, and heat shock protein 70 gene expression levels in heat-stressed broilers. *Poultry Science* 2020.
59. Zhang H, Gao J, He X, Gong Z, Wan Y, Hu T, Li Y, Cao H. [The postbiotic HM0539 from *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents intestinal infection by enterohemorrhagic *E. coli* O157: H7 in mice]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2020 feb 29;40(2):211-218.
60. Mohedano, Mari Luz et al. “Real-Time Detection of Riboflavin Production by *Lactobacillus plantarum* Strains and Tracking of Their Gastrointestinal Survival and Functionality *in vitro* and *in vivo* Using mCherry Labeling.” *Frontiers in microbiology* vol. 10 1748. 31 Jul. 2019
61. Goldstein, B. P., Wei, J., Greenberg, K. & Novick, R. Activity of nisin against *Streptococcus pneumoniae*, *in vitro*, and in a mouse infection model. *J. Antimicrob. Chemother.* 42, 277–278 (1998).

62. Ryan, M. P., Flynn, J., Hill, C., Ross, R. P. & Meaney, W. J. The natural food grade inhibitor, lactacin 3147, reduced the incidence of mastitis after experimental challenge with *Streptococcus dysgalactiae* in nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 2625–2631 (1999).
63. Wu, J.; Zhang, Y.; Ye, L.; Wang, C. The anti-cancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides *in vitro*: A review. *Carbohydrate Polymers* 2020, 117308.
64. Aguila, E.J.T.; Lontok, M.A.D.; Letter: role of probiotics in the COVID-19 pandemic. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2020, 52, 931
65. Benítez P, Parra Ávila MH, Camargo CM. Potencial efecto antiviral de un péptido antimicrobiano (Frenatina 2.3S) contra el virus del Dengue-2. 2019.
66. Wang, J., Wu, T., Fang, X., Min, W., & Yang, Z. (2018). Characterization and immunomodulatory activity of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* JLK0142 isolated from fermented dairy tofu. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 985–993.
67. Cavicchioli VQ, Carvalho OV de, Paiva JC de, Todorov SD, Silva Júnior A, Nero LA. Inhibition of herpes simplex virus 1 (HSV-1) and poliovirus (PV-1) by bacteriocins from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Enterococcus durans* strains isolated from goat milk. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;51(1):33–7.
68. Todorov SD, Wachsmann M, Tomé E, Dousset X, Destro MT, Dicks LMT, et al. Characterisation of an antiviral pediocin-like bacteriocin produced by *Enterococcus faecium*. *Food Microbiol*. 2010;27(7):869–79.
69. Serkedjieva, J., Danova, S. & Ivanova, I. Antiinfluenza virus activity of a bacteriocin produced by *Lactobacillus delbrueckii*. *Appl Biochem Biotechnol* 2000. 88, 285–298.
70. Kaila, M.; Isolauri, E.; Saxelin, M.; Arvilommi, H.; Vesikari, T. Viable versus inactivated *Lactobacillus* strain gg in acute rotavirus diarrhoea. *Arch. Dis. Child*. 1995, 72, 51–53.
71. Wachsmann MB, Castilla V, de Ruiz Holgado AP, de Torres RA, Sesma F, Coto CE. Enterocin CRL35 inhibits late stages of HSV-1 and HSV-2 replication *in vitro*. *Antiviral Res*. 2003;58(1):17–24.

72. F, Altayb HN, Al-Abbasi FA, Al-Malki AL, Kamal MA, Kumar V. Antiviral effects of probiotic metabolites on COVID-19. *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 2021;39(11):4175–84.
73. Rather IA, Choi SB, Kamli MR, et al. Potential Adjuvant Therapeutic Effect of *Lactobacillus plantarum* Probio-88 Postbiotics against SARS-COV-2. *Vaccines* (Basel). 2021;9(10):1067. Published 2021 Sep 24.
74. F, Altayb HN, Al-Abbasi FA, Al-Malki AL, Kamal MA, Kumar V. Antiviral effects of probiotic metabolites on COVID-19. *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 2021;39(11):4175–84.
75. Fung T.S., Liu D.X. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. *Annu. Rev. Microbiol.* 2019; 73:529–557.
76. Klemm C., Bruchhagen C., Van Krüchten A., Niemann S., Löffler B., Peters G., Ludwig S., Ehrhardt C. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) regulate IL-6 over-production during concomitant influenza virus and *Staphylococcus aureus* infection. *Sci. Rep.* 2017;7:42473.
77. Dreyer L., Smith C., Deane S.M., Dicks L.M.T., Van Staden A.D. Migration of Bacteriocins Across Gastrointestinal Epithelial and Vascular Endothelial Cells, as Determined Using *In Vitro* Simulations. *Sci. Rep.* 2019;9:1–11.
78. Wypych T.P., Wickramasinghe L.C., Marsland B.J. The influence of the microbiome on respiratory health. *Nat. Immunol.* 2019;20:1279–1290.
79. Gurung, A.B.; Ali, M.A.; Lee, J.; Farah, M.A.; Al-Anazi, K.M. Unravelling lead antiviral phytochemicals for the inhibition of SARS-CoV-2 Mpro enzyme through in silico approach. *Life Sciences* 2020, 117831.
80. Desbois, A.P. Potential applications of antimicrobial fatty acids in medicine, agriculture and other industries. *Recent patents on anti-infective drug discovery* 2012, 7, 111-122.