

**UNIVERSITATEA DIN BUCUREŞTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ DE BIOLOGIE**

**PROBIOTICE ȘI PARABIOTICE:  
EFECTE ANTIBACTERIENE ȘI  
IMUNOMODULATORII  
REZUMAT**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC  
PROF. DR. GRIGORE MIHĂESCU**

**DOCTORAND  
PETRACHE (DIȚU) LIA-MARA**

**- 2013 -**

# **PROBIOTICE ȘI PARABIOTICE: EFECTE ANTIBACTERIENE ȘI IMUNOMODULATORII**

## **INTRODUCERE**

Tractul gastrointestinal (TGI) este un sistem complex care conține un număr impresionant de celule bacteriene (de 10 ori mai mult decât numărul total de celule ale organismului), reprezentând un rezervor de gene care codifică molecule implicate în diverse procese fiziologice de care beneficiază tractul intestinal (Backhed și colab., 2005). Utilizând tehnologii moderne de Transcriptomică, Metagenomică și Metabolomică, a fost posibilă înțelegerea mecanismelor prin care are loc comunicarea dintre bacteriile comensale și celulele epiteliale ale mucoasei. Utilizarea metodelor de secvențiere a subunităților ribosomale ARN 16S a permis identificarea unui număr imens de noi specii, stabilind apartenența acestora la două mari Filumuri: *Bacteroides* și *Firmicutes*.

Este cunoscut faptul că microbiota intestinală este esențială pentru homeostasia organismului gazdă și pentru protecția față de acțiunea microorganismelor patogene. De aceea este considerată ca un "extra-organ" al gazdei (O'Hara și colab., 2006). Din acest punct de vedere, microbiota este implicată în reacții metabolice (degradarea componentelor care au depășit intestinul subțire), biotransformarea conjugatelor formate de acizii biliari, sinteza unor vitamine (B12, K); de asemenea, are efect trofic asupra epiteliumului intestinal, fiind implicată în dezvoltarea microvililor, are importanță majoră în maturarea structurilor cu funcție imunitară înăscută și adaptativă. Sistemul imunitar al tractului digestiv preia în mod constant informație antigenică din lumenul intestinal prin intermediul celulelor specializate (celule M), dar și al enterocitelor, un singur strat de celule epiteliale intestinale separând lumenul intestinal de lamina propria. La nivelul TGI există, astfel, un echilibru al comunicării între microbiotă și tractul digestiv, care permite diferențierea speciilor comensale de speciile bacteriene patogene invadante (O'Flaherty și Klaenhammer, 2010).

Deși s-a intuit de mult influența benefică a microorganismelor comensale supra stării de sănătate a omului și animalelor, argumentele științifice în acest sens au apărut mai târziu, odată cu introducerea conceptului de "probiotic". Microorganismele probiotice au fost utilizate pentru restabilirea echilibrului microbiotei intestinale (eubiozei) din 1965, primind, în timp, definiții diferite, ultima definiție acceptată fiind cea a lui Fuller (1989). Asfel, Fuller consideră probiotic "orice organism viu adăugat alimentelor, care influențează benefic organismul gazdă, prin ameliorarea echilibrului microorganismelor din tubul digestiv". Studiile recente au arătat însă că și microorganismele inactivate (non-viable) sau componente ale acestora pot susține starea de sănătate a unui organism (Kataria și colab., 2009). Interacțiunea cu organismul gazdă poate fi aşadar mediată de celulele bacteriene, independent de viabilitatea acestora și se bazează pe capacitatea celulelor epiteliului intestinal de a recunoaște specific anumite componente bacteriene sau produși ai acestora, așa cum se întâmplă la nivelul mucoasei gastrointestinale. De aceea se impune definirea unui nou termen, acela de **parabiotic**, care să includă componente non-viable, de origine microbiană, care exercită efecte benefice asupra stării de sănătate a organismului gazdă, uman sau animal.

**Scopul acestei lucrari este investigarea efectului dual antimicrobian și imunomodulator al unor probiotice și parabiotice și a interferenței acestora cu mecanismele de comunicare intra- și interspecifice, pentru dezvoltarea unor noi strategii antiinfecțioase.**

#### **Obiective:**

1. Investigarea influenței unor fracții/componente asociate peretelui celular și solubili, secretați de tulipa probiotica *Enterococcus faecium* CMGB 16 asupra unor proprietăți ale unor tulpi de *Escherichia coli* enteropatogene (sensibilitate la antibiotice, virulență).

2. Investigarea influenței concentrației subinhibitorii de acid fenil-lactic și a sinergismului de acțiune cu antibioticele asupra expresiei unor factori de virulență la tulpini multirezistente de *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Evaluarea *in vivo* a efectului imunomodulator al diferitelor componente ale culturii de *Enterococcus faecium* CMGB 16 cu proprietăți probiotice, obținute după creștere în prezența culturilor inactive termic de *Escherichia coli* și *Bacillus cereus*.

## REZULTATE

**Obiectivul 1: Investigarea influenței unor fracții/componente asociate peretelui celular și solubili, secretați de tulpina probiotica *Enterococcus faecium CMGB 16* asupra unor proprietăți ale unor tulpini de *Escherichia coli* enteropatogene (sensibilitate la antibiotice, virulență).**

Microbiota normală, prin contactul direct cu epiteliul mucoasei, manifestă constant tendința de invazie. Ca urmare a conflictului potențial permanent, mucoasa se apără prin mecanisme imunitare nespecifice și specifice. Conflictul microbiotei cu mucoasa se amplifică și îmbracă forme clinice în stările de disbioză. Manifestările dezechilibrului sunt diverse, de la tulburări ale tractului intestinal, până la leziuni cu substrat autoimun, aşa cum sunt colita ulcerativă și maladia Crohn (Chifiriuc și colab., 2011). Este unanim acceptată ideea că bacteriile probiotice au rol esențial în restabilirea echilibrului funcțional al mucoasei. Mecanismele prin care bacteriile probiotice refac homeostasia intestinală după un tratament prelungit cu antibiotice sau unele dezechilibre imunologice constau atât în optimizarea funcționalității barierei intestinale, cât și în atenuarea producerii de citokine proinflamatorii și prevenirea apoptozei celulelor epiteliale indusă de citokine (Mennigen și colab., 2009). Astfel, bacteriile probiotice sintetizează molecule de semnalizare a căror țintă sunt nu numai populațiile microbiene, ci chiar celulele epitelului intestinal și celulele cu funcție imunitară (limfocitele, celulele dendritice). Mecanismele de acțiune a bacteriilor probiotice sunt multi-factoriale, implicând o varietate de semnale, tipuri de celule și receptori. Bacteriile probiotice diferă în privința capacitatea de a sintetiza molecule cu rol de semnal pentru celulele epiteliale intestinale și imunitare (Jayaraman și Wood, 2008).

### Activități

- **Determinarea influenței fracțiilor probiotice ale *E. faecium CMGB 16* asupra capacității de aderență la substratul cellular a unor tulpini de *E. coli* enteropatogene.**

Aderența tulpinilor *E. coli* enteropatogene este influențată de componentele culturii tulpinii probiotice *Enterococcus faecium CMGB16*. În general, supernatantul culturii de probiotic (SN G-) obținut în mediu cu adaus de *E. coli* O28 inactivat termic, are un efect inhibitor mai pronunțat asupra indicelui de aderență al tulpinior de

*E. coli* enteropatogene comparativ cu suspensia de celule (SC G-), modificând în același timp și *pattern*-ul de aderență.

Cea mai eficientă componentă a culturii probiotice în ceea ce privește scăderea indicelui de aderență a fost supernatantul culturii de *E. faecium* CMGB stimulat cu cultură de *E. coli* O 28 inactivată termic (SN G-). Indicele de aderență a fost modificat pentru 5 tulpieni de *E. coli* enteropatogene din cele 7 testate, cu o rată medie de 63% (figura 27, săgețile verzi). Supernatantul culturii martor de *E. faecium* CMGB 16 (SN m) a influențat capacitatea de aderență a 4 tulpieni de *E. coli* enteropatogene (figura 27, săgețile portocalii).

Imaginile de microscopie optică au evidențiat diferențele *pattern*-uri de aderență ale tulpinilor de *E. coli* enteropatogene înainte și după cultivarea acestora în mediu cu componente probiotice. Tulpinile EPEC crescute în mediu cu adaus al componentei SN G – își modifică atât indicele de aderență cât și *pattern*-ul de aderență de la localizat, la difuz, sau de la agregativ, la difuz.

➤ **Determinarea influenței fracțiilor probiotice *E. faecium* CMGB 16 asupra sensibilității la antibiotice a tulpinilor de *E. coli*.**

Testele de determinare a sensibilității la antibiotice a tulpinilor *E. coli* enteropatogene după etapa de co-cultivare cu cele două componente ale culturii probiotice (SN și SC), au evidențiat faptul că toate asociațiile de probiotice au determinat creșterea nivelului sensibilității la diferite clase de antibiotice (aminoglicozide, β-lactamice și quinolone).

Gradul de eficiență al unei anumite componente probiotice a depins de modalitatea de stimulare a probioticului, de tulpina enteropatogenă și de antibioticul testat. De exemplu, în cazul tulpinii enteropatogene *E. coli* 750 componentele SN G+ și SN G- au crescut gradul de sensibilitate al tulpinii *E. coli* 750 la antibiotice, față de SN martor, mai ales în cazul cloramfenicolului și gentamicinei.

Majoritatea antibioticelor utilizate în acest studiu acționează prin blocarea sintezei peretelui celular. De aceea se poate emite ipoteza conform căreia, după etapa de co-cultivare, peretele celular al tulpinilor de *E. coli* a suferit modificări sub influența diferențierelor componente ale culturii probiotice (parabiotice). Modificările facilitează acțiunea antibioticelor. Probabil, în etapa obținerii componentelor parabiotice, stimularea culturii probiotice de *E. faecium* CMGB 16 a induș sinteza unor molecule solubile acumulate în supernatant sau intracelular (și eliberate extracelular în etapa de inactivare a componentei celulare a culturii probiotice). Aceste molecule au creat pori

ce au destabilizat structura peretelui celular al tulpinilor EPEC cu care au venit în contact sau au interferat cu alte căi de semnalizare ale tulpinilor Gram negative.

***Obiectivul 2: Investigarea influenței concentrației subinhibitorii de acid fenil-lactic și a sinergismului de acțiune cu antibioticele asupra expresiei unor factori de virulență la tulpini multirezistente de *Pseudomonas aeruginosa*.***

Conform "National Nosocomial Infections Surveillance - NNIS", *P. aeruginosa* este cel mai comun patogen asociat infecțiilor nozocomiale. Rezistența multiplă la antibiotice sau selectarea rezistenței în timpul tratamentului determină eșecul terapeutic.

În ultimii ani a crescut interesul pentru studiul bacteriocinelor secrete de specii de bacteriile lactice (*Lactobacillus*) utilizate ca probiotice, cunoscându-se faptul că reglarea mecanismelor de producere a acestor molecule este corelată cu fenomenul de *quorum sensing*. Astfel, în supernatantele provenite din culturi de *Lactobacillus plantarum* au fost identificate și caracterizate dipeptide ciclice cu activitate antifungică (ciclo (L-Phe-L-Pro și ciclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro)).

S-a demonstrat experimental faptul că dipeptidul ciclo (L-Phe-L-Pro) poate interfera cu mecanismele de QS la bacteriile Gram negative (*Pseudomonas fluorescens* și *Pseudomonas alcaligenes*), sugerându-se astfel existența unor căi de semnalizare comune la bacterii Gram pozitive și la cele Gram negative (Hentzer și Givskov, 2003; David și Lebel, 2004).

#### **Activități**

- **Evaluarea creșterii bacteriene a tulpinilor de *P. aeruginosa* cultivate în prezența acidului fenil-lactic (PLA) și a antibioticelor.**

Valoarea CMI pentru PLA a fost stabilită la o concentrație de 2mg/ml, pentru toate tulpinile testate, foarte mică în comparație cu concentrațiile de 10 și 20 mg/ml raportate în studii similare (Dieuleveaux și colab., 1998). Inhibarea creșterii bacteriene pentru tulpinile de *P. aeruginosa*, la concentrații mici de PLA este foarte importantă, având în vedere că aceste tulpini izolate din clinică sunt capsule și sunt rezistente la multe antibiotice, terapia fiind foarte dificila. Rezultatele arată că PLA are activitate antimicrobiană la o concentrație de 2 mg/ml, instalată după 3 ore de la incubarea culturii bacteriane în mediu lichid în prezenta PLA, pentru toate tulpinile

analizate (figura 40). Determinarea numarului de celule viabile prin metoda UFC după 1-2 ore de la incubare a demonstrat că PLA nu a influențat dezvoltarea acestora.

➤ **Testarea sensibilității la antibiotice a tulpinilor de *P. aeruginosa*, după cultivare în prezența concentrație subinhibitorii (CsI) de PLA.**

Capacitatea de aderență la substratul celular a fost evaluată prin determinarea indicelui de aderență la celule HeLa. Acidul fenil-lactic (PLA) la o concentrație subinhibitorie (1 mg/ml) nu a influențat în mod semnificativ capacitatea de aderență a tulpinilor de *P. aeruginosa* la substratul cellular, și nici la substratul inert. S-a înregistrat o scădere moderată a indicelui de aderență pentru o singură tulpină de *P. aeruginosa* 811, rezultat care se corelează și cu o scădere a expresiei factorilor solubili de virulență. S-a observat, de asemenea, că PLA determină o modificare a *pattern*-ului de aderență pentru majoritatea tulpinilor, de la tipul agregativ la cel difuz.

➤ **Evaluarea capacității de aderență la substrat celular HeLa a tulpinilor de *P. aeruginosa*, crescute în prezența concentrației subinhibitorii (CsI) de PLA.**

Cultivarea tulpinilor de *P. aeruginosa* în prezența PLA la CsI nu a indus modificări semnificative ale capacității de aderență, menținându-se efectul citotoxic asupra substratului celular, consecutive aderenței. Pentru o singură tulpină, *P. aeruginosa* 811, s-a observat o scădere a capacității de aderență (figura 44), iar pentru tulpina *P. aeruginosa* 158 s-a observat modificarea *pattern*-ului de la agregativ la difuz (figura 45), celulele bacteriene fiind preponderent aderate la substratul inert.

➤ **Evaluarea efectului citotoxic și de modificare a ciclului celular (inducerea apoptozei) prin citometrie în fux.**

Efectul combinat al asociatiei PLA și antibiotic a fost testat pe cele două tulpini de *P. aeruginosa* care au manifestat rezistență de contact la cefepim, dar au prezentat zona de inhibiție la cefepim după cultivare în prezența PLA. În prezența PLA și a antibioticului la concentrații de 31 $\mu$ g/ml, 2x31 $\mu$ g/ml, 3x31 $\mu$ g/ml determinarea prin metoda UFC a numarului de celule viabile a evidențiat scăderea numarului de celule active metabolic.

➤ **Evaluarea activității pompelor de eflux prin metoda citometriei în flux, a culturii de *P. aeruginosa* în prezența PLA (CsI) și a antibioticelor la diferite concentrații.**

Pentru cele două tulpi multirezistente la care s-a observat rezistență de contact la cefepim și apariția unei zone de inhibiție a creșterii după cultivare în prezența PLA, analiza prin metoda citometriei de flux a evidențiat că, în prezența antibioticului la concentrații ridicate și a PLA, celulele bacteriene s-au protejat printr-un mecanism ce implica inchiderea funcțională a pompelor de flux. Totuși PLA la concentrație subinhibitorie a potențiat activitatea FEP la concentrație minima inhibitorie, aspect important având în vedere că în general, concentrațiile bactericide active de antibiotice sunt de multe ori imposibil de atins *in vivo*, datorită toxicității. Astfel, parabiotice ar putea reprezenta o soluție ecologică de potențare și de redare a eficienței antibioticelor existență, fără necesitatea creșterii dozelor terapeutice, asadar cu risc redus de apariție a unor efecte secundare.

Mai mult, studiile efectuate în aceasta lucrare au demonstrat faptul că PLA la doze active, este lipsit de citotoxicitate și nu induce modificări ale ciclului celular (de tip apoptotic). Aceasta acțiune sinergică sustine ideea actuală a utilizării **combinatiilor de substanțe active** pentru combaterea infecțiilor cu tulpi multirezistente și cu potential de formare a biofilmelor.

***Obiectivul 3: Evaluarea in vivo a efectului imunomodulator al diferitelor componente ale culturii de Enterococcus faecium CMGB 16 cu proprietăți probiotice, obținute după creștere în prezența culturilor inactivate termic de Escherichia coli și Bacillus cereus.***

Acțiunea probioticelor este duală, manifestându-se atât asupra microbiotei, cât și asupra epiteliului intestinal al gazdei. Interacția bacteriilor probiotice viabile cu alte specii ale microbiotei intestinale este exercitată prin fenomene de excludere competitiva (prin competiția pentru nutrienți și pentru siturile de aderență), prin sinteza unor molecule cu acțiune inhibitorie, iar interacționea cu organismul gazdă se manifestă indiferent de starea de viabilitate a celulelor bacteriene și este mediată de interacționea componentelor bacteriene cu celulele din structurile MALT (*Mucosal Associated Lymphoid Tissue*) care au capacitatea de a le recunoaște specific.

Interesul pentru utilizarea microorganismelor probiotice non-viabile sau a fragmentelor celulare (parabiotice) a crescut în ultimul timp, datorită riscului de infecții (la persoanele consumatoare de astfel de produse finite) și a apariției fenomenului de translocare a genelor de rezistență la antibiotice (Cross și colab., 2004).

## **Activități**

- **Studiul dinamicii nivelului unor citokine la șoareci holoxenici tratați profilactic cu fracții de cultură probiotică tratată cu culturi inactivate termic de *Escherichia coli* și *Bacillus cereus*.**

Rezultatele dinamicii nivelului de citokine la modelul de animal experimental utilizat (șoareci holoxenici), au evidențiat că unul din factorii care a influențat semnificativ rezultatele a fost vârsta animalelor. Deoarece șoareci holoxenici suferă un proces de îmbătrânire accelerată, temporizarea experimentelor pentru surprinderea momentului optim pentru determinarea profilului citokinic este foarte importantă. În studiu nostru, perioada optimă pentru determinarea cantitativă a IL 12 și TNF este situată în primele 7 zile de la prima administrare. S-a constatat că fracțiile de probiotic stimulate cu alte culturi bacteriene potențează menținerea unui nivel mai crescut de citokine (IL 12) pe o durată mai lungă de timp (pe toată durata studiului nostru, desfașurat pe 21 de zile).

Acest aspect sugerează faptul că expresia moleculelor imunomodulatoare inducă de bacteriile probiotice este influențată, prin mecanisme de comunicare intercelulară, de prezența altor specii bacteriene atât Gram pozitive, cât și Gram negative care populează tractul digestiv, constituind microbiota normală sau alogenă.

Inducerea sintezei TNF $\alpha$  de către bacteriile cu potential probiotic, observat și în alte experimente (Martin și colab., 2004, Maldonado și colab., 2007), favorizează stabilirea legăturilor funcționale între celulele epitelului intestinal și celulele imunitare din lamina propria (limfocite B, celule dendritice, macrofage). Efectul de potențiere a sintezei TNF la 14 și 21 de zile sugerează faptul că fragmentele celulare antigenice stimulează tardiv macrofagile din compartimentul subendotelial, principalele celule sintetizatoare de TNF.

- **Cuantificarea nivelului seric al interleukinelor pro și anti-inflamatorii la șoareci holoxenici infectați și ulterior tratați cu fracții de cultură probiotică tratată cu culturi inactivate termic de *Escherichia coli* și *Bacillus cereus*.**

Rezultatele studiilor privind influența parabioticelor administrate înainte sau după infecția experimentală a șoareci holoxenici sugerează faptul că, administrarea profilactică a componentelor probiotice determină un răspuns pro-inflamator mai intens și mai rapid, manifestat prin creșterea nivelului seric de IL 6, în cazul apariției ulterioare a infecției bacteriene. În urma acestor rezultate, am putea formula ipoteza conform căreia tractul digestiv este astfel "pregătit" pentru contactul cu patogenul.

Administrarea componentelor probiotice după infectia experimentală limitează în schimb amplitudinea răspunsului imun pro-inflamator (nivelul seric de IL-1 $\alpha$  și IL 6 fiind mai scăzut), protejând astfel organismul față de leziunile produse de un răspuns inflamator mult prea intens. Având în vedere efectul intens pro-inflamator și de promovare a febrei și stării de sepsis exercitat de IL-1 $\alpha$  (Malago și colab., 2011), scăderea nivelului seric de IL-1 $\alpha$  post-infectare, comparative cu efectul profilactic, poate reprezenta un mecanism de reglare la nivel intestinal a echilibrului dintre răspunsul pro și antiinflamator al organismului, în vederea evitării leziunilor epiteliale induse de citokine.

Cresterea nivelului seric de IFN  $\gamma$  în cazul infecției bacteriene indusă după etapa de profilaxie cu parabiotic, poate favoriza activarea limfocitelor T și diferențierea funcțională a acestora și prin urmare, amorsarea mai rapidă a unui răspuns imun specific. Implicarea probioticelor și a bacteriilor comensale în coordonarea răspunsului imun protector față de infecția cu patogeni prin stimularea sintezei IFN  $\gamma$  este susținută de o serie de studii experimentale. Astfel, *Lb. casei* Shirota induce expresia IFN  $\gamma$  și IL 12 în culturi de splenocite de șoarece (Kato și colab., 1999). Cultura de *Lb. reuteri* 100-23 administrată șoarecilor cu microbiotă intestinală complexă, în stadiile inițiale de colonizare, a indus sinteza de IFN  $\gamma$  și a altor citokine pro-inflamatorii (IL 1 $\alpha$ , IL 6) (Hoffmann și colab., 2008). Studii experimentale au arătat că IFN  $\gamma$  determină exprimarea receptorilor TLR 4 la suprafața enterocitelor, celulelor dendritice, macrofagelor (Basisio și colab., 2002), receptor implicat ulterior în recunoașterea patogenilor și activarea fagocitelor mononucleare (Sanz și colab., 2009).

## CONCLUZII

- Descoperirea fenomenului de quorum sensing la bacterii a condus la deschiderea unei noi perspective de dezvoltare a unor strategii terapeutice anti-patogenice. Acestea sunt bazate pe interferența cu mecanismele de semnalizare intercelulară, reprezentând o posibilă metodă, alternativă utilizării antibioticelor cu efect microbicid și cu presiune selectivă ridicată, care poate acționa prin represia exprimării genelor de virulență.
- Acidul fenil-lactic produs de bacteriile probiotice, exercită efect anti-patogenic față de tulpini multirezistente de *P. aeruginosa* manifestat la concentrații subinhibitorii, care nu interferă cu creșterea agentului patogen, aspect care demonstrează interferența PLA cu mecanismele de QS, implicat în reglarea producerii biofilmelor și a altor factori de invazie (lecitinază, lipază).
- PLA potențează efectul microbicid și reduce doza minimă activă a antibioticelor beta-lactamice, peniciline, cefalosporine, carbapeneme, probabil datorită acțiunii sinergice la nivelul peretelui celular.
- Bacteriile probiotice produc molecule care interferă cu căile de semnalizare citokinice ale organismului gazdă, demonstrând implicarea acestora în modularea capacitatei de apărare anti-infecțioasă, mediată prin mecanisme nespecifice (IL-1 $\alpha$ , IL-6) sau specific (IFN $\gamma$ ). Prin modularea expresiei IL-12, fracțiile probiotice constituie una dintre punctile de legătură între apărarea nespecifică și cea specifică.

- Producerea moleculelor de origine probiotică și acțiunile biologice ale acestora asupra virulenței și sensibilității la antibiotice ale bacteriilor patogene și asupra profilului citokinic al gazdei sunt influențate de interacțiunea cu alte componente ale microbiotei tractului intestinal, ceea ce demonstrează importanța mecanismelor de comunicare inter-celulară și inter-regn în menținerea echilibrului complex al ecosistemului mucoasei intestinale și în apărarea anti-infecțioasă.

## **LISTA DE PUBLICAȚII**

### **Articole publicate în reviste cotate ISI**

1. **Lia-Mara Dițu**, Mariana Carmen Chifiriuc, Eugenia Bezirtzoglou, Chrysa Voltsi, Coralia Bleotu, Diana Pelinescu, Grigore Mihăescu, Veronica Lazăr. 2011. *Modulation of virulence and antibiotic susceptibility of enteropathogenic Escherichia coli strains by Enterococcus faecium probiotic strain culture fractions*. Anaerobe. 17, 448-451.
2. Mariana Carmen Chifiriuc, Coralia Bleotu, Diana-Roxana Pelinescu, Veronica Lazăr, **Lia-Mara Dițu**, Tatiana Vassu, Ileana Stoica, Olguta Drăcea, Ionela Avram and Elena Săsărman. 2010. *Patterns of colonization and immune response elicited from interactions between enteropathogenic bacteria, epithelial cells and probiotic fractions*. IJMBR; 1(4)pp 47-57er.

### **Articole publicate în reviste BDI nationale**

1. **Dițu LM**, Chifiriuc C, Lazăr V, Mihăescu G. 2009. *Implication of quorum sensing phenomenon in the expression of genes that code for bacteriocines in lactic bacteria*, Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol. No 54(4), p 147-66. Review. Romanian.
2. Mariana-Carmen Chifiriuc, Coralia Bleotu, **Lia-Mara Dițu**, Diana Smarandache, Elena Săsărman, Otilia Banu, Olguța Drăcea, Cristina Larion, Veronica Lazăr. 2009. *In vivo experimental model for the study of subinhibitory concentrations of phenyl lactic acid on Staphylococcus aureus pathogenicity*, Roumanian Archives of Microbiology and Immunology, No. 68 (1), p. 34-37.
3. Lazăr V, Miyazaki Y, Hanawa T, Chifiriuc MC, **Dițu LM**, Măruțescu L, Bleotu C, Kamiya S. 2009. *The influence of some probiotic supernatants on the growth and virulence features expression of several selected enteroaggregative E. coli clinical strains*. Roum Arch Microbiol Immunol. Oct-Dec; 68(4):207-14.
4. Mariana-Carmen Balotescu, **Lia-Mara Dițu**, Otilia Banu, Coralia Bleotu, Olguța Drăcea, Marcela Bucur, Cristina Larion, Anca Michaela Israil, Veronica Lazăr. 2009. *Subinhibitory concentrations of phenyl lactic acid interfere with the expression of virulence factors in Staphylococcus aureus and Pseudomonas*

*aeruginosa* clinical strains. Roum. Arch. Microbiol. Immunol., vol. 68, nr. 1, 28-34.

#### **Lucrari publicate în volume ale conferintelor cu cotatie ISI (ISI Proceedings)**

1. **L. M. Dițu**, L. Măruțescu, G. Mihăescu, V. Lazăr, M. Chifiriuc. 2013. *Influence of subinhibitory concentrations of phenyl lactic acid and its synergic activity with antibiotics on Pseudomonas aeruginosa resistant strains*. ESCMID Conferences, April 2013, Berlin, Germany.
2. L. Măruțescu, **L.M. Dițu**, M. Mitache, V. Lazăr, M. Chifiriuc, 2013. *Interaction of different Lactobacillus paracasei probiotic culture fractions with pathogenic Streptococcus pyogenes strains isolated from kindergarten children*. ESCMID Conferences, April 2013, Berlin, Germany.
3. **L.M. Dițu**, MC Chifiriuc, E. Bezirtzoglou, C. Voltsi, C. Bleotu, D. Pelinescu, I. Sârbu, G. Mihăescu, V. Lazăr. 2011. *Modulation of virulence and antibiotic susceptibility of enteropathogenic E. coli strains by E. faecium probiotic strain culture fractions*. XXXIII International SOMED Congress, Greece, 6-10th Sept., Abstract Proceedings, p 74, Poster.
4. V. Lazăr, **L. M. Dițu**, C. Bleotu, D. Pelinescu, M. Chifiriuc, L. Măruțescu, S. Kamiya. 2009. *In Vitro Study Of Some Lactic Acid Bacterial Strains With Probiotic Activity For The Selection Of Optimal Interspecific Associations*. SOMED Congress, St. Petersburg, Russia, October 29–30, Oral Presentation.

#### **Lucrări științifice prezentate la congrese / simpozioane naționale, publicate în rezumat**

1. L. M. Dițu, L. Măruțescu, G. Mihăescu, V. Lazăr, M. Chifiriuc. 2013. *Evaluarea influenței acidului fenil-lactic și a acțiunii lui sinergice cu a antibioticelor asupra unor tulpini multirezistente de P. aeruginosa utilizând Citometria în Flux*. Al IX-lea Congres Național de Citometrie, București, România, 16-18 mai.
2. L.M. Dițu, M.C. Chifiriuc, C. Bleotu, V. Lazăr, G. Mihăescu. 2009. *Studiul interactiunii bacteriilor lactice cu tulpini patogene de microorganisme pe modele experimentale in vitro*. Sesiunea de comunicări științifice a Facultății de Biologie – Prezentare orală – **premiul II**.

3. Cotar A.I., Chifiriuc M.C., Dinu S., Bucur M., Iordache C., Banu O., Dracea O., Larion C., **Dițu L.M.**, Manoiu S., Lazar V., 2008, *Screening of molecular markers of virulence and quorum sensing in *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical infections*. Medical significance of microbial biofilms - Workshop, November 21<sup>th</sup>.

## BIBLIOGRAFIE

1. Adams CA. 2010. *The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers.* Nutr Res. Rev., 23:37–46.
2. Alberto Álvarez-Barrientos, Javier Arroyo, Rafael Cantón, César Nombela, and Miguel Sánchez-Pérez. 2000. *Applications of Flow Cytometry to Clinical Microbiology.* Clin. Microbiol. Rev. April; 13(2): 167–195.
3. Arevalo-Ferro, C., Hentzer, M., Reil, G., Görg, A., Kjelleberg, S., Givskov, M., Riedel, K., Eberl, L. 2003. *Identification of quorum-sensing regulated proteins in the opportunistic pathogen Pseudomonas aeruginosa by proteomics,* Environmental Microbiology, 12: 1350–1369.
4. Aucher, W., C. Lacombe, A. He'quet, J. Fre're, and J.-M. Berjeaud. 2005. *Influence of amino acid substitutions in the leader peptide on maturation and secretion of mesentericin Y105 by Leuconostoc mesenteroides.* J. Bacteriol. 187:2218–2223.
5. Backhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. 2005. Hostbacterial mutualism in the human intestine. Science, No. 307, p:1915–1920.
6. Barbosa Theolis, Maria Rescigno. 2010. *Host-bacteria interactions in the intestine: homeostasis to chronic inflammation.* Systems Biology And Medicine / All Issues / Vol 2 Issue 1 .
7. Bassler BL. 2002. Small talk. *Cell-to-cell communication in bacteria.* Cell.;109:421–424
8. Bauer Eva, Barbara A. Williams, Hauke Smidt, Martin W.A. Verstegen, and Rainer Mosenthin. 2006. Influence of the Gastrointestinal Microbiota on Development of the Immune System in Young Animals. Curr. Issues Intestinal Microbiol., No. 7, p: 35–52.
9. Baumgart D.C. and S.R. Carding. 2007. *Inflammatory bowel disease: Cause and immunobiology.* Lancet. 369: 1627–1640.
10. Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E. 2008. *Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial.* Lancet, 371:651–659.
11. Borriello, S.P., Hammes, W.P., Holzapfel, W. 2003. *Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria.* Clin. Infect. Dis., 36 , 775 –780

12. Bosisio D.,N. Polentarutti,M. Sironi, et al. 2002. Stimulation of toll-like receptor 4 expression in human mononuclear phagocytes by interferon-gamma: A molecular basis for priming and synergism with bacterial lipopolysaccharide. *Blood*. 99: 3427–3431.
13. Bosisio Daniela, Nadia Polentarutti, Marina Sironi, Sergio Bernasconi, Kensuke Miyake, Ginette R. Webb, Michael U. Martin, Alberto Mantovani, and Marta Muzio. 2013. *Stimulation of toll-like receptor 4 expression in human mononuclear phagocytes by interferon- : a molecular basis for priming and synergism with bacterial lipopolysaccharide*. bloodjournal.hematologylibrary.org.
14. Brunhuber N.M.W., Thoden J.B., Blanchard J.S., Vanhooke J.L. 2000. *Rhodococcus L-phenylalanine dehydrogenase: Kinetics, mechanism, and structural basis for catalytic specificity*. *Biochemistry*, 39, 9174-9187.
15. Chang Yi-Chung, Wei-Chen Kao, Wei-Ya Wang, Wan-Yi Wang, Ruey-Bing Yang, and Konan Peck. 2009. *Identification and characterization of oligonucleotides that inhibit Toll- like receptor 2-associated immune responses*. FASEB J.,p: 1096-129312v2.
16. Cheng Leo K., Gregory O'Grady, Peng Du, John U. Egbuji, John A. Windsor and Andrew J. Pullan. 2010. *Gastrointestinal system*. Advanced Review, Volume 2, p:65-79.
17. Chifiriuc Balotescu M.C., Ditu L.M., Banu O., Bleotu C., Dracea O., Bucur M., Larion C., Israil A.M., Lazar V. 2009. *Subinhibitory concentrations of phenyl lactic acid interfere with the expression of virulence factors in Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa strains*. Romanian Archives of Microbiology and Immunology, 68, 27-33.
18. Chifiriuc Balotescu M.C., Lazar V., Dracea O., Ditu L.M., Smarandache D., Bucur M., Larion C., Cernat R., Sasarman E. 2007. *Drastic attenuation of Pseudomonas aeruginosa pathogenicity in a holoxenic mouse experimental model induced by subinhibitory concentrations of Phenyllactic acid (PLA) produced by lactic acid bacteria*. International Journal of Molecular Sciences, 8, 583-592.
19. Chifiriuc M.C., Mihaescu G., Lazar V. 2011. *Microbiologie și Virologie medicală*, Ed. Univ. București, ISBN 978-973-737-985-6..

20. Christopher M Waters, Bonnie L Bassler. 2005. *Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria*. Annual review of cell and developmental biology. 21:319-46. ISSN: 1081-0706.
21. Cross ML, Ganner A, Teilab D, Fray LM. 2004. *Patterns of cytokine induction by gram-positive and gram-negative probiotic bacteria*. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 42:173–180.
22. Davidson, A. L., and J. Chen. 2004. *ATP-binding cassette transporters in bacteria*. Annu. Rev. Biochem. 73:241–268.
23. De Kievit T., Inglewski H.B. 2000. Bacterial *Quorum sensing in pathogenic relationships*. Infection and Immunity.; 68:4839-4849.
24. De La Cochetière Marie France, Carole Rougé, Dominique Darmaun, Jean Christophe Rozé, Gilles Potel and Christele Gras Leguen. 2007. *Intestinal Microbiota in Neonates and Preterm Infants: A Review*. Current Pediatric Reviews, No 3, p:21-34.
25. Dieuleveux V, Gueguen M. 1998. *Antimicrobial effects of D-3-phenyllactic acid on Listeria monocytogenes in TSB-YE medium, milk, and cheese*. J Food Prot. 61:1281–1285.
26. Dieuleveux V, Lemarinier S, Gueguen M. 1998. *Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid*. Int J Food Microbiol. 40:177–183.
27. Dima F.V., Balotescu C., Dima St. V. 2000. *Potentiation of the activity of mucosal vaccines by immunological adjuvant*. Roumanian Archive of Microbiology and Immunology., 3:158-210.
28. Ditu LM, Chifiriuc MC, Bezirtzoglou E, Voltsi C, Bleotu C, Pelinescu D, Mihaescu G, Lazar V. 2011. *Modulation of virulence and antibiotic susceptibility of enteropathogenic Escherichia coli strains by Enterococcus faecium probiotic strain culture fractions*. Anaerobe. No 17(6), p 448-51.
29. Dong, Y-H.; Gusti, A. R.; Zhang, Q.; Xu, J.-L.; Zhang, L.-H. 2002. *Identification of Quorum-Quenching N-Acyl Homoserine Lactonases from Bacillus Species*, Appl. Environ. Microbiol. 68: 1754-1759.
30. Drieder D., Fimland G., Hechard Y., McMullen M.L., Prevost H. 2006. *The continuing story of Class IIa Bacteriocins*. Microbiology and Molecular Biology Review. 70: 564-582.

31. Dutton C. J., M. A. Haxell, H. A. I. McArthur, and R. G. Wax (ed.). 2002. *Peptide antibiotics: discovery, modes of action and application*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 50:149.
32. Dwayne C. Savage. 2005. *Mucosal Immunology* (Third Edition), p: 19-33.
33. Eijsink VG, Axelsson L, Diep DB, Havarstein LS, Holo H, Nes IF. 2002. *Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of biological warfare and communication*. Antonie Van Leeuwenhoek., 81: 639–654.
34. Ennahar, S., T. Sashihara, K. Sonomoto, and A. Ishizaki. 2000. *Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity*. FEMS Microbiol. Rev. 24:85–106.
35. Esther Biemans-Oldehinkel, Mark K. Doeven1, Bert Poolman. 2006. *ABC transporter architecture and regulatory roles of accessory domains*. FEBS Letters 580: 1023–1035
36. FITC Annexin V/Dead Cell Apoptosis Kit with FITC annexin V and PI, for Flow Cytometry, Catalog no. V13242, 2010.
37. Fitzpatrick LR, Small J, Hoerr RA, Bostwick EF, Maines L, Koltun WA. 2008. *In vitro and in vivo effects of the probiotic Escherichia coli strain M-17: immunomodulation and attenuation of murine colitis*. Br J Nutr. ;100:530–41
38. Forchielli M.L. and W.A. Walker. 2005. *The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defense*. Br J Nutr. 93: S41–S48.
39. Franke, C. M., J. Tiemersma, G. Venema, and J. Kok. 1999. *Membrane topology of the lactococcal bacteriocin ATP cassette transporter protein LcnC. Involvement of LcnC in lactococcin A maturation*. J. Biol. Chem. 274:8484–8490.
40. Fregeau Gallagher, N. L., M. Sailer, W. P. Niemczura, T. T. Nakashima, M. E. Stiles, and J. C. Vederas. 1997. *Three-dimensional structure of leucocin A in trifluoroethanol and dodecylphosphocholine micelles: spatial location of residues critical for biological activity in type IIa bacteriocins from lactic acid bacteria*. Biochemistry 36:15062–15072.
41. Frick JS, Schenk K, Quitadamo M, Kahl F, Köberle M, Bohn E, Aepfelbacher M, Autenrieth. 2007. *Lactobacillus fermentum attenuates the proinflammatory effect of Yersinia enterocolitica on human epithelial cells*. Inflamm Bowel Dis. Jan;13(1):83-90.

42. Friesen, R, and S.M. Innis. 2006. *Trans Fatty acids in Human milk in Canada declined with the introduction of trans fat food labeling*. J. Nutr., 136, p: 2558–2561.
43. Fukata Masayuki, Kathrin S. Michelsen, Rajaraman Eri, Lisa S. Thomas, Bing Hu, Katie Lukasek, Cynthia C. Nast, Juan Lechago, Ruliang Xu, Yoshikazu Naiki, Antoine Soliman, Moshe Arditi, and Maria T. Abreu. 2005. *Toll-like receptor-4 is required for intestinal response to epithelial injury and limiting bacterial translocation in a murine model of acute colitis*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol., No. 288, p: G1055–G1065.
44. Geraldine O. Canny and Beth A. McCormick. 2008. *Bacteria in the Intestine, Helpful Residents or Enemies from Within? Infection And Immunity*, p. 3360–3373.
45. Gobbetti M, Cagno RD, De Angelis M. 2010. *Functional microorganisms for functional food quality*. Crit Rev Food Sci Nutr., 50:716–727.
46. Gonzalez J.E., Keshavan N.D. 2006. *Messing with bacterial quorum sensing*. Microbiology and Molecular Biology Review, , 70:859-875.
47. Hattori Masahira, and Todd D. Taylor. 2009. *The Human Intestinal Microbiome: A New Frontier of Human Biology*. Dna Research, 16, p:1–12.
48. Haugen, H. S., G. Fimland, J. Nissen-Meyer, and P. E. Kristiansen. 2005. *Three-dimensional structure in lipid micelles of the pediocin-like antimicrobial peptide curvacin A*. Biochemistry 44:16149–16157.
49. Håvarstein, L. S., D. B. Diep, and I. F. Nes. 1995. *A family of bacteriocin ABC transporters carry out proteolytic processing of their substrates concomitant with export*. Mol. Microbiol. 16:229–240.
50. Hoffmann M., E. Rath, G. Hölzlwimmer, et al. 2008. *Lactobacillus reuteri 100-23 transiently activates intestinal epithelial cells of mice that have a complex microbiota during early stages of colonization*. J Nutr. 138: 1684–1691.
51. Huuhne, K., L. Axelsson, A. Holck, and L. Krookel. 1996. *Analysis of the sakacin P gene cluster from Lactobacillus sake Lb674 and its expression in sakacin-negative Lb. sake strains*. Microbiology. 142:1437–1448.
52. Ingham, A. B., M. Ford, R. J. Moore, and M. Tizard. 2003. *The bacteriocin piscicolin 126 retains antilisterial activity in vivo*. J. Antimicrob. Chemother. 51:1365–1371.

53. Israil A.M., Palade R.S., Chifiriuc M.C., Delacru C. 2011. *Bifidobacterium sp.unique entiopathogenic agent in intra-abdominal infections.* African Journals of Medical research, 4873-4880.
54. Israil A.M., Chifiriuc M.C., Palade R.S., Cotar A.I. 2013. *Aspecte clinice și bacteriologice în infecții bacteriene asociate urgențelor chirurgicale abdominale.* Ed. Ars Docendi Univ. București. ISBN 978-973-558-664-5.
55. Jayaraman, A., Wood, T.H. 2008. *Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease.* Annual Review of Biomedical Engineering. 10: 145-167.
56. Kaper J. B. and Sperandio V. 2005. *Bacterial Cell-to-Cell Signaling in the Gastrointestinal Tract.* Infection And Immunity, 6:3197–3209
57. Kaper, J. B., J. P. Nataro, and H. L. T. Molley. 2004. *Pathogenic Escherichia coli.* Nat. Rev. Microbiol. 2:123–140.
58. Karlsson T., Turkina M.V., Yakymenko O., Magnusson K.E., Vikstrom E. 2012. *The Pseudomonas aeruginosa N-Acylhomoserine Lactone Quorum Sensing Molecules Target IQGAP1 and Modulate Epithelial Cell Migration.* PLAS Pathogens, 8:1-17.
59. Kataria J, Li N, Wynn JL, Neu J. 2009. *Probiotic microbes: do they need to be alive to be beneficial?* Nutr Rev., 67:546–550
60. Kato I., K. Tanaka, and T. Yokokura. 1999. *Lactic acid bacterium potently induces the production of interleukin-12 and interferon-γ by mouse splenocytes.* Int J Immunopharmacol. 21: 121–131.
61. Kelly Denise, Shaun Conway and Rustam Aminov. 2005. *Commensal gut bacteria: mechanisms of immune modulation.* TRENDS in Immunology, Vol.26 No.6 .
62. Kelly Denise, Shaun Conway. 2005. Bacterial modulation of mucosal innate immunity Molecular Immunology, No. 42, p: 895–901.
63. Kelly Denise, Timothy King, Rustam Aminov. 2007. *Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity.* Mutation Research, 622, p:58–69.
64. Khan R.I., Onodera, R., Amin M.R., Mohammed N. 2002. *Aromatic amino acid biosynthesis and production of related compounds from p-hydroxyphenylpyruvic acid by rumen bacteria, protozoa and their mixture.* Amino Acids, 22, 167-177.

65. Kieronczyk A., Skeie S., Langsrud T., Yvon, M. 2003. *Cooperation between Lactococcus lactis and nonstarter lactobacilli in the formation of cheese aroma from amino acids.* Applied and Environmental Microbiology. 69, 734-739.
66. Kiewit T.R., Iglewski B.H. 2000. *Bacterial quorumsensing in pathogenic relationship.* Infection and Immunity. 4839-4859.
67. Kim Y, Sae-Hun K, Kwang-Youn W, Young-Jun K, Sejong O. 2008. *Inhibition of Escherichia coli O157:H7 attachment by interactions between lactic acid bacteria and intestinal epithelial cells.* J Microbiol Biotechnol. 18:1278–85.
68. Kleerebezem M. 2004. *Quorum sensing control of lantibiotic production; nisin and subtilin autoregulate their own biosynthesis.* Peptides. 25:1405-1414.
69. Kleerebezem M., Quadri L.E. 2001. *Peptide pheromone-depend regulation of antimicrobial peptide production in Gram-positive bacteria: a case of multicellular behavior.* Peptides. 22:1579-1596.
70. Kong, K-F.; Vuong, C.; Otto M. 2006, *Staphylococcus quorum sensing in biofilm formation and infection.* International Journal of Medical Microbiology, 296: 133–139.
71. Kristiansen, P. E., G. Fimland, D. Mantzilas, and J. Nissen-Meyer. 2005. *Structure and mode of action of the membrane permeabilizing antimicrobial peptide pheromone plantaricin A.* J. Biol. Chem. 280:22945–22950.
72. Kuipers O.P., Beerthuizen M.M., de Ruyter P.G.G.A., Luesink E.J., de Vos W.M. 1995. *Autoregulation of nisine biosynthesis in Lactococcus lactis by signal transduction.* J. Biol. Chem; 270:27299-304.
73. Kuipers O.P., Beerthuizen MM., Siezen R.J., de Vos W.M. 1993. *Characterisation of the nisine gene cluster nis ABTCIPR of Lactococcus lactis requirement of expression of the nis A and nis I genes for development of immunity.* Eur. J. Biochem. 216:281-91.
74. Kuipers O.P., de Ruiter P.G.G.A., Kleerebezem M., de Vos W. 1998. *Quorum-sensing-controlled gene expression in lactic acid bacteria.* Journal of Biotechnology. 64:15-21.

75. Lavermicocca, P., Valerio, F., Visconti, A. 2002. *Antifungal activity of phenillactic acid against molds isolated from bakery products*. Applied and Environmental Microbiology; 69: 634-640.
76. Lazar V. 2003. *Aderenta microbiana*. Editura Academiei Romane, Bucuresti,.
77. Lazar V., Balotescu C., Smarandache D., Vassu T., Sasarmean E., Petrache L.M., Orasanu, M., Cernat, R. 2004. *In vitro study of the interference of some Enterococcus strains with the adhesion of human and poultry enteropathogens to HeLa cells*. Roumanian Biotechnological Letters, 9: 1675 – 1681.
78. Lazar V., Bezirtzoglou E., Balotescu M.C., Cernat R., Ilina L., Bulai D., Vadineanu E., Tache E., 2004. *Study of adhesive and invasion capacity of some opportunistic enterobacterial strains and interaction with probiotics*. Romanian Biotechnological Letters, 9, 1705-1711.
79. Lazăr Veronica, 2007. *Microbiologie Medicală*. Editura Universității din Bucuresti.
80. LeBlanc J., Fliss I., Matar C. 2004. *Induction of a Humoral Immune Response following an Escherichia coli O 157:H7 infection with an Immunomodulatory Peptidic Fraction Derived from Lactobacillus helveticus – Fermented Milk*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 11:1171-1181.
81. Lievin-Le Moal Vanessa and Alain L. Servin, 2006. *The Front Line of Enteric Host Defense against Unwelcome Intrusion of Harmful Microorganisms: Mucins, Antimicrobial Peptides, and Microbiota*. Clinical Microbiology Reviews, Vol. 19, No. 2, p. 315–337.
82. Macpherson Andrew J. & Nicola L. Harris. 2004. *Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system*. Nature Reviews Immunology, No. 4, p:478-485.
83. Macpherson Andrew J. and Therese Uhr. 2004. *Induction of Protective IgA by Intestinal Dendritic Cells Carrying Commensal Bacteria*. Science, No.12, Vol. 303. p: 1662 – 1665.
84. Magnusson, J. 2003. *Antifungal activity of lactic acid bacteria*. Doctor's dissertation. Departament of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences.
85. Malago J.J., Koninkx J.F.J.G., Marinsek-Logar R.2011. *Probiotic Bacteria and Enteric Infections*. Springer Dordrecht Heideberg London New York.

86. Maldonado Galdeano C., Moreno de Le Blanc A., Vinderola G., Bibas Bonet M.E., Perdigon G. 2007. *Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria*. Clinica and Vaccine Immunology, 5: 485-492.
87. McCracken Vance J. and Robin G. Lorenz. 2001. *The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota*. Cellular Microbiology 3(1), p:1-11
88. Medellin-Pena M.J., Wang H., Johnson R., Anand S., Griffiths M.W. 2007. *Probiotics affect virulence-related gene expression in Escherichia coli O157:H7*. Applied and Environmental Microbiology; 73:4259-4267.
89. Mennigen, R., & Bruewer, M. 2009. *Effect of probiotics on intestinal barrier function*. Annals of the New York Academy of Sciences, No. 1165, p:183–189.
90. Mihăescu G., Chifiriuc C., Dițu L.M. 2009. *Imunobiologie*. Ed. Univ. București, 572 p. ISBN – 978-973-737-734-0.
91. Mihăescu G., Chifiriuc C., Lazăr V. 2013. *Principii și tehnici de analiza imunologica și moleculara utilizate în laboratorul clinic*. Editura Universității din Bucuresti.
92. Mihăescu G., Chifiriuc M.C., Dițu L.M. 2007. *Antibiotice și substanțe chimioterapeutice antimicrobiene*. Editura Academiei Romane, Bucuresti, 357 p. ISBN 978-973-27-1573-4.
93. Miller, K. W., P. Ray, T. Steinmetz, T. Hanekamp, and B. Ray. 2005. *Gene organization and sequences of pediocin AcH/PA-1 production operons in Pediococcus and Lactobacillus plasmids*. Lett. Appl. Microbiol. 40:56–62.
94. Miller, M. B., and B. L. Bassler. 2001. *Quorum sensing in bacteria*. Annu. Rev. Microbiol. 55:165–199.
95. Montalto M., F.D. Onofrio, A. Gallo, A. Cazzato, G. Gasparrini. 2009. *Intestinal microbiota and its functions*. Digestive and Liver Disease Supplements, No.3, p:30-34.
96. Morgenstern, S., R. Koren, S. F. Moss, G. Fraser, E. Okon, and Y. Niv. 2001. *Does Helicobacter pylori affect gastric mucin expression? Relationship between gastric antral mucin expression and H. pylori colonization*. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 13 , p:19–23.
97. Morisset, D., J. M. Berjeaud, D. Marion, C. Lacombe, and J. Fre're. 2004. *Mutational analysis of mesentericin Y105, an anti-Listeria bacteriocin, for*

- determination of impact on bactericidal activity, in vitro secondary structure, and membrane interaction.* Appl. Environ. Microbiol. 70:4672–4680.
98. Moubareck C., M. Lecso, E. Pinloche, M. J. Butel, and F. Doucet-Populaire. 2007. *Inhibitory Impact of Bifidobacteria on the Transfer of  $\beta$ -Lactam Resistance among Enterobacteriaceae in the Gnotobiotic Mouse Digestive Tract.*, Appl Environ Microbiol., 73(3): 855–860.
99. Moughan PJ, Birtles MJ, Cranwell PD, Smith WC, Pedraza M. 1992. *The piglet as a model animal for studying aspects of digestion and absorption in milk-fed human infants.* In: Simopoulos AP, ed. Nutritional triggers for health and in disease. Basel, Switzerland: Karger, p:40–113.
100. Moura A., A. Nicolau, T. Hooton and J. Azeredo. 2009. *Antibiotherapy and pathogenesis of uncomplicated UTI: difficult relationships.* Journal of Applied Microbiology, 106: 1779–1791.
101. *Mouse TNF alpha ELISA Kit*, Thermo Scientific, Pierce Biotechnology, 2012
102. *Mouse IL 12 ELISA Kit*, Thermo Scientific, Pierce Biotechnology, 2012.
103. *Mouse IL 1a ELISA Kit*, Thermo Scientific, Pierce Biotechnology, 2012.
104. *Mouse IL 6 ELISA Kit*, Thermo Scientific, Pierce Biotechnology, 2012.
105. *Mouse IFN  $\gamma$  ELISA Kit*, Thermo Scientific, Pierce Biotechnology, 2012.
106. Mussi-Pinhata MM, Rego MA. 2005. Immunological peculiarities of extremely preterm infants: a challenge for the prevention of nosocomial sepsis. J Pediatr (Rio J), 81(1 Suppl), p:59-68.
107. Nes, I. F., H. Holo, G. Fimland, H. H. Hauge, and J. Nissen-Meyer. 2002. *Unmodified peptide-bacteriocins (class II) produced by lactic acid bacteria*, p. 81–115.
108. Netea, M. G., van de Veerdonk, F. L., Kullberg, B. J., Van der Meer, J. W., & Joosten, L. A. (2008). *The role of NLRs and TLRs in the activation of the inflammasome.* Expert Opinion on Biological Therapy, No. 8, p:1867–1872.
109. Nissen, L., Chingwaru, W., Sgorbati, B., Biavati, B., & Cencic, A. 2009. *Gut health promoting activity of new putative probiotic/protective Lactobacillus spp. strains: a functional study in the small intestinal cell model.* International Journal of Food Microbiology, No.135, p:288–294.
110. O’Hara AM., Shanahan F. 2006. *The gut flora as a forgotten organ.* EMBO Rep, No.7, p:688-693.

111. O'Toole Paul W. and Jakki C. Cooney. 2008. *Probiotic Bacteria Influence the Composition and Function of the Intestinal Microbiota*. Interdiscip Perspect Infect Dis., p:175285.
112. Park HK, Shim SS, Kim SY, et al. 2005. *Molecular analysis of colonized bacteria in a human newborn infant gut*. J Microbiol; 43(4), p: 345-53.
113. Parsek M.R., Greenberg E.P. 2000. *Acyl-homoserin lactone quorum sensing in Gram negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms*. PNAS. 97:8789-8793.
114. Piard J. C., D. Marion, Y. Cenatiempo, and C. Frémaux. 1998. *Divercin V41, a new bacteriocin with two disulphide bonds produced by Carnobacterium divergens V41: primary structure and genomic organization*. Microbiology, 144:2837–2844.
115. Pridmore, R. D., Pittet, A. C., Praplan, F., & Cavadini, C. 2008. *Hydrogen peroxide production by Lactobacillus johnsonii NCC 533 and its role in anti-Salmonella activity*. FEMS Microbiology Letters, 283:210–215.
116. Quadri L.E.N. 2003. *Regulation of class II bacteriocin production by cell-cell signaling*. The Jurnal of Microbiology. 41:175-182.
117. Quadri, L. E. N., M. Kleerebezem, O. P. Kuipers, W. M. de Vos, K. L. Roy, J. C. Vederas, and M. E. Stiles. 1997. *Characterization of a locus from Carnobacterium piscicola LV17B involved in bacteriocin production and immunity: evidence for global inducer-mediated transcriptional regulation*. J. Bacteriol. 179:6163–6171.
118. Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., & Medzhitov, R. 2004. *Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis*. Cell, 118, p:229–241.
119. Ray, B., R. Schamber, and K. W. Miller. 1999. *The pediocin AcH precursor is biologically active*. Appl. Environ. Microbiol. 65:2281–2286.
120. Reid G., Jass J., sebulsky M.T., McCormick J.K. 2003. *Potential use of Probiotics in Clinical Practice*. Clinical Microbiology Review, 16: 658-672.
121. Reilly Natasha, Vitaliy Poylin, Michael Menconi, Andrew Onderdonk, Stig Bengmark, and Per-Olof Hasselgren. 2007. *Probiotics potentiate IL-6 production in IL-1 $\beta$ -treated Caco-2 cells through a heat shock-dependent mechanism*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.,293: R1169–R1179.

122. Resta-Lenert S, K E Barrett. 2003. *Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)*. Gut, 52, 988–997
123. Ruiz PA, Hoffmann M, Szcesny S, Blaut M, Haller D. 2005. *Innate mechanisms for *Bifidobacterium lactis* to activate transient pro-inflammatory host responses in intestinal epithelial cells after the colonization of germ-free rats*. Immunology. 115:441–50.
124. Rumbo M, Anderle P, Didierlaurent A, Sierro F, Debard N, Sirard JC, Finke D, Kraehenbuhl JP. 2004. *How the gut links innate and adaptive immunity*. Ann N Y Acad Sci. 1029:16-21.
125. Ryan, K. A., O’Hara, A. M., van Pijkeren, J. P., Douillard, F. P., & O’Toole, P. W. 2009. *Lactobacillus salivarius modulates cytokine induction and virulence factor gene expression in Helicobacter pylori*. Journal of Medical Microbiology, 58: 996–1005.
126. Salzman Nita H. a, Mark A. Underwood b, Charles L. Bevins. 2007. *Paneth cells, defensins, and the commensal microbiota: A hypothesis on intimate interplay at the intestinal mucosa*. Seminars in Immunology 19: 70–83.
127. Sanz Yolanda and Giada De Palma. 2009. *Gut Microbiota and Probiotics in Modulation of Epithelium and Gut-Associated Lymphoid Tissue Function*. International Reviews of Immunology, 28:397–413.
128. Sarah Lebeer, Sigrid C. J. De Keersmaecker, Tine L. A. Verhoeven, Abeer A. Fadda, Kathleen Marchal, and Jos Vanderleyden. 2007. *Functional Analysis of luxS in the Probiotic Strain Lactobacillus rhamnosus GG Reveals a Central Metabolic Role Important for Growth and Biofilm Formation*. Journal of Bacteriology., 189: 860–871.
129. Sarah O’Flaherty, Todd R. Klaenhammer. 2010. *The role and potential of probiotic bacteria in the gut, and the communication between gut microflora and gut/host*. International Dairy Journal, Volume 20, Issue 4, p:262-268.
130. Schneeberger, E. E., & Lynch, R. D. 2004. *The tight junction: a multifunctional complex*. American Journal of Physiology Cell Physiology, No. 286, p:1213–C1228.
131. Shanahan F. 2002. *The host–microbe interface within the gut*. Best Pract Res Clin Gastroenterol No. 16, p: 915–931.

132. Shanahan F. 2005. *Physiological basis for novel drug therapies used to treat the inflammatory bowel diseases. I. Pathophysiological basis and prospects for probiotic therapy in inflammatory bowel disease.* Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol., No. 288, p: G417–G421.
133. Sherman P. M., Ossa J. C., Johnson-Henry K. 2009. *Unraveling Mechanisms of Action of Probiotics.* Nutrition in Clinical Practice, 24: 10-14.
134. Smarandache D., Balotescu M.C., Vassu T., Lazar V., Sasarman E., Israil A.M. 2005. *In vivo experimental study of the beneficial effects of some selected lactic acid bacteria against the gastro-intestinal colonization with Salmonella enteritidis.* Romanian Biotechnological Letters, 10, 2481-2493.
135. Smiley, A., Hassett, D., 2006. *Pseudomonas aeruginosa Biofilm Infections in Cystic Fibrosis.* Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy.
136. Sperandio Vanessa, Alfredo G. Torres and James B. Kaper. 2002. *Quorum sensing Escherichia coli regulators B and C (QseBC): a novel two-component regulatory system involved in the regulation of flagella and motility by quorum sensing in E. coli.* Molecular Microbiology, 43(3), p:809–821.
137. Sperandio Vanessa, Alfredo G. Torres, Bruce Jarvis, James P. Nataro, and James B. Kaper. 2003. *Bacteria–host communication: The language of hormones.* PNAS, No. 22, vol. 100, p: 8951–8956
138. Sprules, T., K. E. Kawulka, A. C. Gibbs, D. S. Wishart, and J. C. Vederas. 2004. *NMR solution structure of the precursor for carnobacteriocin B2, an antimicrobial peptide from Carnobacterium piscicola.* Eur. J. Biochem. 271:1748–1756.
139. Strom, K., Sjogren, J., Broberg, A., Schnurer, J. 2002. *Lactobacillus plantarum MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and phenyllactic acid.* Applied and Environmental Microbiology, 68, 4322-4327.
140. Sturme MHJ., Francke C., Siezen RJ., de Vos WM., Kleerebezem M. 2007. *Making sense of quorum sensing in lactocacilli: a special focus on Lactobacillus plantarum WCFS1.* 153:3939-3947.
141. Struga, M.; Kossakowski, J.; Koziol, A.E.; Kedzierska, E.; Fidecka, S.; LaColla, P.; Ibba, C.; Collu, G., Sanna, G.; Secci, B; Loddo, R. 2009. *Synthesis, pharmacological and antiviral activity of 1,3-thiazepine derivatives.* Eur. J. Med. Chem., 44, 4960-4969.

142. Suga H., Smith K.M. 2003. *Molecular mechanism of bacteria quorum sensing as a new drug target*. Current opinion in Chemical Biology. 7:586-591.
143. Taverniti Valentina, Simone Guglielmetti. 2011. *The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept)*. Genes Nutr., p:6:261–274.
144. Thomas Carissa M. and James Versalovic. 2010. *Probiotics-host communication Modulation of signaling pathways in the intestine*. Gut Microbes. 1(3): 1–16.
145. Tiihonen Kirsti, Arthur C. Ouwehand, Nina Rautonen. 2009. *Human intestinal microbiota and healthy ageing*. Ageing Research Reviews, vol. 9, p:107-116.
146. Turovskiy Y., Kashtanov D., Paskhover B., Chikindas M. L. 2007. *Quorum sensing: Fact, Fiction, and Everything in between*. Adv. Appl Microbiol.62:191-234.
147. Uteng, M., H. H. Hauge, P. R. Markwick, G. Fimland, D. Mantzilas, J. Nissen-Meyer, and C. Muhle-Goll. 2003. *Three-dimensional structure in lipid micelles of the pediocin-like antimicrobial peptide sakacin P and a sakacin P variant that is structurally stabilized by an inserted C-terminal disulfide bridge*. Biochemistry 42:11417–11426.
148. Wachsman, M. B., V. Castilla, A. P. de Ruiz Holgado, R. A. de Torres, F. Sesma, and C. E. Coto. 2003. *Enterocin CRL35 inhibits late stages of HSV-1 and HSV-2 replication in vitro*. Antivir. Res. 58:17–24.
149. Wang, Y., M.E. Henz, N.L. Gallagher, S. Chai, A.C. Gibbs, L.Z. Yan, M.E. Stiles, D.S. Wishart, and J.C. Vederas. 1999. *Solution structure of carnobacteriocin B2 and implications for structure-activity relationships among type IIa bacteriocins from lactic acid bacteria*. Biochemistry 38, 15438-15447.
150. Wilson Michael. 2008. *Bacteriology of humans. An ecological perspective*. Blackwell Publishing Ltd, Chapter 9, p: 266-326.
151. Wirtz Stefan and Markus F. Neurath. 2005. *Illuminating the role of type I IFNs in colitis*. J. Clin. Invest. 115(3), p: 586-588. (poza CD)
152. Xu J., Mahowald MA., Ley RE., el al. 2007. *Evolution of symbiotic bacteria in the distal human intestine*. PloS Biol., No. 5, p: 156.
153. Xu Jian and Jeffrey I. Gordon. 2003. *Honor thy symbionts*. Proc Natl Acad Sci USA, No. 100, p:10542-10459.

154. Yang D., O. Chertov and J. J. Oppenheim. 2001. *The role of mammalian antimicrobial peptides and proteins in awakening of innate host defenses and adaptive immunity.* CMLS, Cell. Mol. Life Sci., No. 58, p:978–989
155. Zoetendal, E.G., von Wright, A., Vilpponen-Salmela, T., Ben-Amor, K., Akkermans,A.D.L., de Vos, W.M., 2002. *Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces.* Appl. Environ. Microbiol. 68 (7), p:3401–3407.
156. <http://vanderdonk.scs.uiuc.edu/Research/Lantibiotics/Lantibiotics.htm>.
157. <http://www.rsc.org/ej/NP/2000/a801347k/a801347k-f3.gif>.
158. [www.vandvdevelopments.com/nisin.php](http://www.vandvdevelopments.com/nisin.php).
159. [www-ibmc.u-strasbg.fr/ict/immunomodulation](http://www-ibmc.u-strasbg.fr/ict/immunomodulation).