

IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica

Resumen de ponencias

Sumario

Simposio Probióticos y prebióticos en Pediatría

*Juan Evaristo Suárez
Enriqueta Román Riechmann
Luis Menchén Viso
Guillermo Álvarez Calatayud
Gaspar Pérez Martínez
Javier González de Dios*

Sesión Usos Clínicos

*Juan Miguel Rodríguez
Rocío Martín
Fernando Azpiroz
Rosa María del Campo
Jaime Forero
Borja Sánchez
José Ignacio Zalba Elizari*

Sesión Microbiología

*Glenn Gibson
Silvia Arboleya
Alfonso Benítez
Alfonso Clemente
Tomás García
Miguel Gueimonde
Gaspar Pérez*

Sesión Inmunología

*Eduardo Schiffrin
Malen Massot
Rebeca Martín
Anna Otal
Oscar Palomares
Alba Rodríguez
Alfonso Ruíz*

Sesión Veterinaria

*Viorica Braniste
Susana Martín
María Jesús Peinado
Nelson Pérez
Gaspar Pérez*





Redacción: Máximo Puertas Martín

Traducciones: J. David González-Iglesias González

Sumario

Simposio Probióticos y prebióticos en Pediatría

Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos.

Juan Evaristo Suárez

Universidad de Oviedo

6

Empleo de probióticos y prebióticos en Pediatría

Enriqueta Román Riechmann

Servicio de Pediatría. Hospital Puerta de Hierro-Majadahonda

9

Nuevas Líneas de investigación. Posibles aplicaciones de los probióticos y prebióticos

Luis Menchén Viso

Servicio de aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón

12

¿Son útiles los probióticos? ¿Se emplean los que han demostrado eficacia, y de modo adecuado?

Gaspar Pérez Martínez

Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC), Valencia

15

Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC)

Javier González de Dios

Servicio de Pediatría. Hospital Universitario de Alicante

17

Sesión Usos Clínicos

Microbiota mamaria y probióticos en la lactancia.

Juan Miguel Rodríguez

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid

Rocío Martín

Danone Research Centre for Specialised Nutrition.

19

Flatulencia: características clínicas, fisiológicas y microbiológicas.

Fernando Azpiroz

Servicio de Gastroenterología. Hospital General de Vall d'Hebron

22

Presencia del género Streptococcus en leche materna: ¿inoculación orofaríngea directa para el neonato?

Rosa María del Campo

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal

23

Efectividad del uso de un probiótico multispecie en la prevención de enterocolitis necrotizante en recién nacidos pretérmino.

Jaime Forero

Servicio cuidado intensivo pediátrico y neonatal. Clínica Chicamocha, Colombia.

24

Aplicación de los niveles de anticuerpos dirigidos contra proteínas extracelulares de probióticos como marcadores de enfermedad.

Borja Sánchez

Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC)

25

Empleo de Probióticos en Odontología

José Ignacio Zalba Elizari

Centro Avanzado en Prevención, Pamplona

26

Sesión de Microbiología

Desarrollo y estudios de eficacia de un nuevo prebiótico

Glenn Gibson

University of Reading, Reino Unido

29

Efecto probiótico in vitro de cepas de Bifidobacterium en muestras fecales de niños prematuros

Silvia Arboleya

Instituto de Productos Lácteos de Asturias (CSIC)

31

Characterization of Streptococcus anticariensis, a potential probiotic for human oral health

Alfonso Benítez

Centre Superior d'Investigació en Salut Pública, Valencia

32

The bifidogenic effect of galacto-oligosaccharides in rats is dependent of their structural characteristics

Alfonso Clemente

Estación Experimental del Zaidín (CSIC)

33

Empleo de la técnica MALDI-TOF/TOF para la identificación taxonómica bacteriana y la diferenciación de cepas productoras de bacteriocinas

Tomás García

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM)

34

Relación entre los resultados metagenómicos de la microbiota fecal y la población real de microorganismos

Miguel Guemonde

Instituto de Productos Lácteos de Asturias (CSIC)

35

La proteínasa de pared celular de lactobacilos es un factor de supervivencia con actividad antiinflamatoria

Gaspar Pérez

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC)

36

Sesión Inmunología

Probióticos e inmunidad

Eduardo Schiffrin

Nestlé Research Center, Lausanne, Suiza

37

Influence of different sources of cocoa polyphenols on intestinal microbiota and iga of wistar rats

Malen Massot

Departamento de Fisiología, Universitat de Barcelona

40

Impact of the commensal bacterium Faecalibacterium Prausnitzii in a non active inflammation murine model

Rebeca Martín

Instituto MICALIS, INRA de Jouy en Josas, Francia

41

Akkermansia muciniphila como factor regulador de la homeostasis en la mucosa intestinal humana

Anna Otal

Institut de Recerca Hospital Universitari Vall d'Hebron

42

Propiedades antiinflamatorias (IL-10) e inducción de respuestas adaptativas de tipo Th1 de las cepas bacterianas Bifidobacterium animalis subsp. lactis BS 01 y Lactobacillus rhamnosus LR 05

Oscar Palomares

Allergy Therapeutics

43

Comparative study of the in vitro immunomodulatory effects of the probiotics Lactobacillus fermentum CECT5716 and Enterococcus

Alba Rodríguez

Departamento de Farmacología, Centro de Investigación Biomédica, Universidad de Granada.

44

Lactobacillus plantarum C4 inhibe la respuesta de citoquinas proinflamatorias inducida por bacterias patógenas en macrófagos murinos por un mecanismo independiente de la interleuquina 10

Alfonso Ruíz

Departamento de Microbiología, Universidad de Granada

45

Sesión de Veterinaria

The importance of gut microbiota in brain development and function

Viorica Braniste

Karolinska Institut, Estocolmo, Suecia.

46

Evaluación de la eficacia de un derivado de semilla de garrofa sobre la salud intestinal de lechones desafiados experimentalmente con Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC) K88

Susana Martín

Facultad de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona

48

Garlic derivative PTS-O affects pathogenic and non-pathogenic intestinal microbiota composition and improves performance in growing broiler chickens

María Jesús Peinado

Estación Experimental del Zaidín (CSIC)

49

Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal. Estación Experimental del Zaidín (CSIC)

Propiedades, producción y evaluación de cepas potencialmente probióticas en piensos para lechones

Nelson Pérez

Facultad de Ciencias de Ourense. Universidad de Vigo

50

Estudio de la microbiota cecal y expresión génica tras el destete de conejos de granja sanos, con enteropatía mucoide y tratados con antibióticos

Gaspar Pérez

Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC)

51



JUAN EVARISTO SUÁREZ
Área de Microbiología.
Universidad de Oviedo

Una de las principales novedades del “IV Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica” fue su apertura con un Simposio sobre probióticos y prebióticos en Pediatría, antes de dar paso a las habituales sesiones. Moderado por el investigador Rafael Tojo, catedrático de la Universidad Santiago de Compostela y miembro de la Real Academia Gallega de Ciencias, el Simposio contó en primer lugar con la intervención de Juan Evaristo Suárez, del Área de Microbiología de la Universidad de Oviedo. Este experto hizo una interesante introducción sobre “Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos”. De ello nos habla en esta entrevista.

“La colonización del aparato digestivo comienza en el parto y está muy ligada al régimen inicial alimenticio del niño”

Quando hablamos de microbiota autóctona, ¿a qué nos estamos refiriendo?

La microbiota autóctona está constituida por el conjunto de microorganismos que colonizan establemente la superficie epidérmica y la de las mucosas. En general, la relación es mutualista (beneficiosa para los dos socios de la simbiosis) pero puede llegar a ser parasitaria por disfunciones de la respuesta inmunitaria.

¿Qué diferencias hay entre microbiota de la piel y microbiota del aparato digestivo?

La microbiota de la piel es escasa y está dominada por *Staphylococcus epidermidis*. En los pliegues aumenta y se diversifica debido al sudor que suministra humedad y nutrientes. Por el contrario, el aparato digestivo presenta multitud de conductos y cavidades, y en cada uno de ellos cuales encontramos una microbiota característica, ya sea en la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado o el intestino grueso.

De estas partes del aparato digestivo, ¿cuál es la más significativa desde el punto de vista de la colonización microbiana?

El intestino grueso. En él la densidad microbiana es enorme. Está dominada por bacterias, pero también hay arqueas, hongos (levaduras) y protozoos. Además de una enorme densidad, existe una gran diversidad; se calcula que hay más de 500 especies ocupando ese hábitat, de manera que, en su conjunto, dan lugar a un ecosistema extraordinariamente maduro y, por tanto, resistente a la inducción de cambios desde el exterior; es lo que se denomina la homeostasis intestinal.

¿Cómo se produce esa colonización del aparato digestivo?

Inicialmente durante el parto, como consecuencia del contacto del niño con la microbiota vaginal y la propia de la zona perineal. Esta colonización se ve favorecida por el pH gástrico relativamente elevado y la secreción atenuada de bilis, típicas de los recién nacidos. La evolución posterior de la microbiota va a estar muy ligada al régimen alimenticio del niño.

¿Cómo va configurando la microbiota la alimentación infantil?

Durante los primeros meses sólo tomará leche, que promoverá el establecimiento de los lactobacilos, porque metabolizan la lactosa muy eficazmente, y de bifidobacterias, debido a que en la leche humana se encuentra una serie de oligosacáridos complejos que dichas bacterias utilizan muy bien. Estos oligosacáridos no se encuentran en la leche de otros mamíferos y no

son asimilables por nosotros, por lo que parece que su función sería precisamente favorecer el establecimiento de las bifidobacterias en nuestro intestino.

Luego llegan las papillas de frutas, los purés de verduras, la carne, el pescado...

Sí, a los 5-6 meses de edad se inicia la toma de papillas de frutas, lo que supone el aporte de otros azúcares y de polisacáridos y promueve la diversificación de la colonización por bacterias de la división Firmicutes. Entre unas dos semanas y un mes después se inicia la alimentación con purés de verduras, que contienen multitud de polisacáridos complejos y promueven la colonización por los Bacteroidetes y el asentamiento definitivo de los Firmicutes (un grupo de bacterias Gram positivas). La adición paulatina de carne, yema de huevo y pescado a los purés provocaría la colonización por *Escherichia coli* y otras proteobacterias, de manera que en el momento del cambio a una dieta adulta ya estarían en el intestino todos los actores que determinarían el asentamiento de una microbiota madura y compensada, lo que ocurre, más o menos, a partir de los dos años de edad.

¿Cuáles son las funciones de la microbiota autóctona?

Las principales son tres y actúan constantemente, razón por la cual, paradójicamente, pasan desapercibidas. 1) Suministro de nutrientes esenciales, como las vitaminas y algunos aminoácidos, cuya necesidad de ingestión se modera gracias a los producidos por la microbiota indígena; 2) Desarrollo del sistema inmunitario: Las bacterias en general y las de la microbiota de ocupación en particular, presentan en su superficie componentes que contribuyen a la puesta a punto de nuestras defensas frente a la infección. 3) Antagonismo microbiano: Se refiere a la capacidad de impedir el asentamiento de microorganismos foráneos, potencialmente patógenos, sobre nuestras mucosas.

¿También podemos hablar de perjuicios achacables a la microbiota de ocupación?

Sí, son fundamentalmente dos. 1) Infecciones endógenas: Los microorganismos autóctonos pueden comportarse como patógenos si penetran al medio interno o si se hacen muy abundantes. 2) Generación de sustancias carcinogénicas: El metabolismo de los nutrientes y los ácidos biliares por la microbiota indígena conduce, en ocasiones, a la generación de sustancias que pueden transformar a las células intestinales en tumorales. Por eso es importante que haya una deposición al menos cada día.

En este contexto, ¿qué entendemos por organismos probióticos?

La OMS los define como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor". En principio, cualquier componente de la microbiota de ocupación podría ser candidato a convertirse en probiótico. Sin embargo, en la práctica

pertencen fundamentalmente a dos grupos microbianos: los lactobacilos y las bifidobacterias, porque son, dentro de los que se pueden cultivar fácilmente, los únicos que no se asocian a procesos patológicos.

¿Qué condiciones deben cumplir para ser considerados probióticos?

Además de su inocuidad o falta de virulencia, entre las características deseables que deben cumplir está la adaptación a las condiciones de la cavidad diana y una buena adherencia al epitelio de la misma, la generación de sustancias antimicrobianas, la ausencia de resistencias transmisibles a antibióticos y, sobre todo, que existan ensayos clínicos que certifiquen que las expectativas derivadas de sus buenas propiedades *in vitro*, se cumplen tras su administración a voluntarios.

¿Puede resumir los beneficios asociados a la administración de organismos probióticos que se conocen?

Aquellos para los que hay una mayor evidencia se dividen en tres categorías: 1) Reversión de patologías de mala digestión por ejemplo, la intolerancia a la lactosa. 2) Reposición de la microbiota después de que la residente haya sido eliminada por cualquier causa. Los casos mejor demostrados son la reversión de la diarrea causada por tratamiento con antibióticos y la de las diarreas infantiles producidas por rotavirus. En este apartado se englobaría también la prevención de recidivas de vaginosis y de vaginitis. 3) Prevención de la mastitis durante la lactancia. La secreción de leche aumenta la humedad de los conductos galactóforos y crea condiciones apropiadas para el establecimiento de organismos patógenos en ellos. Recientemente se ha demostrado de manera fehaciente que lactobacilos administrados por vía oral pueden colonizar los conductos e impedir el asentamiento de bacterias indeseables, previniendo e incluso curando, las mastitis. A esto se podrían añadir los efectos beneficiosos generales de la microbiota autóctona a que nos referimos antes; es decir, la prevención de la colonización por patógenos, la estimulación de la defensa inmune y el suministro de algunos nutrientes esenciales.

¿Otras posibles aplicaciones?

Existen otras afecciones en las que los microorganismos probióticos parecen ejercer un efecto beneficioso, aunque la evidencia no es tan sólida como en los casos ya descritos; entre ellas podemos citar por orden de mayor a menor evidencia, la enterocolitis necrotizante, la enfermedad inflamatoria intestinal y la colitis pseudomembranosa.

También hay prebióticos, ¿qué se entiende por este término?

Se denomina así a compuestos no digeribles, presentes en la dieta, que estimulan el crecimiento o la actividad de los microorganismos autóctonos, resultando en un beneficio para la salud. Su objetivo principal es favorecer el desarrollo de las bifidobacterias, que son capaces de degradar diversos glúcidos complejos, aunque muchos Firmicutes y, especialmente, Bacteroides,

también lo hacen. La proliferación subsiguiente de la microbiota indígena potenciaría su antagonismo frente a microorganismos foráneos y contribuiría a recolonizar la mucosa, por ejemplo, tras un tratamiento con antibióticos. Además, la fermentación de los prebióticos generará ácidos grasos de cadena corta, H₂ y CO₂. Los ácidos inhibirán, presumiblemente, el crecimiento de organismos patógenos, serán utilizados como nutrientes por los enterocitos y neutralizarán los grupos amonio generados por desaminación de diversos nutrientes, entre ellos los aminoácidos.

Por último, ha hablado de simbióticos.

Se denomina así a la mezcla de uno o más organismos probióticos con uno o varios compuestos prebióticos. Su objetivo es favorecer el desarrollo/actividad de los probióticos y prebióticos componentes para potenciar sus propiedades saludables, generando un efecto sinérgico entre ellos. Esto implica que un producto sólo puede ser denominado simbiótico si ha demostrado inducir un efecto beneficioso superior al de la suma de los generados, separadamente, por sus integrantes.

Referencias

1. Johnson CL, Versalovic J. The human microbiome and its potential importance to pediatrics. *Pediatrics* 2012; 129: 950-960.
2. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 Suppl 1: 4578-4585.
3. Ringel-Kulka T. Targeting the intestinal microbiota in the pediatric population: a clinical perspective. *Nutr Clin Pract* 2012; 27: 226-234.
4. Torrazza MR, Neu J. The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate. *J Perinatol* 2011;31 Suppl 1:S29-34.



ENRIQUETA ROMÁN RIECHMANN
Servicio de Pediatría, Hospital Puerta
de Hierro-Majadahonda, Madrid

Del empleo de probióticos y prebióticos en Pediatría ha hablado la doctora Enriqueta Román, de la Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Hospital Puerta de Hierro-Majadahonda de Madrid, quien nos hace el siguiente resumen de posibles aplicaciones, en base a las últimas evidencias científicas.

“Hay que hacer corresponder las cepas y dosis a la situación clínica para la que se ha mostrado beneficio en ensayos clínicos controlados”

Tras la anterior presentación en la que ha quedado claro el papel clave de la microbiota intestinal en la salud, ¿de qué aplicaciones clínicas de probióticos y prebióticos podemos hablar en Pediatría?

Los probióticos se han utilizado en gran número de patologías pediátricas, principalmente en problemas gastrointestinales con alteración en la microbiota intestinal como la diarrea infecciosa, el sobredesarrollo bacteriano, la enterocolitis necrotizante y, más recientemente, en procesos inflamatorios crónicos como la enfermedad inflamatoria intestinal o en trastornos funcionales como el cólico del lactante o el estreñimiento. También se ha valorado su efecto beneficioso en alteraciones inmunológicas como la dermatitis atópica, en la prevención y tratamiento de la alergia alimentaria y, en los últimos años, en la prevención de patología del recién nacido pretérmino y en la infección por *H. pylori*. Además existen varias líneas de investigación abiertas en la complementación probiótica y prebiótica en la infancia.

En todos los casos, ¿podemos hablar ya de resultados concluyentes?

La gran diversidad en el diseño de los estudios justifica la gran variabilidad en los resultados de eficacia. De hecho, la mayoría de metaanálisis concluye que hay insuficientes trabajos de tratamiento con probióticos específicos en grupos definidos de pacientes para poder establecer guías definitivas de tratamiento. Hay que considerar que los diferentes probióticos emplean distintas estrategias de acción y que no todas las cepas probióticas presentan la misma resistencia ni capacidad de colonización y, por tanto, no tienen la misma eficacia clínica. Por ello, hay que considerar que los efectos en la práctica clínica son específicos de cepa y no están indicados para las mismas situaciones. El empleo de los probióticos debería centrarse en hacer corresponder las cepas y dosis de producto utilizado a la situación para la que ha mostrado beneficio en los ensayos clínicos.

Hagamos un repaso por patologías a las principales aplicaciones de los probióticos y prebióticos en la infancia. En diarrea aguda infecciosa, ¿qué podemos destacar?

La mayor evidencia sobre la eficacia de los probióticos ha sido descrita en el tratamiento de la diarrea aguda infecciosa, a través de distintos mecanismos. Las distintas revisiones sistemáticas realizadas sobre los estudios publicados con diferentes cepas concluyen, a pesar de la gran variabilidad de los mismos, que los probióticos producen un efecto beneficioso en la evolución de la diarrea aguda infecciosa acortando su duración.

¿Alguna diferencia por tipos de diarreas?

El efecto beneficioso es más significativo en las diarreas producidas por rotavirus. No se ha podido demostrar su eficacia en las producidas por gérmenes invasivos, aunque un trabajo reciente con *S. boulardii* ha mostrado una mayor efectividad frente al metronidazol en el tratamiento de la diarrea por ameba. Hay evidencia muy limitada sobre su eficacia en el tratamiento de la diarrea persistente en niños. Basándose en los datos anteriores, varias de las guías o recomendaciones vigentes de tratamiento de la gastroenteritis aguda, contemplan el empleo de probióticos de eficacia comprobada y a dosis adecuadas. Respecto a la diarrea adquirida en la comunidad, son escasos los estudios que concluyen que el uso de probióticos reduce de forma significativa su incidencia.

En la diarrea asociada a antibióticos, ¿qué datos destacan?

Los estudios realizados, principalmente en adultos, han podido demostrar que la ingesta de probióticos en combinación con antibióticos reduce el riesgo de diarrea asociada a los mismos. Sin embargo, no hay, por el momento, estudios concluyentes para recomendar de manera rutinaria el empleo conjunto.

¿Y enfermedad inflamatoria intestinal?

El empleo de probióticos en EII es, desde el punto de vista fisiopatológico, una buena alternativa terapéutica. Sin embargo, aunque los datos de los estudios realizados sugieren que tendrían un impacto favorable, sería deseable poder realizar más ensayos controlados y con mayor número de pacientes para poder aplicar en la práctica los efectos beneficiosos que tienen sobre la microbiota intestinal. Algunos preparados de probióticos se han mostrado eficaces en la colitis ulcerosa y en la reservoritis (sobre todo la mezcla VSL3).

¿En el síndrome del intestino irritable?

Aunque se desconoce la fisiopatología de esta entidad clínica, hay datos que apoyan su relación con la microbiota intestinal. Además su instauración tiene relación en una tercera parte de los casos con procesos infecciosos gastrointestinales y se ha observado también en una alta proporción de pacientes cuadros compatibles con sobredesarrollo bacteriano. Un metaanálisis de 3 ensayos clínicos en niños sugiere una moderada mejoría con *Lactobacillus GG*.

¿En el dolor abdominal funcional?

Los principios del tratamiento con probióticos se basan en la mejoría de la permeabilidad intestinal, en la regulación inmunitaria y de la respuesta inflamatoria, y en la regulación de la motilidad intestinal. Hay una limitación en los estudios realizados hasta la fecha. Se ha analizado el efecto de *Lactobacillus GG* en varios ensayos y, si bien hay resultados esperanzadores, parecen necesarios más estudios.

El estreñimiento es otra afección importante en la infancia.

El uso de los probióticos como terapia del estreñimiento se basa en el desequilibrio de la microbiota intestinal de estos niños,

pero no está claramente establecida su eficacia en la edad pediátrica. Parecen tener un efecto positivo aunque poco importante en el número de deposiciones semanales.

¿Qué datos hay sobre cólico infantil?

Su empleo se basa en la existencia de una microbiota colónica anormal en los lactantes con cólicos. Su acción va dirigida a mejorar la motilidad intestinal y ejercer efectos directos en la vía nerviosa del dolor visceral. Se ha estudiado la cepa de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. La tasa de respuesta (disminución del tiempo de llanto) fue significativamente mayor en los lactantes tratados con *L. reuteri*.

¿Qué puede decirnos de la infección por *Helicobacter pylori*?

Se han observado en pacientes pediátricos menos efectos secundarios y mejor tolerancia a la triple terapia, con la adición de probióticos al tratamiento antibiótico. Los escasos estudios realizados en niños muestran una disminución de los efectos secundarios del tratamiento antibiótico con los probióticos, aunque sin evidencia clara de una mayor tasa de erradicación.

La enterocolitis necrotizante también es de gran importancia.

El uso de suplementos enterales de probióticos puede reducir la incidencia de ECN, el riesgo de ECN severa (estadio 2 ó más) y la mortalidad en prematuros. La seguridad y eficacia de estos suplementos necesita mayor evaluación para neonatos < 1.000 g de PRN. Dado el riesgo potencial de la administración de bacterias vivas en grandes dosis en neonatos inmunológicamente inmaduros, se hace necesaria la realización de más estudios controlados y multicéntricos para evaluar eficacia y seguridad.

En intolerancia a la lactosa, ¿existen evidencias?

Si bien, hay estudios que demuestran una mejor digestión de lactosa y menor excreción de hidrógeno en el aire espirado en estos pacientes que consumen lácteos fermentados, en la actualidad, no existe evidencia suficiente para recomendar el uso de probióticos en el manejo sistemático de esta intolerancia.

¿Y en enfermedad celiaca?

Aunque en la actualidad el único tratamiento de la enfermedad celiaca sea una dieta exenta de gluten, es posible que, basándonos en la alteración de la microbiota intestinal de estos pacientes, en un futuro la administración de bifidobacterias pueda producir efectos beneficiosos, aunque son necesarios más estudios.

¿La obesidad es otro campo de aplicación?

La modulación de la microbiota intestinal es un objetivo fundamental en la búsqueda de nuevos tratamientos preventivos de la obesidad. Aunque esta línea de investigación está tan sólo en su inicio e implica a bacterias no consideradas clásicamente como probióticos, los estudios realizados están aportando una información clave para conocer nuevos factores implicados en el desarrollo de la obesidad y las enfermedades metabólicas, así como para mejorar las estrategias de intervención nutricional.

¿Qué datos existen respecto a la fibrosis quística?

El tratamiento con probióticos, además de una alternativa al tratamiento descontaminante con antibióticos, también puede mejorar la función intestinal en la fibrosis quística. Por tanto, su administración podría ser pauta de una manera regular. Los estudios ofrecen un panorama prometedor, pero hasta el momento son piloto, por lo que es necesaria mayor investigación y tomar estos datos como preliminares.

Las enfermedades atópicas son otro campo de aplicación

La teórica relación entre la composición de la microbiota intestinal y el eczema ha sido la base para el empleo de probióticos. Los estudios disponibles con suplementación de probióticos a niños de riesgo atópico para modificar el desarrollo precoz de su microbiota intestinal, no han observado una mejoría clara del eczema, por lo que es necesario confirmar este beneficio en los primeros 6 meses de vida.

En alergia alimentaria, ¿cuáles son los últimos datos?

Un reciente estudio plantea la posibilidad de una más precoz adquisición de tolerancia en la alergia a proteínas de leche de vaca, tanto mediada por IgE como no mediada por IgE, con la utilización de un hidrolizado de proteínas de leche de vaca suplementado con *Lactobacillus GG*.

Referencias

1. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; Nov 10;(11): CD003048.
2. Braegger C, Chmielewska A, Decsi T, Kolacek S, Mihatsch W, Moreno L, et al. Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 52: 238-250.
3. Ciorba MA. A gastroenterologist's guide to probiotics. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 960-968.
4. ESPGHAN Working Group on Probiotics and Prebiotics, Szajewska H, Weizman Z, Abu-Zekkry M, Kekez AJ, Braegger CP, Kolacek S, et al. Inulin and fructooligosaccharides for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: report by the ESPGHAN Working Group on Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 828-829.
5. Floch MH, Walker WA, Madsen K, Sanders ME, Macfarlane GT, Flint HJ, et al. Recommendations for probiotic use-2011 update. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: S168-171.
6. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, Wang Z, Miles JN, Shanman R, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2012; 307: 1959-1969.
7. Szajewska H, Wanke M, Patro B. Meta-analysis: the effects of *Lactobacillus rhamnosus GG* supplementation for the prevention of healthcare-associated diarrhea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1079-1087.
8. Thomas DW, Creer FR and Comité on Nutrition. Probiotics and prebiotics in Pediatrics. *Pediatrics* 2010; 126: 1217-1231.
9. WGO. Probióticos y prebióticos. En: Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. Octubre 2011. www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html.



LUIS MENCHÉN VISO
Servicio de Aparato Digestivo, Hospital General
Universitario Gregorio Marañón, Madrid

Las “Nuevas Líneas de investigación. Posibles aplicaciones de los probióticos y prebióticos” centraron la intervención en el simposio de Luis Menchén Viso, del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. El experto destacó que actualmente los probióticos son una indicación de tratamiento razonable para algunas entidades clínicas y el avance en la investigación de nuevos preparados, como los probióticos recombinantes, los convierte en una alternativa esperanzadora de tratamiento para otras muchas. Sin embargo, esta potencial utilidad clínica está por demostrar en estudios humanos controlados y aleatorizados.

“La investigación de nuevos preparados como los recombinantes convierte a los probióticos en una alternativa esperanzadora”

Respecto a los nuevos mecanismos de acción de los probióticos en patología digestiva, ¿qué evidencias destacarías?

En los últimos años se ha puesto de manifiesto la capacidad de determinados probióticos de modular la respuesta inmunitaria mucosal en el tubo digestivo, y por tanto de disminuir la inflamación tanto en modelos experimentales de colitis crónica como en enfermedades humanas como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), mediante la inducción de linfocitos T reguladores y la inhibición de la presentación antigénica, así como de la proliferación y activación de linfocitos T efectores.

¿Alguna aplicación reciente en este sentido?

Recientemente se ha asociado el enriquecimiento de fórmulas alimenticias para niños con determinados probióticos a un incremento significativo de la concentración fecal de sIgA, una de las primeras y más importantes líneas de defensa en las superficies mucosas merced a su capacidad de aglutinar e impedir el efecto deletéreo de bacterias patógenas, virus y toxinas microbianas.

¿Qué otros mecanismos de acción son importantes?

Los probióticos han demostrado su capacidad de bloquear la acción de patógenos bacterianos mediante dos mecanismos fundamentales: 1) la síntesis de moléculas antibacterianas como las bacteriocinas, familia de péptidos producidos principalmente por *Lactobacillus* y *Lactococcus* con capacidad de inhibir la formación de la pared bacteriana y de formar poros en la misma, y 2) la exclusión competitiva, bien mediante la inhibición de la adhesión a las células epiteliales intestinales (CEIs) de bacterias potencialmente patógenas; o bien bloqueando la unión de toxinas a receptores de tipo gangliósido en la superficie de las CEIs.

Antes ha destacado el efecto antiinflamatorio en pacientes con EII. ¿Cómo regulan los probióticos esta acción?

Ejercen su efecto antiinflamatorio en pacientes con EII y en modelos animales de inflamación intestinal crónica mediante la regulación de la función epitelial, y lo hacen a su vez a varios niveles: 1) reforzando la función de barrera epitelial mediante la restauración arquitectural y funcional de las uniones intercelulares estrechas, 2) estimulando la síntesis de moléculas de defensa por parte de las CEIs, 3) estimulando las funciones inmunológicas de las mismas, y 4) induciendo mecanismos celulares antiinflamatorios.

¿Estos efectos se pueden concretar en probióticos o cepas determinadas?

Sí. Probióticos como *E. coli* Nissle 1917, *Lactobacillus* GG, *Lactobacillus casei* o el preparado VSL#3 han demostrado incrementar la expresión y restaurar la localización de proteínas constituyentes de las uniones intercelulares en modelos experimentales de colitis; ciertos probióticos también refuerzan la función de barrera epitelial mediante la inhibición de la apoptosis de las CEIs inducida por citoquinas proinflamatorias o en animales con colitis crónica experimental. De manera adicional, *E. coli* Nissle 1917 y VSL#3 han mostrado su capacidad de inducir la síntesis de β -defensinas por parte de las CEIs. En tercer lugar, determinados probióticos inhiben en ciertas circunstancias la síntesis de quimioquinas y citoquinas proinflamatorias por parte de las CEIs. Por último, algunos microorganismos probióticos estimulan la actividad del receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma (PPAR γ), una molécula con actividad antiinflamatoria endógena.

¿Qué cambios están contribuyendo a las nuevas perspectivas terapéuticas en este campo?

Junto a los avances comentados en el conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en las potenciales propiedades terapéuticas de los probióticos, el desarrollo tecnológico en biomedicina ha abierto nuevas perspectivas terapéuticas con la investigación sobre cepas microbianas transformadas genéticamente, así como sobre sistemas de liberación modificados para permitir la llegada de probióticos a sitios específicos de acción en el tubo digestivo en cantidades adecuadas.

¿De qué nuevos probióticos se puede hablar en patología digestiva?

En numerosos estudios se ha demostrado la posibilidad de usar cepas recombinantes mediante vectores plásmidos para promover la expresión de productos microbianos con funciones antiinflamatorias y bactericidas, como, por ejemplo, el diseño de cepas de *E. coli* Nissle 1917 recombinantes para la producción de β -defensinas con actividad contra patógenos entéricos como *Salmonella* o *Listeria*, o de *Bifidobacterium* recombinante para la expresión de moléculas de adhesión a CEIs. Similares modificaciones genéticas pueden realizarse para la obtención de cepas capaces de expresar mediadores de la inflamación humanos.

¿Algún ejemplo sobre esto último?

Por ejemplo, el tratamiento con *Lactococcus* recombinante para la expresión de IL-10 en modelos murinos de colitis ha demostrado tanto la reducción significativa de la inflamación mucosa como la prevención de nuevos episodios de colitis; y cepas de *Lactobacillus* transformadas para la síntesis de lactoferrina humana se asocian en ratones experimentales infectados por *E. coli* patógena con un menor número de colonias infecciosas en la luz intestinal y un menor daño mucoso entérico. De la misma manera, se han utilizado cepas recombinantes como vehículos para optimizar la liberación en colon de sustancias sensibles a la degradación en tramos superiores del intestino, como EGF,

molécula con propiedades reepitelizantes que promueve la curación mucosa.

¿Alguna otra nueva línea en este sentido?

Un estudio reciente ha demostrado la eficacia del tratamiento con cepas de *Lactococcus* recombinantes con aumento de expresión de β -galactosidasa para los síntomas de diarrea asociada a la toma de lactosa en modelos animales de intolerancia a lactosa, sugiriendo, más allá de la capacidad de estos preparados para inducir cambios bioquímicos, histológicos o microbiológicos, su potencial beneficio clínico en enfermedades humanas. También se ha incentivado la investigación sobre la eficacia de productos bacterianos inactivados, como células muertas o sobrenadantes probióticos. Por ejemplo, disponemos de estudios en modelos animales de EII en los que el uso de sobrenadantes de cepas de *L. plantarum* o *B. infans* demostraron mantener funciones antiinflamatorias y sobre la permeabilidad de la mucosa.

A raíz de todos estos datos, ¿de qué indicaciones clínicas se puede hablar ya como una realidad?

Los compuestos probióticos han sido utilizados en una amplia variedad de enfermedades humanas, sin embargo, las indicaciones clínicas a partir de estudios basados en la evidencia científica son menos numerosas. Estudios controlados, ciegos y aleatorizados han demostrado la eficacia para el tratamiento con probióticos de entidades como la diarrea infecciosa y la asociada a antibióticos, entre ellas la diarrea del viajero y la producida por *Clostridium*. Otros estudios defienden así mismo resultados favorables para el tratamiento de la alergia a las proteínas de la leche de vaca en niños, el síndrome de intestino irritable y la enfermedad inflamatoria intestinal, donde la indicación más extendida es en la prevención de episodios de reserovitis. También existe evidencia de los beneficios de estos preparados en enfermedades de órganos y sistemas distintos al aparato digestivo, como las infecciones de orina y la prevención de infecciones respiratorias en niños o las asociadas a la ventilación mecánica.

¿Y cuáles son las posibles indicaciones futuras?

Otras muchas entidades se postulan como posibles indicaciones futuras para el tratamiento con probióticos basándose en estudios animales o estudios humanos preliminares. Se han publicado numerosos estudios *in vitro* y en animales que postulan un efecto protector de los probióticos para el desarrollo de adenocarcinoma de colon y de vesícula biliar, y de carcinoma hepatocelular; ensayos clínicos en pacientes con artritis reumatoide han demostrado la eficacia de la terapia con probióticos para reducir los síntomas articulares e incluso parámetros de inflamación como la PCR; y si bien son ampliamente conocidos los efectos hipolipemiantes de bacterias como el *Lactobacillus* o el *Bifidobacterium*, existen también datos procedentes de estudios animales que sugieren un efecto hipoglucemiante de cepas similares; finalmente también existe algún estudio que demuestra la eficacia del tratamiento probiótico para la prevención y tratamiento de un modelo experimental de enfermedad injerto contra huésped.

¿Algún otro campo prometedor?

En hepatología, a pesar de que la única indicación clínica aceptada para el uso de probióticos es la encefalopatía hepática, existen otras entidades en las que el papel terapéutico de los probióticos parece prometedor, como en el caso de la esteatohepatitis no alcohólica —se ha demostrado recientemente en modelos murinos que el uso de VSL#3 puede prevenir su desarrollo— o en la prevención de las infecciones asociadas a la cirugía del trasplante hepático. Disponemos además de amplia información acerca de los potenciales efectos beneficiosos de los probióticos sobre los cambios fisiopatológicos propios de la cirrosis descompensada.

¿Cuál es para usted la conclusión de todas estas nuevas evidencias?

Que los probióticos ejercen su actividad terapéutica en patología digestiva a través de distintos mecanismos de acción no del todo conocidos y dependientes de factores externos como el entorno microbiológico. Además, actualmente suponen una indicación de tratamiento razonable para algunas entidades clínicas y el avance en la investigación de nuevos preparados —como los probióticos recombinantes— los convierte en una alternativa esperanzadora de tratamiento para otras muchas. Sin embargo, esta potencial utilidad clínica está por demostrar en estudios humanos controlados y aleatorizados.

Referencias

1. Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, et al; Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 651-659.
2. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang MLK. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1256-1264.
3. David R Mandel, Katy Eichas, Judith Holmes. *Bacillus coagulans*: a viable adjunct therapy for relieving symptoms of rheumatoid arthritis according to a randomized, controlled trial. *BMC Complement Altern Med* 2010; 10: 1.
4. Di Giacinto C, Marinaro M, Sanchez M, Strober W, Boirivant M. Probiotics ameliorate recurrent Th1-mediated murine colitis by inducing IL-10 and IL-10-dependent TGF-beta-bearing regulatory cells. *J Immunol* 2005; 174: 3237-3246.
5. Foster KJ, Lin S, Turck CJ. Current and emerging strategies for treating hepatic encephalopathy. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2010; 22: 341-350.
6. Mencarelli A, Cipriani S, Renga B, Bruno A, D'Amore C, Distrutti E, Fiorucci S. VSL#3 Resets Insulin Signaling and Protects against NASH and Atherosclerosis in a Model of Genetic Dyslipidemia and Intestinal Inflammation. *PLoS One*. 2012; 7(9).
7. Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1585-1596.
8. Winkler P, Ghadimi D, Schrezenmeir J, Kraehenbuhl JP. Molecular and cellular basis of microflora-host interactions. *J Nutr* 2007; 137: 756S-772S.



GASPAR PÉREZ MARTÍNEZ
Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC), Valencia

Tras el Simposio sobre Probióticos y Prebióticos en Pediatría, el Workshop continuó con una mesa de controversia, que pretendía responder a la siguiente cuestión: ¿Son útiles los probióticos? ¿Se emplean los que han demostrado eficacia y de modo adecuado? La sesión estuvo moderada por Guillermo Álvarez Calatayud, de la Sección de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica del Hospital Materno Infantil Gregorio Marañón de Madrid. Gaspar Pérez Martínez, del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC) de Valencia, fue el primero de los ponentes de la mesa. Entre sus mensajes, destacó que frente al error común de considerar los probióticos en conjunto, existen ciertas bacterias probióticas (las más utilizadas son lactobacilos y bifidobacterias) que “poseen beneficios bien demostrados para la salud”, si bien “se necesita más investigación para establecer los mecanismos de acción de los probióticos”.

“Los probióticos no pueden considerarse en conjunto. Su eficacia debe analizarse en base a bacterias y cepas concretas”

¿Qué conceptos hay que tener claro a la hora de hablar de utilidad y eficacia de los probióticos?

En primer lugar, un error común es considerar los probióticos en conjunto, cuando su eficacia debe analizarse en base a bacterias y cepas concretas pues no todas son iguales. En este sentido, en segundo lugar hay que destacar que ciertas bacterias probióticas poseen beneficios bien demostrados para la salud. Por último, hay que señalar que se necesita más investigación para establecer los mecanismos de acción de los probióticos.

Entre esos beneficios demostrados, ¿cuál destacaría y en base a qué razones?

El uso de probióticos en Medicina basado en la evidencia, se ajusta a la siguiente clasificación, que tiene en cuenta grado de recomendación y nivel de evidencia, en base a la calidad de los ensayos de referencia.

- 1) Recomendación grado A (nivel de evidencia A1): Tratamiento malabsorción lactosa; tratamiento diarreas infantiles agudas; prevención de diarrea asociada al uso de antibióticos; prevención de diarreas infantiles agudas asociadas, nosocomiales o adquiridas.
- 2) Recomendación grado A (nivel de evidencia 1B): Prevención reservoritis o puochitis y mantenimiento de la remisión; prevención del eccema atópico.
- 3) Recomendación grado B (nivel de evidencia 2): Mantenimiento remisión colitis ulcerosa (E.coli Nissle 1917); prevención de sepsis asociada a pancreatitis aguda; prevención de sepsis postquirúrgica; prevención diarrea del viajero

¿Cuáles son los mecanismos de acción más comunes y probados de los probióticos?

Los mecanismos de acción por los que los probióticos contribuyen a la mejora de la salud humana, se puede resumir en tres categorías. 1) Los mecanismos de la inhibición de patógenos por probióticos; 2) Los mecanismos que promueven la función de la barrera intestinal epitelial, como por ejemplo la secreción de mucinas, la inducción de péptidos antimicrobianos y los heat-shock proteins, la mejora de la función de las tight-junctions, la prevención de la apoptosis, la inducción de quimiocinas pero también la inhibición de la secreción de quimiocinas tras un estímulo pro-inflamatorio, previniendo de este modo la formación de un gradiente de quimiocinas que está atrayendo células efectoras del sistema inmune. 3) Los mecanismos que modulan la respuesta inmune mucosal, bien induciendo citocinas anti-inflamatorias o inhibiendo citocinas pro-inflamatorias.

Como vemos, existen datos avalados científicamente. Los expertos a favor de los probióticos son prudentes y destacan la necesidad de más investigación. Sin embargo, estos productos se siguen viendo envueltos de vez en cuando en alguna polémica. ¿Qué factores influyen?

Creo que hay que hablar de los aspectos no científico-médicos que los rodean y que tienen que ver con los mercados, la financiación de la investigación, la legislación, la sensibilidad social y ética, y los bulos.

¿Cuál es su opinión al respecto?

En el caso de los bulos difundidos, creo que muchos parten de cierta impotencia del consumidor ante la “imposición” de pocos probióticos por empresas que dominan el mercado de la alimentación, especialmente tras la no aprobación de sus Health Claims por la EFSA (Unión Europea). También debemos subrayar el divorcio entre los mercados (¿mundos?) farmacéutico y de alimentos y las respectivas empresas hegemónicas. Cuando hablo de “mundos”, me refiero a por qué no se atreven los médicos a prescribir probióticos. Creo que esto ayuda a entender por qué existe y por qué es como es el reglamento europeo sobre Health Claims (atributos sobre la salud).

Respecto a la relación entre la investigación y las empresas, ¿qué opina?

Hasta el momento las empresas han sido el principal motor de la investigación en probióticos, tanto a nivel académico como aplicado y de estudios clínicos. Han desarrollado productos con probióticos propios y también han adquirido licencias de organismos públicos. En mi opinión, en los últimos años ha evolucionado el perfil de la investigación académica sobre probióticos en el contexto de la compleja microbiota intestinal y hacia los mecanismos de acción, para satisfacer la aprobación de “Health Claims” por la EFSA. En el caso de las empresas farmacéuticas, se centran más en estudios clínicos para obtener nuevos productos probióticos, con perfil más especializado, que satisfagan los criterios de “Medicina Basada en la Evidencia”, y así facilitar el acceso y prescripción por los profesionales de la medicina.

¿Tiene algo que ver en todo este debate la forma en la que está organizado el actual sistema de salud?

Creo que sí. Hay una perversión del sistema, que es que está obsesionado por sanar la enfermedad. El ciclo perverso gira en torno a médicos, enfermos, prescripción de fármacos en el sistema de salud pública y empresas farmacéuticas. El futuro debería centrarse en mantener la salud y el bienestar, a través de un tratamiento integral en el que convivan nutrición equilibrada, hábitos sanos, alimentos funcionales y fármacos.

Desde el punto de vista del mercado, ¿qué aspectos hay que tener en cuenta?

Los probióticos no son medicamentos, son entes complejos y hay gran diversidad de cepas. Se presentan comercialmen-

te como suplementos nutricionales (deshidratados en bolsas o cápsulas) o como alimentos fortalecidos e ingredientes. En el primer caso, están implicadas grandes y medianas farmas especializadas, y en el segundo, multinacionales y medianas empresas de alimentación. En ambos casos, existe una fuerte implicación en I+D en salud.

Desde el punto de vista legislativo, ¿cuál es la situación?

Debemos referirnos a la resolución de la EFSA de junio de 2011 por la que se rechazan las solicitudes de atributos funcionales para los 74 expedientes de probióticos, y la que los principales argumentos son: relación dosis/efecto, biodisponibilidad y mecanismos de acción. Hay suficientes datos en algunos expedientes sobre el efecto en modelos de enfermedad, pero faltan de datos sobre el efecto en individuos sanos (disminución de riesgo de enfermedad).

¿Todas estas circunstancias han influido en la sensibilidad social y ética de la que hablaba antes?

Pienso que sí, porque se han transmitidos mensajes como que los probióticos no han obtenido el consentimiento científico o que la comunidad científica no ha llegado a un consenso sobre el tema. También se ha dicho que hay numerosas voces críticas con sus supuestos beneficios e incluso que tendrían una gran parte de responsabilidad en la epidemia de obesidad que afecta principalmente a los niños.

En cuanto a los bulos, ¿cuáles han sido en su opinión los más destacados e infundados?

Hay dos muy claros. Uno señala que la ingesta de determinadas bacterias probióticas por parte de niños supone que su organismo deja de producirlas, creando dependencia de un producto comercial. En segundo lugar, tampoco son válidos los argumentos que vinculan probióticos con obesidad.

Después de este amplio repaso, ¿qué ideas le gustaría que se tuvieran en cuenta en relación a los probióticos?

- 1) Las autoridades y órganos asesores deben reconsiderar la forma de evaluación de los probióticos.
- 2) Se requiere más investigación sobre los mecanismos de acción e interacción de los probióticos con otros componentes de la microbiota.
- 3) La actividad investigadora de las empresas es positiva en este campo.
- 4) Hay que obtener información contrastada: filtrar bulos.



JAVIER GONZÁLEZ DE DIOS
Servicio de Pediatría,
Hospital General Universitario de Alicante

El pediatra del Hospital Universitario de Alicante y codirector de la revista electrónica Evidencias en Pediatría, Javier González de Dios, fue el segundo de los ponentes de la mesa de controversia. Este experto, desde una perspectiva asentada en el paradigma de la medicina basada en pruebas, hizo una amplia revisión de la literatura científica sobre enterocolitis necrotizante (NEC). En base a la misma, destacó recomendaciones para la práctica clínica como que el uso de probióticos debería considerarse fuertemente en el cuidado del prematuro ≤ 32 SG y/o < 1500 gramos. También aseguró que aunque el balance beneficios-riesgos-costes es claramente favorable con los datos actuales, el uso rutinario de probióticos implicaría una estrecha monitorización.

“Aunque el balance beneficios-riesgos-costes es claramente favorable con los datos actuales, el uso rutinario de probióticos exige una estrecha monitorización”

En su exposición ha puesto mucho énfasis en la medicina basada en pruebas, ¿puede explicar qué se entiende por esto?

Se refiere a un nuevo paradigma por el cual hay que hablar de medicina con autoridad y no de medicina autoritaria como proponía el paradigma antiguo. La medicina basada en la evidencia intenta resolver de la mejor forma posible la ecuación entre lo “deseable, lo posible y lo apropiado” en un entorno sembrado de incertidumbre, variabilidad en la práctica clínica, sobrecarga de información, aumento de demanda y limitación de recursos. En definitiva pretende aportar más ciencia al arte de la medicina.

¿Qué pasos centran esta teoría?

Fundamentalmente se resume en las siguientes cinco etapas: 1) Pregunta; 2) Búsqueda; 3) Valoración; 4) Aplicabilidad y 5) Adecuación. Centrado en probióticos, como ejemplo podríamos poner la enterocolitis necrotizante (ECN) y tratar de responder a preguntas como el tipo de paciente o problema de interés, la intervención, exposición o prueba a evaluar y a comparar, la variable de medición de resultado y el tiempo de valoración. A partir de ahí se iniciaría la búsqueda en la literatura científica, paso en el que hay que tener en cuenta una serie de condiciones como el tipo de estudios y las fuentes de información a las que acceder.

Precisamente en su presentación ha analizado el caso de una amplia revisión científica sobre ECN.

Sí, y de ella vemos cómo se desprende que hay un grupo de autores, que denomino “Sí, por supuesto”, que defienden la aplicación de probióticos en ECN, y otro, que llamo “No, tenga cuidado”, que no son tan partidarios.

¿Cuáles son las principales conclusiones analizando unos trabajos y otros?

Del grupo “Sí, por supuesto”:

- Toda la literatura es consistente en que los probióticos disminuyen la incidencia de NEC grave y de mortalidad en prematuros < 1500 gramos.
- Datos estadísticamente significativos y clínicamente importantes que implican considerar fuertemente el uso habitual de probiótico en las UCI neonatales.

Existen preocupaciones sensatas, aunque con escasas pruebas que lo soporten, sobre la seguridad y efectos a largo plazo de los probióticos.

- El uso "rutinario" de probióticos no significa el uso "ciego" de los mismos, sino que se debe monitorizar (ya se ha realizado en algún país).

Del grupo "No, tenga cuidado":

- El tratamiento con probióticos no es una intervención homogénea, y es conocido que se debe considerar un efecto dependiente del tipo de género, especie y cepa.

- Los metanálisis actuales pueden sobreestimar el efecto particular de cada cepa de probiótico.

- Los datos actuales deben ser confirmados con un ECA multicéntrico de calidad e independiente con diseño adecuado para un tipo concreto de probiótico, dosis, intervalo y duración del tratamiento.

En base a esta realidad sobre la ciencia actual, usted ha llamado la atención sobre el modelo de toma de decisiones en medicina. ¿Cuáles son sus características?

Hablamos de un modelo en el que hay riesgos, beneficios y costes y en el que intervienen diferentes actores: pacientes, médico e industria. Y como condicionantes están el estado clínico y otras circunstancias, la experiencia clínica, las pruebas procedentes de la investigación y las preferencias y acciones de los pacientes. A esto hay que añadir la bioética aplicada a la asistencia, cuyos principios son: no maleficencia, justicia, beneficencia y autonomía.

¿Sus recomendaciones para la práctica sobre probióticos en prematuros teniendo en cuenta la literatura científica al respecto y el caso comentado?

- El uso de probióticos debería considerarse fuertemente en el cuidado del prematuro ≤ 32 SG y/o < 1500 gramos.

- Aunque el balance beneficios-riesgos-costes es claramente favorable con los datos actuales, el uso rutinario de probióticos implicaría una estrecha monitorización.

- En base a los ECA realizados hasta la fecha, es posible dar las siguientes recomendaciones en cuanto a tipo de cepa, dosis, inicio y duración:

a) ¿Qué cepa?: preferible una combinación de Bifidobacterium y Lactobacillus.

b) ¿Qué dosis?: 3×10^9 UFC/día, preferible en dosis única. En < 1000 gramos comenzar con $1,5 \times 10^8$ UFC/día hasta alcanzar aporte enteral de 50 ml/Kg/día.

c) ¿Cuándo comenzar?: cuando pueda iniciar alimentación enteral, preferible en los primeros 7 días de vida.

d) ¿Hasta cuándo continuar?: hasta las 35 SG de edad postconcepcional o hasta el alta.

e) ¿Alguna precaución?: no ofrecer el suplemento con probióticos si hay enfermedad aguda tipo sepsis, NEC o asfisia perinatal

¿Alguna recomendación para la investigación?

Fundamentalmente tres:

- Un ECA multicéntrico con suficiente poder estadístico: para una incidencia de NEC de un 5%, en un ensayo doble ciego controlado ($\alpha = 5\%$, $\beta = 20\%$), se requerirían 317 prematuros en cada rama para demostrar que los probióticos disminuyen incidencia de NEC al menos un 50%.

- Seleccionar una cepa de probiótico, dosis, comienzo y duración de ECA previamente realizados y con buen resultado en prematuros < 1500 gramos.

- En estos momentos en que todos los MA son consistentes en la buena relación beneficios-riesgos de los probióticos en prematuros, es necesario un ECA independiente y de calidad que confirme los resultados y evite los potenciales sesgos de los MA actuales.

A modo de colofón, ha concluido la presentación con las mismas cuestiones que planteó al iniciar la revisión sobre NEC.

Así es. Aquí están para la reflexión: To NEC or not to NEC? ¿Y si en lugar de "probiótico" se llamará "probioticozumab"? ¿Cuántas pruebas científicas más son necesarias para salvar vidas?



JUAN MIGUEL RODRÍGUEZ

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid y ROCÍO MARTÍN Danone Research Centre for Specialised Nutrition

La sesión sobre usos clínicos comenzó con la conferencia titulada “Microbiota mamaria y probióticos en la lactancia”, a cargo de Juan Miguel Rodríguez, del Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid, y Rocío Martín, Danone Research Centre for Specialised Nutrition. Entre las conclusiones, se puso de manifiesto que la exposición del lactante al amplio espectro de filotipos bacterianos de la leche materna puede ejercer efectos beneficiosos frente a enfermedades gastrointestinales y respiratorias, y reducir el riesgo de desarrollar otras enfermedades cada vez más preocupantes, como la diabetes o la obesidad.

“La leche materna puede ser considerada fuente natural de bacterias probióticas con capacidad protectora frente a distintas patologías”

Es conocido el papel de la leche humana en el sistema inmunitario infantil y su carácter protector frente a infecciones. ¿Cuál es la relación de los probióticos con este campo?

Esos efectos beneficiosos son fruto de la acción individual o sinérgica de muchas moléculas bioactivas presentes en el calostro y en la leche, incluyendo células inmunocompetentes, inmunoglobulinas, ácidos grasos, poliaminas, oligosacáridos, péptidos antimicrobianos lisozima, lactoferrina y otras proteínas glicosiladas. Por si fuera poco, recientemente, diversos estudios han revelado que tanto el calostro como la leche son una excelente fuente de bacterias comensales, mutualistas y potencialmente probióticas. De hecho, la leche humana es uno de los factores clave en la iniciación y el desarrollo de la microbiota intestinal del neonato. Posiblemente se trate de la principal fuente de bacterias para el recién nacido. Por lo tanto, no es de extrañar que la microbiota intestinal del lactante refleje, en mayor o menor medida, la existente en la leche materna.

¿Qué se sabe sobre esa diversidad bacteriana?

Las primeras descripciones de la diversidad bacteriana en muestras de leche procedentes de mujeres sanas se basaron en el empleo de medios de cultivo y pusieron de manifiesto la presencia de diversas especies de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Weissella* o *Leuconostoc*, incluyendo nuevas especies, como *Streptococcus lactarius*. Posteriormente, se observó que la leche humana también es una fuente de bifidobacterias viables para el intestino del lactante.

¿Han aportado nuevos datos los métodos moleculares de análisis?

Han proporcionado una visión complementaria de la biodiversidad del microbioma mamario humano. Su aplicación ha confirmado que la leche materna es una buena fuente de estafilococos, estreptococos, bacterias lácticas, propionibacterias o bifidobacterias pero, además, ha mostrado que algunas bacterias Gram-negativas, como *Escherichia coli*, también pueden estar presentes en este fluido. La aplicación de las técnicas “-ómicas” (genómica, metagenómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica...) al estudio de la microbiota mamaria humana abrirá nuevas perspectivas para comprender su papel en la salud materno-infantil.

¿Qué tiene de peculiar la microbiota mamaria?

A diferencia de la existente en otras localizaciones, tiene una naturaleza transitoria. Así, su formación se inicia coincidiendo con la síntesis de precalostro, alcanza su máxima complejidad hacia el parto, se mantiene más o menos estable mientras dura la lactancia, sufre un declive rápido cuando empieza el destete y desaparece totalmente cuando no queda leche en la glándula mamaria.

¿Podemos hablar de bacterias dominantes en la leche materna?

Los estafilococos coagulasa-negativos, con *Staphylococcus epidermidis* a la cabeza, y los estreptococos del grupo viridans, son las bacterias dominantes, mientras que la presencia de especies de otros géneros es más variable. No es casualidad que en los últimos años se esté poniendo de manifiesto que la presencia de *S. epidermidis* sea una característica diferencial de las heces de los niños amamantados. Por otra parte, se ha observado que la concentración de lactobacilos, enterococos y bifidobacterias es significativamente más elevada en la microbiota de lactantes que en la de niños alimentados con fórmulas. El predominio de un pequeño número de especies en este fluido podría explicar por qué la microbiota intestinal de lactantes sanos está compuesta por un reducido espectro de especies y cepas.

¿Qué relación tiene todo esto con la dieta infantil?

La microbiota intestinal infantil está profundamente influenciada por la dieta y, en este sentido, la introducción de alimentos sólidos, junto con la retirada progresiva de la leche, provoca cambios drásticos en su composición. Es probable que este hecho sea el principal responsable de las diferencias observadas entre la microbiota intestinal de los niños que reciben lactancia materna y la de aquellos alimentados con fórmulas infantiles, que a pesar de los avances, aún son diferentes a la leche humana.

¿Se sabe de dónde proceden esas bacterias presentes en la leche humana?

El origen de esas bacterias es un tema de gran actualidad. Tradicionalmente se había considerado que la colonización del intestino del neonato empezaba durante el parto debido a la contaminación de su cavidad oral con bacterias procedentes de las microbiotas vaginal e intestinal de la madre; posteriormente, las bacterias pasarían de la boca del niño al pecho de la madre y, junto con las bacterias existentes en la piel de la madre, contaminarían la leche al ser eyectada. En los últimos años, se ha puesto en evidencia que las bacterias que colonizan inicialmente el intestino neonatal se pueden transmitir de forma vertical entre la madre y el niño mediante la leche materna, incluso en aquellos nacidos por cesárea.

¿Qué nuevos datos hay al respecto?

Teniendo en cuenta que los distintos nichos ecológicos del microbioma humano no son ambientes estancos y que las comu-

nidades bacterianas mamarias o de la leche no son una excepción, ninguna de las vías “clásicas” (cavidad oral del niño, piel de la madre) pueden explicar la diversidad bacteriana existente en la leche humana. Técnicas de fotografía infrarroja han mostrado un cierto flujo retrógrado de leche hacia los conductos galactóforos durante la succión del lactante. La microbiota de la piel materna también podría ejercer cierta influencia. Globalmente, los estudios recientes sugieren que pueden existir diversas fuentes de bacterias para la leche humana pero que, al menos una parte sustancial de las mismas, podrían proceder de la microbiota intestinal de la madre y accederían al epitelio de la glándula mamaria a través de una ruta interna: la ruta entromamaria. Este hecho implicaría que la capacidad de algunas bacterias intestinales para extenderse a otros tejidos u órganos de hospedadores humanos sanos habría sido tradicionalmente infravalorada.

Uno de los aspectos de mayor interés son las funciones/aplicaciones para la salud de las bacterias de la leche humana.

Indiscutiblemente, la leche materna es una fuente de cientos de filotipos bacterianos para el tracto gastrointestinal del lactante. Diversos estudios han demostrado la transferencia materno-infantil de cepas bacterianas pertenecientes, al menos, a los géneros *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Bifidobacterium* a través de la lactancia. La exposición del lactante a ese amplio espectro de filotipos bacterianos puede ejercer efectos beneficiosos frente a enfermedades gastrointestinales y respiratorias, y reducir el riesgo de desarrollar otras enfermedades cada vez más preocupantes, como la diabetes o la obesidad.

También han hablado de funciones cognitivas.

Sí. Nuestra microbiota, y especialmente la que la madre puede transferir al niño en los primeros meses de vida puede ejercer una gran influencia en sus funciones cognitivas. Diversos estudios epidemiológicos han indicado una asociación entre alteraciones del neurodesarrollo, como el autismo o la esquizofrenia, y ciertas infecciones durante el periodo perinatal. Más recientemente se ha confirmado que la microbiota “normal” representa una parte integral de las señales ambientales externas que modulan el desarrollo y la función cerebral. En este sentido, las bacterias aportadas al niño a través de la leche humana podrían ser particularmente relevantes.

Por tipo de bacterias, ¿qué funciones destacan en el caso de las lácticas y bifidobacterias?

En general, las bacterias lácticas y las bifidobacterias aisladas de la leche humana parecen jugar diversos papeles en el intestino del lactante. En primer lugar, pueden contribuir a reducir la incidencia y severidad de una amplia gama de infecciones. También pueden participar en la correcta maduración del sistema inmunitario infantil. La lactancia materna exclusiva durante los primeros meses de vida se ha asociado con tasas significativamente más bajas de dermatitis atópica y asma en la población infantil. Asimismo, las bacterias lácticas y bifidobacterias de la leche humana muestran un gran potencial para participar en el metabolismo infantil.

En cuanto a los estafilococos y estreptococos de la leche humana, ¿qué funciones destacan?

La presencia de *S. epidermidis* como especie bacteriana predominante en calostro y leche materna de mujeres sanas ofrece una explicación plausible sobre la menor frecuencia de infecciones en niños prematuros a los que se les ha administrado leche materna, particularmente siguiendo el método de la madre canguro. Aunque hasta el momento no se ha considerado la posibilidad de emplear cepas de *S. epidermidis* procedentes de la leche materna como probióticos en las unidades neonatales, esa idea no debería descartarse por completo en el futuro. Con ello, asistiríamos a una demostración del concepto probiótico en su más estricto sentido científico.

Por otra parte, los estreptococos pueden resultar de gran utilidad para minimizar las posibilidades de que los niños expuestos a ambientes hospitalarios sean colonizados por patógenos prevalentes en dichos escenarios. En otro contexto, la especie *St. sanguinis* está considerada como un antagonista natural de *Streptococcus mutans* y, en consecuencia, juega un papel preventivo con relación a la caries dental y a las enfermedades periodontales. Por último, diversos estudios la cepa *E. coli* Nissle 1917 (O6:K5:H1) han demostrado que su aplicación por vía oral, tanto a niños a término como a prematuros, reduce significativamente el número y la severidad de infecciones infantiles (sepsis incluidas) causadas por bacterias Gram-negativas.

¿Cuál es para usted la principal conclusión de todos estos datos sobre la leche humana como fuente de bacterias probióticas?

Que la leche de mujeres sanas puede ser considerada como una fuente natural de bacterias potencialmente probióticas con papeles importantes en la protección de las madres y de sus hijos frente a diversas enfermedades alérgicas, inflamatorias o infecciosas. La prevención de infecciones en niños prematuros o el tratamiento de las mastitis durante la lactancia son buenos ejemplos de las posibles aplicaciones terapéuticas de las bacterias aisladas de este fluido.



FERNANDO AZPIROZ
Servicio de Aparato Digestivo
Hospital General de Vall d'Hebron,
Barcelona

Una vez concluido el simposio sobre Pediatría y la mesa de controversias, el “IV Workshop sobre Probióticos, Prebióticos y Salud: Evidencia Científica”, continuó con su distribución por sesiones como en ediciones anteriores. La primera de ellas, centrada en usos clínicos, fue iniciada por Fernando Azpiroz, del Servicio de Gastroenterología del Hospital General de Vall d’Hebron de Barcelona, quien presentó la comunicación titulada “Flatulencia: características clínicas, fisiológicas y microbiológicas”. De ella nos habla en esta entrevista. En el trabajo también han participado M. Chaysavanh, S. Estrella, C. Hernández, S. Cuenca, A. Accarino, J. Santos, F. Guarner, J.R. Malagelada, pertenecientes al mismo centro del autor principal y miembros también del Centro de Investigación Biomédica en Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) de Barcelona. Además, entre los firmantes se encuentra D. Guyonnet, de Danone Research (París).

“Los pacientes con flatulencia tienen una adaptación defectuosa de la microbiota colónica a la dieta”

¿Cuál era el objetivo de esta investigación?

Determinar la influencia de la dieta sobre los síntomas clínicos y la microbiota intestinal en pacientes con flatulencia.

Para ello, ¿qué tipo de muestra se utilizó?

Se estudiaron pacientes (n = 30) y sujetos sanos (n = 20) durante 3 días con su dieta habitual (basal), y durante otros 3 días con una dieta alta en residuos (flatulogénica).

¿Qué cambios observaron en el periodo de dieta habitual?

En el periodo basal los pacientes registraron más síntomas abdominales que los sujetos sanos ($5,8 \pm 0,3$ vs $0,4 \pm 0,2$ de molestia/dolor, respectivamente; $p = 0,0001$) y más evacuaciones de gas ($21,9 \pm 2,8$ vs $7,4 \pm 1,0$ evacuaciones diarias, respectivamente; $p = 0,0001$), sin diferencias en el volumen de gas evacuado después de una comida estándar (262 ± 22 y 265 ± 25 ml, respectivamente).

¿Y con la dieta alta en residuos?

Con la dieta flatulogénica ambos grupos presentaron más síntomas abdominales ($7,9 \pm 0,3$ y $2,8 \pm 0,4$ molestia/dolor, respectivamente), más evacuaciones de gas ($44,4 \pm 5,3$ y $21,7 \pm 2,9$ evacuaciones diarias, respectivamente), y mayor producción de gas (656 ± 52 y 673 ± 78 ml, respectivamente; $p < 0,05$ vs dieta basal).

En relación al uso de probióticos, ¿qué datos son los más relevantes tras estas comprobaciones?

Se observó que los sujetos sanos, y no los pacientes, tendían a adaptarse a la dieta flatulogénica mediante un aumento de microorganismos consumidores de hidrógeno (metanógenos y acetógenos en heces mediante PCR cuantitativa).

Según esto, ¿cuál es la principal conclusión del trabajo?

Los pacientes con flatulencia tienen una mala tolerancia al gas intestinal, y una adaptación defectuosa de la microbiota colónica a la dieta.



ROSA MARÍA DEL CAMPO
Servicio de Microbiología.
Hospital Universitario Ramón y Cajal,
Madrid

*El trabajo titulado “Presencia del género *Streptococcus* en leche materna: ¿inoculación orofaríngea directa para el neonato?” centró la segunda de las comunicaciones orales de la sesión de usos clínicos. Rosa María del Campo, del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid, fue la encargada de la exposición de esta investigación en la que también han participado A. Sánchez-Díaz, del mismo Servicio, así como P. Mediano, M. Marín, L. Moles y J.M. Rodríguez, miembros del Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid.*

“La leche materna podría ser una fuente de estreptococos para su inoculación orofaríngea directa en el neonato”

¿Qué se proponían con este trabajo?

El objetivo de este estudio era caracterizar los aislados con morfología compatible con el género *Streptococcus* en muestras de leche materna obtenidas de mujeres sanas o de mujeres con mastitis.

Para ello, ¿cómo se procedió?

Se incluyeron 43 muestras de leche procedentes de mujeres sanas y 143 de mujeres con mastitis. Las muestras se sembraron en medios de cultivo selectivos y no selectivos con recuento. Todas las colonias con morfología compatible con *Streptococcus* fueron subcultivadas en agar sangre. La identificación de las colonias se realizó mediante MALDI-TOF y el método semi-automatizado WIDER (Fco. Soria Melguizo, Madrid) y, en el caso de tener dudas, se secuenció un fragmento de los genes 16S ARNr y *sodA*. La sensibilidad antibiótica se determinó mediante la técnica de microdilución en caldo utilizando el sistema WIDER. La diversidad genética de los aislados se exploró mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE).

¿Qué datos se observaron?

En 28 muestras de leche de mujeres sanas y en 97 de mujeres con mastitis se observaron colonias con morfología compatible de *Streptococcus* (67% y 65% del total analizado, respectivamente). El 75% de los aislados fueron identificados como *Streptococcus mitis* presentando altos niveles de resistencia a macrólidos (80%), fosfomicina (38,6%) y penicilina (32%). Se detectaron otras especies minoritarias, destacando 8 cepas de *Streptococcus pneumoniae* prácticamente sensibles a todos los antibióticos estudiados. Todos los aislados mostraron una alta diversidad genética.

En base a estos resultados, ¿cuáles son las principales aportaciones del trabajo?

En este estudio se describe por primera vez la presencia de *S. pneumoniae* sensible a los antibióticos en leche materna. Dentro de la especie *S. mitis*, que es la mayoritaria, se ha detectado un elevado nivel de resistencia a varias familias de antibióticos.

Como posible aplicación, ¿qué conclusión extraen?

La leche materna podría ser una fuente de estreptococos para su inoculación orofaríngea directa en el neonato.



JAIME FORERO

Servicio de cuidado intensivo pediátrico y neonatal.
Clínica Chicamocha, Bucaramanga (Colombia)

La “Efectividad del uso de un probiótico multiespecie en la prevención de enterocolitis necrotizante en recién nacidos pretérmino” fue el tema de la intervención del investigador colombiano Jaime Forero, del Servicio de cuidado intensivo pediátrico y neonatal de la Clínica Chicamocha, de la Fundación Hispanoamericana, en Bucaramanga (Colombia). La investigación lleva también la firma de L. M. Vera-Cala, del Departamento de Salud Pública de la Universidad Industrial de Santander (UIS), en Bucaramanga (Colombia), y de M. Delgado, miembro de la misma unidad clínica que Forero.

Un probiótico multiespecie reduce la incidencia de enterocolitis necrotizante en un 85% en prematuros de menos de 1.500 gramos

¿Qué objetivo tenía el trabajo?

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de un probiótico multiespecie (eptavis®) en reducir la incidencia y severidad de la enterocolitis necrotizante en recién nacidos prematuros.

¿Qué método utilizaron?

Se llevó a cabo un ensayo clínico aleatorizado, prospectivo, doble ciego controlado, en prematuros, con un peso menor a 1.500 gramos, alimentados con leche artificial desde el primer día de vida. Se administró una dosis diaria de 1 gramo de probiótico multiespecie (eptavis®), previo al inicio de alimentación en forma convencional con leche artificial hasta la salida del cuidado intensivo. El grupo control recibió con la misma frecuencia una dosis de placebo con los diluyentes del preparado evaluado. Los evaluadores no conocían si el prematuro había recibido el preparado o placebo. La variable de salida fue la presencia de enterocolitis necrotizante (estadio II o mayor).

¿Qué características presentaba la muestra?

En 15 meses se atendieron 378 recién nacidos, 79 de menos de 1.500 gramos. En 39 no se pudo administrar leche materna y fueron asignados al azar a uno u otro grupo. Las variables clínicas y demográficas de ambos grupos fueron similares.

¿Cuáles fueron las principales observaciones?

La incidencia de enterocolitis necrotizante fue menor en el grupo del probiótico que en el control (1 de 19 vs 7 de 20). En los hemocultivos positivos realizados a los niños no se encontró crecimiento de gérmenes constituyentes del probiótico.

En este sentido, ¿qué conclusiones destacan?

Se concluye que el probiótico multiespecie (eptavis®) administrado en forma enteral desde el primer día de vida a prematuros de menos de 1.500 gramos y que no pueden recibir leche industrial, reduce la incidencia de enterocolitis necrotizante en un 85%. Aunque no fue el objeto del estudio, también se analizó la presencia de sepsis tardía y fue reducida en un 62% en los niños que recibieron el probiótico multiespecie.



BORJA SÁNCHEZ
Departamento de Microbiología y Bioquímica,
Instituto de Productos Lácteos de Asturias
(IPLA-CSIC)

Dentro de la sesión de usos clínicos, Borja Sánchez, del Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), presentó un trabajo sobre “Aplicación de los niveles de anticuerpos dirigidos contra proteínas extracelulares de probióticos como marcadores de enfermedad inflamatoria intestinal”, en el que también han participado los investigadores del mismo centro A. Hevia y A. Margolles.

Respuesta inmunitaria específica para una proteína producida por *Lactobacillus rhamnosus* GG

¿Por qué se plantearon esta investigación?

Muchos de los microorganismos probióticos son consumidos con los alimentos. Una vez en el tracto gastrointestinal, desarrollan su actividad metabólica y producen una serie de proteínas extracelulares que juegan una serie de funciones importantes en la comunicación molecular entre probiótico y hospedador.

¿Podría destacar alguna de esas funciones?

Dada su exposición al sistema inmune humano dentro del tracto gastrointestinal, estas proteínas extracelulares son candidatas importantes al desarrollo de anticuerpos específicos dirigidos contra ellas.

En este sentido, ¿el trabajo en qué ha consistido?

En este estudio hemos analizado, desde un punto de vista cualitativo, la presencia de anticuerpos (IgA e IgG) dirigidos contra las proteínas extracelulares de seis especies de microorganismos representantes de probióticos utilizados en alimentación humana.

¿Cómo se llevó a cabo?

Se realizó en una cohorte de individuos sanos (n=53) o diagnosticados con Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) (n=50). De las bandas correspondientes a proteínas inmunoreactivas y diferenciales entre los dos grupos, se escogió una proteína de 70 kDa producida por *Lactobacillus rhamnosus* GG, y se estudiaron los niveles de anticuerpos (IgG e IgA) dirigidos contra ella en la cohorte de individuos anteriormente descrita mediante la técnica ELISA.

¿Qué datos se observaron?

Como conclusión, no se observaron diferencias en los niveles de IgG específicos contra la proteína de la cepa GG entre individuos sanos y con EII, pero sí en los niveles de IgA, comprobándose que la respuesta inmunitaria era específica para la proteína de la cepa GG.



JOSÉ IGNACIO ZALBA ELIZARI
Centro Avanzado en Prevención, Pamplona

La sesión sobre usos clínicos concluyó con la intervención de José Ignacio Zalba Elizari, director del Centro Avanzado en Prevención de Pamplona, sobre “Empleo de probióticos en Odontología”. El experto destacó que los probióticos constituyen una prometedora opción en este campo. En su opinión, los micro-organismos probióticos pueden desarrollar un papel importante en la salud bucal, si son capaces de incorporarse a la película adquirida y crecer junto a la microbiota autóctona de la placa bacteriana o biofilm, a la vez que disminuyan la colonización de micro-organismos patógenos, además de poder estimular una respuesta positiva del sistema inmunológico.

“Los probióticos pueden desarrollar un papel importante en la salud bucal, si logran crecer junto a la microbiota de la placa bacteriana”

¿Cuál es el panorama de las infecciones bucales para pensar en nuevas estrategias preventivas y terapéuticas?

A pesar de la universalización del empleo del cepillado dental, los dentífricos con flúor y otros métodos preventivos (selladores dentales, seda dental, profilaxis profesional,...), las infecciones de la boca como caries, o los problemas de encías, continúan siendo enfermedades orales que afectan a la gran mayoría de la población mundial. Por su alta prevalencia-incidencia, cabe señalar que el 99% de los españoles ha padecido caries al llegar a los 45 años y el 93,5% de la población adulta española muestra signos de enfermedad periodontal, presentan unos rasgos generales que requieren de un enfoque preventivo. Otros problemas habituales que nos encontramos hoy a nivel oral son el mal-aliento y las enfermedades de los implantes dentales (prótesis para la sustitución de piezas dentales) como la mucositis o la periimplantitis.

¿Hay relación entre salud oral y salud general?

El cuerpo humano funciona como un sistema coordinado, así los problemas de salud general afectan a la salud de la boca y viceversa. Ante enfermedades consideradas complejas y multifactoriales (la vida moderna, el estrés, tabaco, malos hábitos alimenticios, el consumo excesivo de medicamentos,...) como son las de la boca, cada vez más, los enfoques son multidisciplinares donde los abordajes son locales y sistémicos.

¿Puede explicar este carácter sistémico?

Las infecciones bucales crónicas en tejidos blandos provocan procesos inflamatorios liberando sustancias pro-inflamatorias como citoquinas, que a través del sistema circulatorio acceden a cualquier área del organismo aumentando el riesgo de problemas cardiovasculares, musculares, digestivos, partos prematuros, diabetes, lesiones deportivas. Por ello, la resolución de las enfermedades crónicas orales y el mantenimiento de la salud de la boca deben considerarse como un activo en la prevención de problemas sistémicos para la salud general.

La boca también es importante desde el punto de vista de las bacterias

La boca es un complejo ecosistema en el que existe gran variedad de bacterias, se estima que más de 700 especies diferentes, en donde encuentran las condiciones de temperatura,

humedad y nutrientes ideales para su desarrollo, esto dificulta su control y favorece la alta prevalencia de infecciones crónicas que pasan muchas veces desapercibidas, como periodontitis, gingivitis, peri-implantitis, pericoronaritis, caries, fístulas, abscesos, etc.

¿Cuál ha sido el abordaje habitual de este tipo de problemas?

El enfoque tradicional tanto en la fase preventiva como en la terapéutica ha estado fundamentado en tratar de eliminar la mayor parte de las bacterias. Un uso excesivo de antibióticos (“contra la vida”), e incluso de procedimientos mecánicos realizado por los profesionales del sector dental, ha servido para comprender las limitaciones de este tipo de abordaje.

¿Qué cambios se han producido?

La mejor comprensión de la microbiología oral en odontología debido a la hipótesis de la placa ecológica. Marsh postula que infecciones orales como la caries o las enfermedades periodontales vendrían a ser el resultado de los cambios ocurridos en el equilibrio de la microbiota que reside en la placa, como consecuencia de la modificación de las condiciones medio-ambientales locales. Por ejemplo, un consumo continuado de tabaco alteraría las condiciones en la placa bacteriana, lo que favorecería el desarrollo de una mayor cantidad de bacterias patógenas periodontales (enfermedades de las encías).

Lo mismo en el caso del azúcar, etc.

Sí, otro ejemplo es que microorganismos de la cavidad oral cuando se produce un consumo frecuente de azúcares, los metabolizan creando ácidos fuertes que favorecen el predominio de las especies cariogénicas y la desmineralización del diente. Según estos conceptos la enfermedad periodontal, la caries dental y otras enfermedades orales serían la consecuencia de cambios ecológicos, producto de un medio local alterado, donde microorganismos potencialmente patógenos tendrían una ventaja competitiva bajo condiciones apropiadas, pudiendo alcanzar, en ciertos lugares específicos, un número tal que pudiera predisponer el desarrollo de la enfermedad.

¿Es aquí donde surge la relación con los probióticos?

Sí. Como consecuencia del concepto propuesto por Marsh sobre el cambio ecológico microbiano como mecanismo que conlleva al inicio de la enfermedad, aparecen nuevas estrategias dirigidas a potenciar un ambiente saludable para poder prevenir el desarrollo de estas infecciones oportunistas a través de estrategias múltiples, entre ellas el uso de probióticos, para mantener el equilibrio ecológico de la bio-película.

¿Y cómo pueden aplicarse los probióticos en salud oral?

Debido al hecho de que pueden competir con otras bacterias patógenas, han sido objeto de investigación en la prevención

de las enfermedades bucodentales, puerta de entrada del sistema digestivo, como la caries dental, periodontal enfermedad, periimplantitis, mal-aliento, etc. En términos generales, los probióticos promueven la salud mediante la exclusión competitiva o positiva de las bacterias patógenas. Los estudios en la utilización de probióticos en cavidad bucal, para el control y/o prevención de enfermedades infecciosas bucales en humanos, requieren bacterias con gran potencial de competir por el sitio, inhibiendo el crecimiento de los micro-organismos patógenos y permaneciendo en el sitio de la cavidad bucal, además de tener influencia positiva en la respuesta del sistema inmunológico.

¿Algún ejemplo concreto que se esté aplicando?

Actualmente existe un probiótico para uso odontológico que es un producto para la higiene bucal que combate la placa, la gingivitis y las bacterias cariogénicas mediante la combinación patentada de dos cepas de *Lactobacillus reuteri*. Es 100% natural, ya que reside en el tracto gastrointestinal en humanos y produce una sustancia antibiótica de amplio espectro llamada “reuterina”, que en suficiente cantidad causa el efecto antimicrobiano deseado para mantener la microbiota intestinal intacta. Su uso diario está recomendado tanto en niños como en adultos para una higiene bucal óptima, para personas que estén atravesando momentos de mucho estrés y agitación, o para quienes tengan un riesgo elevado de problemas periodontales como embarazadas, diabéticos, fumadores o ancianos, y para personas que toman medicamentos que aumentan la sensibilidad de las encías como los anticonceptivos orales o los antihistamínicos.

¿Son ya los probióticos una opción consolidada en Odontología?

Aunque la literatura muestra la asociación entre los probióticos y la salud de la boca, pareciendo ser una interesante herramienta terapéutica a considerar, se necesitan más estudios para acabar de comprender tanto su nivel de eficacia como sus mecanismos de acción. Hay algún aspecto que aún no ha sido claramente esclarecido en lo que se refiere a la adherencia de la bacteria probiótica sobre las superficies orales de manera prolongada y persistente para formar parte de la bio-película, o bien si se produce un efecto inhibitorio de las bacterias patógenas del probiótico después de su consumo.

¿Qué conclusión le gustaría transmitir?

Que las enfermedades bucales por su alta prevalencia-incidencia, y su influencia en la salud general del individuo, presentan unos rasgos generales que requieren de un enfoque preventivo. Entre las nuevas estrategias de carácter múltiple dirigidas a potenciar un ambiente saludable de la boca para poder prevenir el desarrollo de infecciones oportunistas, está el uso de probióticos, con el fin de mantener el equilibrio ecológico de la bio-película.

¿Entre los mecanismos de acción de los probióticos cuáles resultan más prometedores?

Los micro-organismos probióticos pueden desarrollar un papel importante en la salud bucal, si son capaces de incorporarse a la película adquirida y crecer junto a la microbiota autóctona de la placa bacteriana o biofilm, a la vez que disminuyan la colonización de micro-organismos patógenos, además de poder estimular una respuesta positiva del sistema inmunológico. Si bien son pocos los estudios disponibles sobre la acción de estos probióticos en la cavidad oral, los resultados son prometedores, e indican que éstos tendrían alguna efectividad clínica en la prevención de las enfermedades más comunes de la cavidad oral.

Referencias bibliográficas

1. Flichy-Fernández AJ, Alegre-Domingo T, Peñarrocha-Oltra D, Peñarrocha-Diogo M. Probiotic treatment in the oral cavity: An update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; Sep 1; 15 (5):e677-80.
2. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Diseases* 2007; 13: 443-51.
3. Reeves J. Reports on EuroPerio in Vienna. Key treatments. *Dental Therapy Update* October/November 2012. P. 19.
4. Rodríguez Villarreal O, Holguín Santana MP, Guzmán de Hoyos AI. Utilización de probióticos en Odontología Preventiva. *Rev. Acad. Mex. Odon. Ped.* 2012; 24(2): 85-89



GLENN GIBSON
University of Reading, Reino Unido

El IV Workshop de la SEPYP contó con la participación de uno de los principales expertos sobre prebióticos a nivel mundial, Glenn Gibson, quien introdujo la Sesión de Microbiología con una conferencia sobre “Desarrollo y estudios de eficacia de un nuevo prebiótico”. El investigador de la Universidad de Reading (Reino Unido) hizo un repaso al estado en el que se encuentra la investigación sobre prebióticos. Destacó que al margen de sus efectos en patologías como cáncer de colon, enfermedad inflamatoria intestinal, diarrea del viajero o el síndrome del intestino irritable, se está estudiando en modelos intestinales in vitro los posibles efectos que los prebióticos ejercen sobre determinados biomarcadores de enfermedades, como los lípidos en sangre, y sobre los perfiles de los metabolitos en los fluidos corporales.

“Los posibles efectos de los prebióticos sobre biomarcadores de enfermedades, nueva vía de estudio”

¿En qué contexto se enmarcan sus investigaciones?

El aparato digestivo es un ecosistema funcional cuyas actividades afectan al sistema inmune, a la función digestiva y al metabolismo. Asimismo, un incorrecto funcionamiento puede traer consigo enfermedades tales como la gastroenteritis, afecciones óseas, enfermedad inflamatoria intestinal (incluidas la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa), diarrea asociada a antibióticos, síndrome de intestino irritable, cáncer de colon y recto, obesidad, problemas metabólicos o incluso algunos síndromes del espectro autista. En este ecosistema intervienen algunos microorganismos como componentes fundamentales, entre los que se encuentran las bacterias del género *Clostridium*, del género *Streptococcus*, bifidobacterias, lactobacilos, bacterias sulfato reductoras y los microorganismos responsables de la acetogénesis y metanogénesis.

Dentro de este ámbito, ¿qué se entiende por prebióticos?

Según la definición de la ISAPP de 2010, un prebiótico es un ingrediente fermentado de forma selectiva que trae consigo cambios específicos en la composición y/o la actividad de la microbiota intestinal, lo que confiere determinados beneficios a la salud del huésped. De acuerdo con los criterios de esta organización, esa fermentación selectiva es una condición fundamental que ha de poderse demostrar *in vivo* en la microbiota intestinal animal o humana. Asimismo, ha de ejercer dichos efectos en un número limitado de especies o géneros estimulados de forma selectiva, y se entiende como “actividad” de la microbiota su perfil metabólico, sus mecanismos de señalización molecular o las interacciones entre microbios y huésped.

Entre los mecanismos de acción de los prebióticos, ¿cuál destacan?

Los carbohidratos no digeribles con efectos prebióticos estimulan de forma selectiva el crecimiento de especies o géneros bacterianos caracterizados exclusivamente o de manera preferente por la fermentación sacarolítica, en lugar de la proteolítica. Esto se ha demostrado en el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos. Existen otros géneros emergentes, como *Eubacterium*, *Faecalibacterium* y *Roseburia*, aunque todavía hacen falta más datos acerca de sus propiedades fisiológicas.

¿Qué ingredientes de este tipo centran actualmente los estudios?

Entre los componentes de los que se están estudiando sus posibles capacidades prebióticas destacan la inulina, la lactulosa, los fructo-oligosacáridos y los galacto-oligosacáridos. Los estu-

dios indican que entre sus propiedades prebióticas se encuentra un mayor grado de fermentación de los grupos bifidobacteria, Lactobacilli, bacteroides y clostridia, y muy en especial por las primeras, tal y como se ha comprobado en estudios *in vivo* en humanos. Las especies más estudiadas dentro de este grupo son *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium animalis lactis* y *Bifidobacterium infantis*.

¿Qué datos hay sobre su influencia en la salud?

En cuanto a su influencia sobre la salud, se están estudiando los efectos de los galacto-oligosacáridos como prebióticos en el cáncer de colon, la enfermedad inflamatoria intestinal, diferentes patógenos, la enfermedad de Carré en animales, la disponibilidad de minerales, la diarrea del viajero, la diarrea asociada a antibióticos, el síndrome del intestino irritable, algunas reacciones atópicas, la obesidad y algunos síndromes del espectro autista.

¿Qué resultados existen al respecto?

Hasta la fecha, se han demostrado sus efectos beneficiosos en la microbiota intestinal de personas de edad avanzada, en la función inmune (tanto en la concentración de marcadores como en la función fagocítica frente a *E. Coli*) y en la actividad de las células NK.

¿Y en patologías concretas?

Por ejemplo, un tratamiento con galacto-oligosacáridos prebióticos ha demostrado efectos positivos tanto en la duración como en los niveles de dolor de la diarrea del viajero. Por lo que respecta al síndrome del intestino irritable, este tratamiento ha dado resultados tomando como referencia la consistencia de las deposiciones, los niveles de flatulencia e hinchazón, la evaluación subjetiva global por parte del paciente y la ansiedad. Los suplementos de galacto-oligosacáridos también redujeron los niveles de hinchazón en estos casos. En otro estudio con 47 pacientes con sobrepeso, un tratamiento con una dieta rica en galacto-oligosacáridos prebióticos demostró una reducción significativa en los niveles de colesterol, triglicéridos y marcadores inflamatorios, así como un efecto positivo en la microbiota intestinal de los niveles de IgA en heces.

¿Qué líneas de trabajo tienen en marcha actualmente?

Estamos estudiando en modelos intestinales *in vitro* los posibles efectos que estos prebióticos ejercen sobre determinados biomarcadores de enfermedades, tales como los lípidos en sangre, y sobre los perfiles de los metabolitos en los fluidos corporales.



SILVIA ARBOLEYA
Instituto de Productos Lácteos de Asturias
(IPLA-CSIC)

El “Efecto probiótico in vitro de cepas de Bifidobacterium en muestras fecales de niños prematuros” fue el primero de los temas abordados en las comunicaciones orales de la Sesión de Microbiología. Este primer trabajo lo presentó Silvia Arboleya, del Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos del Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), que firma la investigación junto a N. Salazar, A. Margolles, C. G. De los Reyes Gavilán y M. Gueimonde, todos ellos del mismo centro asturiano, además de N. Fernández, del Servicio de Pediatría del Hospital de Cabueñes (Gijón), y G. Solís, del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Central de Asturias (Oviedo).

“El estrés oxidativo en el intestino inmaduro de prematuros puede constituir una diana importante para modular la microbiota”

¿Cuál es el contexto de esta investigación?

El establecimiento de la microbiota intestinal comienza con el nacimiento y juega un papel esencial en el desarrollo del intestino, sistema inmune y futura salud del individuo. El perfil microbiano de los niños nacidos a término, por parto vaginal y alimentados exclusivamente por leche materna (TLM) es el estándar de salud y es referencia para el desarrollo de fórmulas infantiles.

Frente a esas condiciones normales, ¿qué ocurre en el caso de niños prematuros?

Los niños prematuros tienen un retraso en el establecimiento y desarrollo de dicha microbiota debido a la edad gestacional, tiempo de estancia en el hospital, alimentación por fórmula, etc., por lo que constituyen una de las poblaciones que más se pueden beneficiar de la aplicación de probióticos desde sus primeros días de vida.

En este sentido, ¿qué es lo que estudiaron en el trabajo?

En este estudio se ha llevado a cabo un análisis de la microbiota fecal de niños prematuros, por diferentes técnicas independientes de cultivo durante los tres primeros meses de vida y se ha visto una serie de alteraciones respecto a los TLM, que han marcado objetivos de modulación por la acción probiótica. Posteriormente, se probaron 16 cepas de Bifidobacterium en un modelo de cultivo en discontinuo para determinar su capacidad de contrarrestar dichas alteraciones.

¿Qué resultados destacaría?

Tres cepas de *B. bifidum* aisladas de heces de niños y dos cepas de *B. breve* aisladas de leche materna, proporcionaron los cambios más favorables tanto en las poblaciones microbianas como en el perfil de ácidos grasos de cadena corta analizados.

¿Estos datos qué suponen?

Dichas cepas pueden ser claras candidatas para continuar con su estudio en modelos más complejos con el fin de incluirlas en leches de fórmula para niños prematuros.

¿Sugieren alguna aplicación futura?

Nuestros resultados sugieren que el estrés oxidativo en el intestino inmaduro de los niños prematuros podría constituir también una diana importante para el desarrollo de estrategias de modulación del proceso de establecimiento de la microbiota intestinal en estos niños.



ALFONSO CLEMENTE
Estación Experimental del Zaidín (CSIC),
Granada

La comunicación titulada “The bifidogenic effect of galacto-oligosaccharides in rats is dependent of their structural characteristics” ha sido presentada por Alfonso Clemente, de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC) de Granada. El trabajo también lo firman M.C. Marín Manzano y L.A. Rubio, del mismo centro, además de O. Hernández Hernández y M.L. Sanz, del Instituto de Química Orgánica General, (CSIC) de Madrid, y F.J. Moreno, del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (CSIC-UAM) de Madrid.

Referencias:

1. Hernández-Hernández O, Marín-Manzano MC, Rubio LA, Moreno FJ, Sanz ML, Clemente A. Monomer and linkage type of galacto-oligosaccharides affects their resistance to ileal digestion and prebiotic properties in rats. *J Nutr* 2012; 142: 1232-1239

“El efecto bifidogénico de los galacto-oligosacáridos en ratas depende de sus características estructurales”

¿Cuál era el objetivo de esta investigación?

Se ha llevado a cabo un estudio comparativo que pretendía evaluar la resistencia a la digestión intestinal, capacidad de fermentación y efecto modulador de la microbiota intestinal en el intestino grueso de ratas en desarrollo (5 semanas de edad) a las que se alimentó con nuevos galacto-oligosacáridos (GOS) derivados de lactulosa (GOS-Lu) o galacto-oligosacáridos disponibles en el mercado y derivados de lactosa (GOS-La).

¿Cómo se llevó a cabo?

Las ratas se sometieron a una dieta de control (AIN-93G) o a una dieta experimental con un 1% de GOS-Lu o GOS-La (p/p) durante 14 días.

¿Qué resultados observaron?

El análisis cuantitativo de los oligómeros a partir de muestras de la dieta y del íleon reveló que la fracción de trisacáridos de los GOS-Lu era significativamente más resistente a la digestión intestinal que la de los GOS-La, mientras que la fracción de disacáridos de los GOS-Lu era completamente resistente a las condiciones extremas del tracto gastrointestinal.

¿Qué novedades revelan estos datos?

Las bajas tasas de digestibilidad ileal de los GOS-Lu se atribuyen a la elevada resistencia de las galactosil-fructosas a las enzimas digestivas de los mamíferos, lo que resalta la función primordial que desempeñan la composición de monómeros y los tipos de enlaces presentes en la cadena de oligosacáridos. Los di- y trisacáridos fermentaron por completo en el intestino grueso, lo que permite a ambos GOS contar con una función prebiótica en potencia. De hecho, los nuevos GOS-Lu ejercieron un efecto bifidogénico superior en el intestino grueso que los GOS-La, y los primeros mostraron un incremento significativo y selectivo de *Bifidobacterium animalis*. Además, ambos tipos de GOS mostraron un incremento significativo en las poblaciones de *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* con respecto a la población control.

¿Cuál es la principal conclusión que extraen?

Estos datos apoyan la posibilidad de una relación directa entre las pautas de resistencia a la digestión y las propiedades bifidogénicas de los galacto-oligosacáridos¹.



ALFONSO BENÍTEZ
Centro Superior de Investigación en Salud Pública,
Valencia

La caracterización de Streptococcus anticariensis, un probiótico potencial para la salud bucal en humanos centró la intervención de Alfonso Benítez, investigador del Laboratorio de Microbioma Oral de la Unidad de Genómica y Salud del Centro Superior de Investigación en Salud Pública de Valencia. Junto a él han participado en el estudio Pedro Belda, Raúl Cabrera, Anny Camelo, María D. Ferrer y Alex Mira, todos del mismo centro.

“Descrita una nueva especie del probiótico streptococcus con posible acción anticaries”

¿Cómo surgió esta investigación y cuál es su novedad?

Mediante el uso de tecnologías de secuenciación de ADN de próxima generación y técnicas microbiológicas convencionales, en el grupo hemos podido describir una amplia gama de organismos bacterianos que habitan la cavidad bucal en pacientes sanos y enfermos. Como consecuencia, aislamos una nueva especie de streptococcus a partir de individuos sanos que muestra una actividad probiótica potencial al inhibir de forma específica el desarrollo del streptococcus mutans, un elemento fundamental en el desarrollo de la caries.

¿Cómo lo llevaron a cabo?

Empleamos diferentes pruebas para una caracterización en profundidad de este nuevo probiótico a nivel bioquímico, fisiológico y genético. Como resultado, hemos conseguido la secuenciación completa del genoma de las cepas de streptococcus 7747 y 7746. Un análisis filogenético del ADNr 16S y 23S junto con una prueba bioquímica API y comparaciones del genoma completo mostraron que pertenecen al grupo Viridans pero constituyen una nueva especie, cuyo nombre propuesto es Streptococcus anticariensis.

¿Qué características presenta esta nueva especie?

La comparación basada en secuencias con cientos de metagenomas del Proyecto del Microbioma Oral (HOMDB) muestra que el Streptococcus anticariensis es una bacteria indígena presente en la cavidad bucal sana y que en su genoma no se codifica ningún factor de virulencia. El Streptococcus anticariensis en un modelo de boca artificial mostró una reducción en la producción de ácido al disminuir las proporciones de bacterias acidogénicas.

¿Qué suponen estos datos?

El fenotipo lactosa positiva hace del S. anticariensis un buen candidato para su difusión a través de la manufactura de productos lácteos. Las pruebas para caracterizar la actividad inhibidora del S. mutans a partir de las cepas 7746 y 7747 indican que dicha inhibición sólo tiene lugar en la fase estacionaria gracias a una molécula de dimensiones inferiores a 3kDa. En la actualidad proseguimos con la caracterización de la inhibición a través de análisis mediante cromatografía líquida y espectrometría de masas.



TOMÁS GARCÍA

Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (CSIC-UAM), Madrid

El “Empleo de la técnica MALDI-TOF/TOF para la identificación taxonómica bacteriana y la diferenciación de cepas productoras de bacteriocinas” centró la intervención de Tomás García, del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM). Este trabajo también lo firman los investigadores del mismo centro M. C. Martínez-Cuesta, E. Barroso, I. Bustos, C. Peláez y T. Requena.

“La técnica MALDI-TOF/TOF es útil para evaluar el potencial beneficioso de bacterias probióticas”

¿Por qué plantearon esta investigación sobre la técnica MALDI-TOF/TOF?

La identificación taxonómica bacteriana basada en el perfil peptídico obtenido mediante espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF es un método extremadamente rápido, sencillo y fiable, en comparación con otros métodos microbiológicos utilizados. Este método puede diferenciar más allá del nivel de especie, pudiéndose caracterizar las cepas a nivel de funcionalidad.

¿Qué objetivo se proponían?

Con objeto de validar y completar las identificaciones taxonómicas de nuestra colección de bacterias lácticas se utilizó la técnica MALDI-TOF/TOF empleando el programa de análisis Biotyper. Además, se empleó esta técnica para detectar en las cepas identificadas características probióticas de interés, como la producción de bacteriocinas.

¿Qué observaciones destacan de este análisis?

Entre las cepas analizadas, los géneros mayoritarios identificados fueron *Lactobacillus* y *Lactococcus*. La correlación entre la identificación taxonómica mediante técnicas microbiológicas y bioquímicas y la técnica MALDI-TOF/TOF fue variable, dependiendo del grado de caracterización previo de las cepas. Asimismo, la fiabilidad de esta técnica para la identificación taxonómica a nivel de especie fue equivalente a la obtenida por secuenciación del gen 16sRNA. Por otro lado, se compararon los espectros peptídicos obtenidos entre cepas isogénicas de *Lactococcus lactis* que se diferencian en la capacidad de producir la lactiocina 3147.

¿Cuáles fueron los principales resultados?

La aparición de dos picos en los espectros de masa molecular 2850 Da y 3300 Da nos permitió detectar la producción de esta bacteriocina por las cepas analizadas. Los resultados obtenidos demuestran la utilidad de la técnica MALDI-TOF/TOF no sólo para la identificación taxonómica sino para facilitar la evaluación del potencial beneficioso de bacterias probióticas.



MIGUEL GUEIMONDE
Instituto de Productos Lácteos de Asturias
(IPLA-CSIC)

Dentro de la Sesión de Microbiología el investigador del Instituto de Productos Lácteos de Asturias (CSIC), Miguel Gueimonde, ha presentado un trabajo sobre la relación entre los resultados metagenómicos de la microbiota fecal y la población real de microorganismos. Esta investigación ha contado con la participación de otros expertos del mismo centro como A. Hevia, B. Sánchez y A. Margolles. Además entre los firmantes están E. Foroni, F. Bottacini, C. Milani y M. Ventura, del Laboratorio de Probiogenómica de la Universidad de Parma (Italia), y R. Martín, investigadora del Instituto Nacional de Investigación Agronómica (INRA) de Francia.

“Hay desviaciones entre los resultados de análisis metagenómicos de la microbiota fecal y la población real de microorganismos en heces”

¿Cuál era el objetivo de esta investigación?

El presente estudio se planteó con objeto de comprobar si los resultados que se obtienen por técnicas metagenómicas reflejan la población real de microorganismos en heces.

¿Cómo se llevó a cabo?

Para ello, se contaminaron heces de ratas libres de gérmenes con una mezcla de bacterias Gram positivas y Gram negativas, y con una arquea. Dicha mezcla incluyó cantidades conocidas de 10 cepas de las siguientes especies: *Bifidobacterium longum*, *Collinsella intestinalis*, *Blautia coccooides*, *Ruminococcus productus*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli*, *Prevotella copri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacteroides thetaiotaomicron* y *Methanobrevibacter smithii*.

¿Qué método de análisis emplearon?

Se utilizaron cuatro métodos diferentes de extracción de ADN de heces, basados en kits comerciales. Las muestras de ADN se emplearon para obtener amplificaciones del gen del ARNr 16S y los amplicones se secuenciaron utilizando un secuenciador Ion PGM.

¿Qué resultados obtuvieron?

Los resultados obtenidos indican que algunas especies, como *F. prausnitzii*, *C. intestinalis* y *B. thetaiotaomicron*, se sobrestiman en este tipo de análisis, mientras que la proporción de otras, como *B. longum*, es mucho menor que la proporción real. Por otra parte, observamos que un tratamiento enzimático previo a la lisis de los microorganismos incrementa significativamente la proporción de bacterias Gram positivas, pero empeora la representatividad de los resultados obtenidos.

¿Qué conclusión extraen de estos datos?

Este estudio nos permite concluir que los análisis metagenómicos de la microbiota fecal generan resultados que presentan desviaciones muy importantes con respecto a la población real de los microorganismos presentes en heces.



GASPAR PÉREZ
Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos.
Instituto de Agroquímica y Tecnología
de Alimentos (CSIC), Valencia

Las comunicaciones orales de la Sesión de Microbiología concluyeron con la presentación de un trabajo sobre la proteinasa de pared celular de lactobacilos como factor de supervivencia con actividad antiinflamatoria. Gaspar Pérez, del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), fue el encargado de exponer esta investigación en la que también han participado C. Bäuerl, J. M. Coll Marqués, V. Monedero y M. Zúñiga, del mismo centro español, además de G. Hörmannspurger y D. Haller, de la Universidad de Munich (Alemania).

“La proteinasa de pared celular de lactobacilos es un factor de supervivencia con actividad antiinflamatoria”

¿En qué contexto se enmarca esta investigación?

Los probióticos encuentran en el hábitat intestinal una intensa competencia de otros microorganismos además de enfrentarse a un arsenal de proteínas con actividad antibacteriana secretadas por la mucosa como respuesta a estímulos proinflamatorios.

Al respecto, ¿qué datos existían ya y qué novedades perseguían con este trabajo?

Recientemente habíamos demostrado que las proteinasas de pared contribuyen a explicar el efecto probiótico antiinflamatorio de ciertos Lactobacilos. Aquí, se comparábamos la actividad proteolítica de diversas cepas de *Lactobacillus casei/paracasei*, *L. bulgaricus*, así como un probiótico comercial (VSL#3) y cepas de *L.paracasei* con gran actividad proteolítica o en las que se ha inactivado el gen prtP.

¿Qué resultados obtuvieron?

Los resultados confirman que la actividad de la proteinasa PrtP se correlaciona con la capacidad de la cepa para inactivar la quimioquina proinflamatoria IP10 en cultivos celulares. Además, el análisis del genoma de diversas cepas de *L. casei/paracasei* ha mostrado que esta especie también codifica dos proteinasas más de la misma familia, prtR1 y prtR2, si bien se expresan con menor intensidad.

¿Qué supone esto?

Que los lactobacilos probióticos intestinales al hidrolizar citoquinas proinflamatorias por la acción de la proteinasa PrtP, de una parte mejoran sus posibilidades de supervivencia evitando la inducción de síntesis de proteínas con actividad antibacteriana en el epitelio, al tiempo que ejercen un claro efecto antiinflamatorio sobre el huésped.



EDUARDO SCHIFFRIN
Nestlé Research Center. Lausanne, Suiza

La Sesión de Inmunología se abrió con la conferencia de Eduardo Schiffrin, del Centro de Investigación Nestlé de Lausanne (Suiza), que habló sobre “Probióticos (microbiota) e inmunidad: De los modelos reduccionistas a la complejidad de la fisiología y patofisiología humanas”. Tras un amplio repaso a los mecanismos moleculares involucrados en la relación de microbiota y sistema inmune, y el estado de la investigación al respecto, Schiffrin destacó que el dinamismo en este campo obliga a investigar el diseño de estrategias para manipular la microbiota y alcanzar beneficios para la salud. “En este contexto en constante evolución, debemos averiguar cómo seguir adelante, pero este reto habremos de discutirlo dentro de algunos años”, apuntó.

“En un contexto en constante evolución, debemos seguir investigando el diseño de estrategias para manipular la microbiota y alcanzar beneficios para la salud”

Como introducción y antecedentes, ¿en qué contexto se enmarcan sus investigaciones?

El reto que se nos presenta es cómo manejar los enormes progresos alcanzados en los últimos años en dos áreas científicas que se solapan: la inmunología general y de las mucosas, por una parte, y el análisis genético de la microbiota intestinal humana (metagenoma, enterotipos, composición de microbiota y enfermedades...). Este cruce entre ambos campos nos permite comprender las relaciones entre la microbiota y el sistema inmune del huésped y pasar de un enfoque fenomenológico a uno de comprensión mecánica.

¿Cómo se puede hacer el mejor uso posible de este conocimiento para lograr beneficios para la salud?

El reto es unir las complejas condiciones fisiológicas y patofisiológicas subyacentes en el ser humano con los posibles mecanismos multifactoriales de acción de la microbiota o los probióticos en el huésped. Para ello contamos con dos estrategias principales de intervención para obtener beneficios para la salud: unas alteraciones adecuadas de la disbiosis o el uso de alimentos fermentados, cultivos bacterianos, moléculas derivadas de bacterias y basadas en actividades biológicas (principalmente inmunes) previamente caracterizadas en modelos preclínicos.

¿Qué dificultades presenta este reto?

Desafortunadamente, los modelos experimentales sólo representan una cantidad limitada de características de la naturaleza compleja y de múltiples facetas de las características fisiológicas inmunes del ser humano o de sus enfermedades.

¿De qué tipo de interacciones microbiota-sistema inmune se puede hablar?

Las muchas caras de las interacciones de la microbiota con el sistema inmune, se pueden dividir en dos grandes grupos: las innatas y las adaptativas. En la primera de estas categorías se encuentran las actividades bacterianas sobre las células epiteliales intestinales y otros tipos celulares con inmunidad innata, la mejora de la función de barrera (en aspectos como la muco-

sa, la secreción de cloruro o la expresión de moléculas relacionadas con la unión estrecha), el desarrollo celular epitelial, la proliferación, activación y producción de factores citoprotectores (TFF, HSP...), la estimulación de péptidos antimicrobianos (defensinas, catelicidinas, RegIII-gamma) y la modulación de la reacción inflamatoria del huésped y el efecto directo en otros tipos celulares inmunes como las células presentadoras de antígeno, las células NK, NKT o células inductoras del tejido linfoide.

¿Y en la segunda?

En la segunda categoría, la de las interacciones adaptativas, se encuentra la producción de IgA secretora. Por otra parte, las células dendríticas influyen en el desarrollo de algunos subgrupos de células T como las células T reguladoras (algunos elementos de la microbiota inducen de forma selectiva la generación de células T reguladoras CD4+ y Foxp3, así como PSA de *B. fragilis*). Asimismo, otra respuesta adaptativa es el desarrollo de células T Th17 y la producción de IL-17 (bacterias filamentosas segmentadas, funciones efectoras innatas y adaptativas).

¿Este tipo de relaciones qué pone de manifiesto?

Que las interacciones de la microbiota o los probióticos con las células inmunes de la mucosa pueden tener lugar con las células de la capa mucosa y las epiteliales, con células inmunes profesionales, a través de interacciones locales de la mucosa o de la modulación sistémica inmune por parte de la microbiota.

¿Puede citar algún estudio o resultados al respecto?

Un estudio fenomenológico de 1997 mostró cómo aumentaba la actividad fagocitaria en la sangre periférica de un grupo de voluntarios que recibieron suplementos alimenticios de leche fermentada con *Lactobacillus johnsonii*. Un estudio de 2010 demostraba cómo la microbiota potencia la inmunidad innata sistémica para facilitar una respuesta más rápida ante las infecciones.

Por otra parte, en un trabajo de 2008 con personas mayores que recibieron suplementos de yogur probiótico se comprobó que el tratamiento no afecta a la permeabilidad intestinal y reduce los niveles de endotoxinas plasmáticas y de actividad fagocitaria basal de los leucocitos. Sin embargo, la exposición a monocitos y neutrófilos *ex vivo* condujo a una mayor respuesta de las citoquinas en los pacientes con resultados positivos en la prueba de hidrógeno en el aliento y a una mayor respuesta de los radicales libres en los pacientes que mostraban resultados negativos para esa misma prueba.

¿Qué otras evidencias se están observando en esta línea en los últimos años?

En diferentes artículos publicados en los últimos años se puede comprobar cómo existe una interrelación entre la microbiota y el

sistema inmune, de forma que por una parte el sistema inmune controla la microbiota intestinal del huésped, pero también la microbiota da forma a la respuesta inmune del huésped, particularmente en períodos concretos como el neonatal, tal y como se ha demostrado en modelos con ratones. Por ejemplo, un artículo del año 2005 sobre recién nacidos sin rotavirus y con diarrea acuosa aguda que recibieron tratamiento con *Lactobacillus paracasei ST11* demostró un efecto significativamente positivo en la afección diarreica.

¿Falta mucho por conocer sobre los mecanismos moleculares implicados en estos efectos?

Otro de los campos principales en los que se está progresando en el estudio de estas interacciones es el de los cimientos moleculares que las sustentan, por ejemplo, en el epitelio intestinal, cuyas células responden rápidamente a la estimulación bacteriana en el período neonatal, en el que existe un reconocimiento innato de bacterias en la leche materna mediado por un receptor derivado de la propia leche. En esa misma leche existen formas solubles de receptores de tipo Toll capaces de modular su propia señalización.

En cuanto a la adquisición postnatal de tolerancia a las toxinas en las células epiteliales del intestino, la activación epitelial intestinal tiene lugar *in vivo* inmediatamente después del nacimiento. Dicha activación depende de la exposición de una serie de ligandos microbianos exógenos a los receptores de reconocimiento de patrones, y se controla a través de la disminución en la fase de post-transcripción de la quinasa 1 asociada al receptor IL-1.

¿Puede citar algún resultado reciente en esta línea?

En modelos en ratones se ha comprobado como la microbiota comensal induce la expresión de diferentes receptores tipo Toll, y que los ratones libres de gérmenes son más susceptibles a las infecciones. Estos receptores perciben las agresiones al intestino y limitan la extensión del daño, lo cual trae consigo una menor apoptosis, una modulación del daño inflamatorio y una mayor proliferación. Existen pruebas experimentales de que la activación de receptores tipo Toll 2 refuerza las proteínas de unión estrecha.

¿Cuál es el papel de las células dendríticas?

Estas desempeñan una función primordial en la regulación inmune del intestino, pues cuentan con la capacidad de percibir las "señales de peligro" del entorno. La expansión de células T reguladoras depende de que las células dendríticas se encuentren en un estado funcional concreto que depende de la presencia del factor de crecimiento transformante (TGF)-beta1 en el microentorno de las células. El ácido retinoico potencia las actividades de este factor, así como la expresión del FOXP3 y la expansión de las células T reguladoras. Sin embargo, existen factores ambientales que pueden alterar el condicionamiento de las células dendríticas e iniciar una respuesta inmune anor-

mal. En todos estos procesos, las células dendríticas son la pieza clave en la toma de decisiones, y son capaces de desarrollar mecanismos de defensa fisiológica frente a ataques externos.

En resumen, ¿qué mecanismos destacan en la homeostasis entre el sistema inmune de la mucosa y la microbiota?

Existen varios, como son una menor expresión de receptores de tipo Toll en la membrana superficial de las células centinelas, la expresión de supresores de señal intracelulares de etapas posteriores, la expresión del receptor PPAR- γ , el desacoplamiento del factor NF- κ B de los genes a los que se dirige, la inhibición de la degradación del I κ B y la prevención de la translocación del factor NF- κ B al núcleo o la actuación de los mediadores inmunes extracelulares. Las bacterias comensales contribuyen a la homeostasis inmune intestinal local. La homeostasis inmune sistémica también se ve afectada, por su parte, por la microbiota.

¿Qué conclusiones le gustaría destacar?

Que en la práctica médica actual, la microbiota no es en absoluto un objetivo de la investigación terapéutica. Nos encontramos en una situación dinámica en la que debemos investigar en el diseño de estrategias para manipular la microbiota y alcanzar beneficios para la salud. En este contexto en constante evolución, debemos averiguar cómo seguir adelante, pero este reto habremos de discutirlo dentro de algunos años.



MALEN MASSOT

Departamento de Fisiología, Facultad de Farmacia,
Universidad de Barcelona

Las comunicaciones orales de la Sesión de Inmunología comenzaron con la intervención de Malen Massot, del Departamento de Fisiología de la Universidad de Barcelona, que presentó un trabajo sobre la influencia de diferentes fuentes de polifenoles del cacao en la microbiota intestinal y la IgA de ratas Wistar. La investigación también la firman S. Torres, M. Abril Gil, T. Pérez Berezo, A. Franch, M. Castell y F.J. Pérez Cano, investigadores del mismo centro.

Referencias:

1. Massot-Cladera M, et al. Cocoa modulatory effect on rat faecal microbiota and colonic crosstalk. Arch Biochem Biophys 2012; 15: 105-112.
2. Pérez-Berezo T, et al. Cocoa-enriched diets modulate intestinal and systemic humoral immune response in young adult rats. Mol Nutr Food Res 2011; 55S: 56-66.

“Una dieta rica en polifenoles del cacao modifica la microbiota intestinal y la IgA en ratas”

¿En qué contexto se enmarca esta investigación?

Estudios anteriores llevados a cabo en nuestro laboratorio mostraron que una dieta de cacao al 10% con un 0,2% (p/p) de polifenoles era capaz de afectar al crecimiento de algunas especies bacterianas de la microbiota intestinal¹ y reducir la síntesis de inmunoglobulinas intestinales².

¿Qué novedad planteaba este trabajo?

El objetivo del presente estudio era determinar si este efecto modulador podía atribuirse a los flavonoides o a otros compuestos presentes en el cacao, como la fibra.

¿Cómo lo llevaron a cabo?

Para ello, empleamos diferentes fuentes de cacao con distinta composición de flavonoides y fibra. De forma resumida, las ratas Wistar se alimentaron con una dieta estándar que contenía un 0,2% de polifenoles del cacao obtenidos de cacao desgrasado (Nutrexpa SL) o bien con una dieta que contenía un 0,4% o un 0,8% de polifenoles del cacao obtenidos de cacao no fermentado (Natraceutical Group) durante cuatro semanas.

¿Qué variables se midieron?

La IgA intestinal se cuantificó por la técnica de ELISA y la composición de la microbiota fecal se estableció mediante de FISH utilizando sondas específicas dirigidas al RNAr de la subunidad 16S de los principales grupos bacterianos en rata y su posterior análisis por citometría de flujo.

¿Cuáles fueron los resultados observados?

Todas las dietas enriquecidas con polifenoles del cacao atenuaron la producción de IgA intestinal y el porcentaje de bacterias unidas a IgA. Además, modificaron la composición de la microbiota intestinal a través de la reducción en la proporción de los grupos de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *E. Coli* y al evitar el incremento en el porcentaje de *Bacteroides*, *Streptococcus* y *Staphylococcus* asociado a la edad. Todos estos efectos fueron independientes de la dosis de flavonoides porque la ingesta de una dieta con un 0,2% de polifenoles (alta en fibra) del cacao desgrasado y de una dieta con un 0,8% de polifenoles del cacao no fermentado (baja en fibra) fueron las más eficaces.

¿Qué sugiere esto?

Que aunque estos efectos se atribuyen principalmente a los polifenoles presentes en el cacao, puede que otros ingredientes del cacao, como la fibra o las metilxantinas estén desarrollando alguna función en el proceso.



REBECA MARTÍN
Instituto MICALIS, INRA de Jouy en Josas,
Francia

*Rebeca Martín, del Instituto MICALIS, INRA de Jouy en Josas (Francia), ha presentado una comunicación sobre el impacto de la bacteria comensal *Faecalibacterium prausnitzii* en un modelo murino de inflamación inactiva. En este trabajo también han participado F. Chain, J.J. Gratadoux, H. Sokol, P. Langella, L.G. Bermudez Humaran, del mismo centro francés, además de J. Lu, J. Jury, E. Verdu y P. Bercik, de la Universidad McMaster de Ontario (Canadá). Algunos de estos investigadores también pertenecen al Departamento de Gastroenterología y Nutrición del Hospital Saint-Antoine de París.*

Referencias:

1. Ford et Talley. J gastroenterol. 2011; 46(4):421-31
2. Rajilic-Stojanovic et al. Gastroenterology. 2011; 11(5):1792-801
3. Sokol et al. PNAS USA. 2008;105(43):16731-6.

“Nuevos datos confirman el alto potencial de *F. prausnitzii* para prevenir y tratar a pacientes con SII”

¿Cuál es el origen de este trabajo?

El síndrome de intestino irritable (SII) es una enfermedad caracterizada por el dolor abdominal crónico, malestar, hinchazón y una inflamación intestinal de baja intensidad (1). Aunque su etiología es diversa, el desarrollo de modelos animales más realistas y de lecturas reproducibles todavía es necesario para imitar y estudiar mejor esta alteración. El hecho de que se haya observado una reducción en la abundancia y biodiversidad de la bacteria comensal *Faecalibacterium prausnitzii* en los pacientes con SII (2), unido a su función protectora en el modelo de colitis aguda químicamente inducida (3) nos llevó a desarrollar un nuevo modelo de inflamación de baja intensidad para evaluar sus propiedades.

¿Qué estudiaron concretamente?

En este estudio reproducimos los períodos de recuperación y recaída observados en pacientes con SII en un nuevo modelo crónico caracterizado por dos episodios de provocación con ácido dinitrobenzenosulfónico (DNBS).

¿Cómo lo llevaron a cabo?

Pusimos a prueba los efectos de nuestra cepa modelo de *F. prausnitzii* A2-165 y de su supernatante y los comparamos con los de una cepa recombinante de *Lactococcus lactis* que segrega interleucina-10 antiinflamatoria y biológicamente activa.

¿Qué resultados observaron?

No se vieron diferencias estadísticamente significativas en los resultados macroscópicos o microscópicos ni en la actividad de la mieloperoxidasa entre los ratones tratados con DNBS y los no tratados, lo que valida la clasificación de nuestro modelo como de inflamación de baja intensidad. Por último, se midieron los niveles de serotonina del colon, los perfiles de citoquinas y la permeabilidad intestinal in vivo y ex vivo como parámetros de microinflamación.

¿Alguna conclusión más?

Resulta interesante señalar cómo se observó un significativo efecto de protección en términos de permeabilidad, activación inmune y parámetros de la función intestinal en los animales tratados tanto con *F. prausnitzii* como con su supernatante.

¿Qué suponen estos datos?

Estos resultados confirman el alto potencial del *F. prausnitzii* como nuevo probiótico para prevenir y tratar a pacientes con SII.



ANNA OTAL
Instituto de Investigación del
Hospital Universitario Vall d'Hebron,
Barcelona

La “Akkermansia muciniphila como factor regulador de la homeostasis en la mucosa intestinal humana” centró la intervención de Anna Otal, de la Unidad de Investigación de Aparato Digestivo del Instituto de Investigación del Hospital Universitario Vall d'Hebron (Barcelona). Este trabajo también ha contado con la participación de M. Llopis, E. Varela, R. Casillas, M. Casellas, M. Gallart, F. Guarner y M. Antolín, de la misma unidad, además de M. Martí y E. Espín, del Servicio de Cirugía del Hospital Universitario Vall d'Hebron (Barcelona).

“Akkermansia muciniphila puede tener una función reguladora intestinal favoreciendo la secreción de IL-10”

¿En qué contexto se enmarca esta investigación?

La microbiota intestinal juega un papel esencial en la homeostasis intestinal. Akkermansia muciniphila es una bacteria que degrada mucinas, que se encuentra en elevada proporción en el intestino humano y cuya presencia está disminuida en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII).

En este sentido, ¿cuál era el objetivo del trabajo?

Estudiar el potencial de la cepa bacteriana comensal Akkermansia muciniphila en la modulación de la secreción de citoquinas en mucosa intestinal de pacientes con EII.

¿Cómo se llevó a cabo?

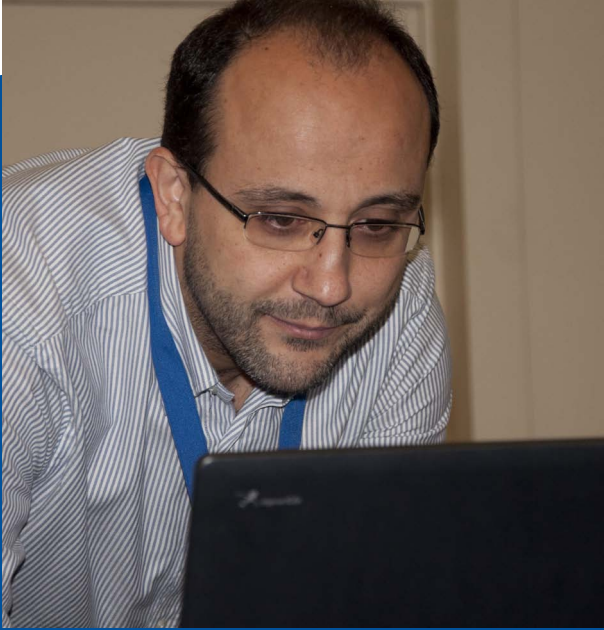
Como materiales y método utilizamos explantes de mucosa intestinal inflamada (20-30 mg) procedentes de resección quirúrgica de 18 pacientes con EII (4 colitis ulcerosa y 14 con enfermedad de Crohn), que fueron incubados 4 horas sin bacterias (control) o con Akkermansia muciniphila (Akk) sonicada en dosis equivalente a 10^6 CFU/mL. Se monitorizó la viabilidad tisular y el pH del medio y se determinaron las citoquinas IL-10, IL-12, TNF- α , IL-1 e IL-6 en sobrenadante al final del cultivo (Milliplex MAP Human High Sensitivity Cytokine).

¿Qué resultados obtuvieron?

La viabilidad tisular (80-90%) y el pH (7.5 ± 0.1) se mantuvieron estables durante el cultivo. La incubación del tejido inflamado con Akk no modificó la secreción de las citoquinas proinflamatorias TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-12. Sin embargo, Akk aumentó significativamente la secreción de la citoquina reguladora IL-10 respecto a la condición control (183 ± 29 pg/mL vs. 140 ± 21 pg/mL, $p=0,011$) así como el ratio IL-10/IL-12 (41 ± 16 vs. 15 ± 5 pg/mL, $p=0,018$).

Según esto, ¿cuál es la principal conclusión?

La pérdida de Akkermansia muciniphila en la microbiota humana puede estar asociada a una falta de modulación del Sistema Inmune intestinal. Akk puede tener una función reguladora intestinal favoreciendo la secreción de IL-10.



ÓSCAR PALOMARES

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular,
Facultad de Ciencias Químicas,
Universidad Complutense de Madrid

En el campo de las alergias, Óscar Palomares, del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, ha presentado el trabajo titulado “Propiedades antiinflamatorias (IL-10) e inducción de respuestas adaptativas de tipo Th1 de las cepas bacterianas Bifidobacterium animalis subsp. lactis BS 01 (LMG P-21384) y Lactobacillus rhamnosus LR 05 (DSM 19739)”. En él también ha participado S. Nicola, del Departamento de Inmunología y Citofluorimetría de Biolab Research S.r.l (Novara, Italia).

“Las propiedades de las cepas probióticas BS 01 y LR 05 sugieren su utilización terapéutica en alergias”

¿Cuál es el contexto de este estudio?

La alergia es una enfermedad mediada por linfocitos Th2 caracterizada por la producción de IgE frente a sustancias inocuas denominadas alérgenos. Diversos estudios demuestran la utilización beneficiosa de probióticos en prevención y tratamiento de la alergia, pero los mecanismos inmunológicos implicados no están totalmente dilucidados.

En este sentido, ¿qué se proponían?

El objetivo de este trabajo es estudiar las respuestas inmunitarias in vitro que las cepas bacterianas probióticas Bifidobacterium animalis subsp. lactis BS 01 y Lactobacillus rhamnosus LR 05 inducen en células sanguíneas periféricas mononucleares (PBMC).

¿Y qué observaciones destacaría?

Las cepas probióticas BS 01 y LR 05 inducen proliferación de PBMC modificando significativamente el porcentaje de células del sistema inmune innato y adaptativo. BS 01 y LR 05 inducen un descenso significativo del porcentaje de monocitos CD14+ y un aumento significativo del porcentaje de células CD16+/CD56+ y células dendríticas Lin-/HLA-DR+ en PBMC. BS 01 aumenta significativamente el porcentaje de células T CD4+/CD25+ sin alterar el porcentaje de células T CD3+/CD4+, CD3+/CD8+ o células B CD19+/CD20+. LR 05 incrementa el porcentaje de células T CD3+/CD4+, CD4+/CD25+ y células B. Ambas cepas inducen la producción de IL-12p70 e IL-10 con clara predominancia de la citoquina inmunoreguladora IL-10. Además, se observa un incremento en citoquinas Th1 (IFN- γ) y Th2 (IL-4) con claro predominio de respuestas Th1.

Estos datos, ¿qué suponen?

En resumen, este trabajo demuestra que las cepas probióticas Bifidobacterium animalis subsp. lactis BS 01 y Lactobacillus rhamnosus LR 05 presentan propiedades antiinflamatorias e inmunoreguladoras que favorecen la generación de respuestas de tipo Th1, lo que sugiere su utilización terapéutica para el tratamiento de la alergia.



ALBA RODRÍGUEZ
 Departamento de Farmacología,
 Centro de Investigación Biomédica,
 Universidad de Granada

Alba Rodríguez, del Departamento de Farmacología del Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada, ha presentado un estudio comparativo sobre los efectos inmunomoduladores in vitro de los probióticos Lactobacillus fermentum CECT5716 y Enterococcus faecalis UGRA10. En esta investigación también han participado, A. Rodríguez Nogales A, F. Algieri, T. Vezza, N. Garrido Mesa, M^a. E. Rodríguez Cabezas, M.P. Utrilla, A. Zarzuelo y J. Gálvez, del mismo Departamento. El resto de firmantes son: M. Comalada, del Instituto de Investigación en Biomedicina de Barcelona; M. Martín Bueno, E. Valdivia y M. Maqueda, del Departamento de Microbiología de la Universidad de Granada, además de M. Olivares, de Biosearch.

“Comparación in vitro de los efectos inmunomoduladores de Lactobacillus fermentum CECT5716 y Enterococcus faecalis UGRA10”

¿Por qué surge esta investigación?

Se ha demostrado que los probióticos ejercen un efecto beneficioso debido a sus propiedades inmunomoduladoras. El objetivo del presente estudio era comparar los efectos in vitro de dos probióticos Lactobacillus fermentum CECT5716 y Enterococcus faecalis UGRA10 (vivos o muertos) en dos tipos celulares diferentes e involucrados en la respuesta inmune: células Caco-2 (células epiteliales del intestino) y células RAW 264.7 (macrófagos). Además, investigamos los efectos de estos probióticos en las vías de señalización asociadas con las proteína-quinasas activadas por mitógenos (MAPK) en las células Caco-2.

¿Qué método utilizaron?

Las células se incubaron durante 3 horas con cada uno de los probióticos (vivo o muerto) (108 UFC/ml) y se estimularon con LPS (100 ng/ml) o con IL-1 β (1 ng/ml) durante 30 minutos (Western blot) o durante 24 horas (IL-8 o determinación de nitrato). Los Western blot se llevaron a cabo con extractos de proteína para analizar las formas fosforiladas o totales de la p38 MAPK, p42/44 ERK o SAPK/JNK.

¿Cuáles fueron los resultados?

Tanto el Lactobacillus fermentum CECT5716 como el Enterococcus faecalis UGRA10, vivos o muertos, inhibieron la producción estimulada del IL-8 (células Caco-2) y el óxido nítrico (células RAW 264.7) de forma similar. En las células epiteliales, este efecto inhibitorio se asoció con un descenso en la fosforilación de las p42/44 ERK y SAPK/JNK en comparación con las células estimuladas sin probióticos.

¿Qué conclusiones destacan?

En conclusión, la viabilidad del Lactobacillus fermentum CECT5716 o del Enterococcus faecalis UGRA10 en la regulación a la baja de la respuesta inmune estimulada no es esencial y, al menos en las células Caco-2, se obtiene a través de la inhibición de las rutas de las MAPK en ambos probióticos.



ALFONSO RUÍZ-BRAVO
Departamento de Microbiología,
Universidad de Granada

*La capacidad de *Lactobacillus plantarum* C4 para inhibir la respuesta de citoquinas proinflamatorias inducida por bacterias patógenas en macrófagos murinos por un mecanismo independiente de la interleuquina 10 ha centrado el trabajo presentado por Alfonso Ruíz-Bravo, del Departamento de Microbiología de la Universidad de Granada. En la investigación han participado otros investigadores de la misma Universidad, M. Jiménez Valera, E. Moreno, M^a. D. Ruíz López, T. Bergillo Meca y M. Moreno Montoro, así como A. Lasserrot, de Biotmicrogen S.L.*

“La acción antiinflamatoria de C4 no parece mediada por la inducción de IL-10”

¿Por qué surge esta investigación?

En estudios previos, la cepa C4 de *Lactobacillus plantarum* ha mostrado capacidad para inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias en ratones infectados experimentalmente con *Listeria monocytogenes*.

¿Cuál era su finalidad principal?

El objetivo de este trabajo era investigar la influencia de C4 en la respuesta de los macrófagos murinos RAW 264.7 a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas potencialmente enteropatógenas.

¿Cómo se llevó a cabo el trabajo?

Monocapas de células RAW se incubaron durante 4 horas con suspensiones de *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium y *Listeria monocytogenes*, a una concentración final de 10^6 bacterias viables por ml. La concentración de citoquinas en los sobrenadantes de los cultivos se determinó mediante inmunoensayos comerciales.

¿Qué observaron?

La cepa C4 no indujo producción de las citoquinas proinflamatorias IL-1 α e IL-12. *L. monocytogenes* y *S. typhimurium* indujeron IL-1 α , mientras que *Y. enterocolitica*, *E. coli* y *S. typhimurium* indujeron IL-12. Cuando C4 se incubó conjuntamente con las otras cepas, inhibió la producción de IL-1 α por *L. monocytogenes* y *S. typhimurium*, y de IL-12 por *Y. enterocolitica* y *E. coli*.

¿Qué es lo más llamativo de estos resultados?

Curiosamente, cuando se determinaron los niveles de la citoquina antiinflamatoria IL-10, se observó que C4 no sólo no indujo esta citoquina, sino que inhibió su producción inducida por *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* y *S. typhimurium*. El paralelismo en las determinaciones de IL-1 y de IL-10 no es sorprendente, ya que la expresión de los genes de ambas citoquinas está promovida por factores de transcripción de la misma familia NF- κ B.

¿Cuál es la principal conclusión tras estas comprobaciones?

En conclusión, la acción antiinflamatoria de C4 no parece mediada por la inducción de IL-10.



VIORICA BRANISTE
Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia

La Sesión de Veterinaria se abrió con la conferencia de Viorica Braniste, del Departamento de Microbiología, Cáncer y Biología Celular del Instituto Karolinska de Estocolmo (Suecia), que habló sobre la importancia de la microbiota intestinal en el desarrollo y la función del cerebro. La investigadora, que pertenece al grupo de Sven Pettersson, repasó las interesantes investigaciones en torno a la relación microbiota intestinal y cerebro, destacando datos recientes como los comprobados en estudios con ratones que señalan que el microbioma intestinal modula el comportamiento de los ratones y que los ratones libres de gérmenes presentan una mayor actividad motora y un menor comportamiento relacionado con la ansiedad.

“La microbiota puede regular la permeabilidad de la barrera hematoencefálica”

En su intervención ha comenzado hablando de que los seres humanos no estamos solos...

Sí, los seres humanos no estamos solos, nos encontramos en un estado de co-evolución simbiótica con los microbios, y es necesario tener en cuenta también la perspectiva de estos últimos en lo que hemos dado en llamar el “hologenoma”, el resultado de una selección evolutiva mediante la que compartimos funciones de forma simbiótica para que tanto los microbios como nosotros, los huéspedes, podamos cubrir nuestras necesidades bioquímicas y biológicas. Así, estas relaciones nos permiten mantener una temperatura corporal segura, lograr un almacenamiento eficaz de la energía, controlar la ingesta de alimentos, establecer unos límites de tolerancia entre la microbiota y el sistema inmune de los huéspedes, controlar y afinar la maduración de los órganos e incluso mediar en la planificación reproductiva.

¿Qué tiene de particular la microbiota intestinal para que se hayan centrado en su estudio desde la perspectiva del cerebro?

La composición de la microbiota intestinal se encuentra en constante estado de evolución y cambia a lo largo del tiempo, desde la fase de lactancia a la de vejez, pasando por la pubertad, el embarazo y la menopausia en las mujeres. La primera microbiota comensal se adquiere en el momento del nacimiento, y desde ese momento hay diversos factores que modifican su composición, tales como las terapias antimicrobianas, las infecciones, los hábitos de higiene, el estilo de vida, la dieta y el entorno. La energía necesaria para mantener un estado saludable varía si nuestro sistema inmune se encuentra en un estado alterado, como el causado por una infección, una quemadura o una sepsis. Los receptores nucleares son los responsables de la interacción con la microbiota, y esta a su vez regula la expresión y funcionamiento de algunos receptores, como el PPAR- γ .

¿Cuándo se puede empezar a hablar de implicaciones con el cerebro?

Tres segundos después de nacer comienza la colonización inmediata junto con la maduración de los microbios y los órganos, la remodelación ósea y la conversión del tejido adiposo marrón en tejido adiposo blanco. En este sentido, hay algunas premisas que se dan por supuestas, como el hecho de que los microbios promueven un estado de ansiedad aumentada para incrementar la ingesta de alimentos, y cabe preguntarse si los receptores nucleares son mensajeros secundarios para la señalización microbiana. De ser así, ello supondría un punto de enlace fundamental con la fisiología del huésped.

¿Qué resultados existen sobre la relación microbiota-cerebro?

Se ha comprobado en estudios con ratones cómo el microbioma intestinal modula el comportamiento de los ratones y cómo los ratones libres de gérmenes presentan una mayor actividad motora y un menor comportamiento relacionado con la ansiedad. Los microorganismos/patógenos también pueden lograr la supresión de la actividad en las amígdalas. Un ejemplo es la infección por toxoplasmosis en roedores, que hace que tengan menos temor a los gatos y presenten un comportamiento que a menudo los lleva a ser devorados por estos.

En otro estudio con ratones se ha analizado la posibilidad de que una microbiota intestinal normal module el desarrollo y comportamiento cerebral, así como la hipótesis de que la microbiota de la madre influya en el comportamiento posterior de la prole.

¿Actualmente qué se está estudiando en esta línea?

En la actualidad se estudian los efectos que la microbiota tiene sobre el desarrollo y el comportamiento, y la atención se centra en diferentes partes del cerebro, como el núcleo estriado, responsable del movimiento y las respuestas emocionales; el hipotálamo, que inicia la respuesta del estrés a través de la pituitaria y del sistema nervioso autónomo; el hipocampo, responsable de la memoria y la navegación espacial; o el cuerpo amigdalino, donde se consolida la memoria y opera parte del sistema límbico. En el cuerpo estriado tiene lugar la neurotransmisión de monoaminas, y hay estudios que muestran una mayor tasa de neurotransmisión en el cuerpo estriado de ratones libres de gérmenes. La presencia de microbiota intestinal es capaz incluso de modular las sinapsis del cuerpo estriado.

¿Qué trabajos tienen en marcha en estos momentos?

Las investigaciones actuales en las que trabajamos giran en torno a la pregunta de si el microbioma puede regular la función de la barrera hematoencefálica. Hasta el momento sabemos que el microbioma intestinal se remodela entre el primer y el tercer trimestre del embarazo (el feto crece y cambia la forma de almacenaje de energía en el tejido adiposo), y hemos estudiado en modelos en ratones cómo el microbioma intestinal influye en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. Así, hemos observado cómo esta barrera es más permeable en ratones libres de gérmenes que en ratones convencionalizados cuando la IgG alcanza el núcleo estriado entre los días 16 y 17 de gestación. También se aprecia una mayor permeabilidad en la corteza frontal y el hipocampo de los ratones libres de gérmenes, así como en los ratones libres de patógenos específicos que han sido tratados con TNF- α . Por otra parte, los ratones libres de gérmenes también presentan una menor expresión de proteínas de unión estrecha y la arquitectura de la proteína claudina-5 también está alterada.

¿Qué otros efectos cerebrales han observado?

Los metabolitos microbianos también ejercen su influencia sobre la barrera hematoencefálica. Las bacterias intestinales digieren y fermentan los carbohidratos de la dieta y los convierten en ácidos grasos de cadena corta (butirato, acetato y propionato), que son una fuente de energía para los colonocitos, controlan la maduración de las células epiteliales y refuerzan la función de barrera epitelial mediante la sobreexpresión de proteínas de unión estrecha. En este sentido, existen estudios con bacterias como la *Clostridium tyrobutyricum* que produce principalmente butirato, y reduce la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en ratones libres de gérmenes a la vez que incrementa la expresión de proteínas de unión estrecha.

Como resumen, de esta amplia línea de investigación, ¿qué conclusiones le gustaría destacar?

- La reducción en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en ratones tiene lugar entre los días 16 y 17 de gestación.
- La microbiota puede regular la permeabilidad de la barrera hematoencefálica.
- Nos planteamos la posibilidad de que se trate de un mecanismo activo.
- Los metabolitos bacterianos, tales como los ácidos grasos de cadena corta, modulan la permeabilidad de la barrera hematoencefálica.



SUSANA MARTÍN
Facultad de Veterinaria,
Universidad Autónoma de Barcelona

*Susana Martín, de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona fue la encargada de iniciar las comunicaciones orales de la Sesión de Veterinaria con la presentación del trabajo “Evaluación de la eficacia de un derivado de semilla de garrofa sobre la salud intestinal de lechones desafiados experimentalmente con *Esherichia coli* enterotoxigenica (ETEC) K88”. La investigación está firmada también por A.A. Guerra, G. González Ortiz y J.F. Pérez, investigadores del mismo Grupo de Investigación en Nutrición, Manejo y Bienestar Animal.*

“Un derivado de semilla de garrofa, alternativa natural en la prevención de las diarreas post destete en lechones”

¿Cuál era el objetivo de este trabajo?

El estudio tuvo por objeto evaluar la inclusión en la dieta de un derivado de semilla de garrofa, rico en galactomananos, frente a la infección por ETEC K88 en lechones.

¿Qué muestra y método utilizaron?

Para ello se utilizó un total de 72 animales de 21 días, asignados a una de entre 3 dietas experimentales: basal (CTR), basal con alta dosis de ZnO (3g/kg) como control positivo (ZnO) o 5 g/kg de un derivado de semilla de garrofa (CRB). Tras 7 días, los cerdos fueron desafiados oralmente con ETEC K88 (6×10^9 ufc). Los días 4 y 8 post inoculación se sacrificaron 8 cerdos/tratamiento para el muestreo de sangre para TNF- α y Pig-MAP, tejido de íleon para histología, además de digesta y heces para la determinación de productos de fermentación y microbiología.

¿Qué efectos se observaron?

Tanto el tratamiento ZnO como el CRB redujeron la incidencia de diarreas ($P = 0,05$) y los contajes de enterobacterias en heces y en colon ($P < 0,05$). En colon hubo también un descenso específico de *E. coli* K88 ($P = 0,05$). Ambos tratamientos redujeron los linfocitos intraepiteliales ($P = 0,05$), aumentaron las células caliciformes ($P = 0,04$) y redujeron la concentración plasmática de Pig-MAP ($P = 0,03$). El ZnO incrementó la altura de las vellosidades ($P = 0,01$), mientras que CRB promovió los mayores incrementos en el total de ácidos grasos de cadena corta y de láctico en colon.

¿Cuál es la principal conclusión?

Los resultados demuestran que este derivado de algarroba puede ser una alternativa natural en la prevención de las diarreas post destete.



MARÍA JESÚS PEINADO

Departamento de Fisiología y Bioquímica
de la Nutrición Animal.
Estación Experimental del Zaidín (CSIC),
Granada

María Jesús Peinado, del Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal (INAN, EEZ, CSIC) de Granada, presentó la comunicación titulada “El derivado del ajo PTS-O afecta a la composición de la microbiota intestinal patógena y no patógena y mejora el comportamiento productivo en pollos de engorde en crecimiento. En esta investigación también han participado R. Ruiz, A. Echávarri, I. Aranda Olmedo y L.A. Rubio, del mismo centro.

¿En qué contexto se enmarca esta investigación?

Algunos extractos vegetales han mostrado su potencial para modular la microbiota intestinal y mejorar la eficiencia del comportamiento productivo de los pollos de engorde (Cross et al., 2011).

¿Por qué un estudio sobre el ajo?

Debido a su actividad antimicrobiana, los compuestos derivados del ajo pueden representar una alternativa útil al uso de antibióticos promotores del crecimiento, que actualmente están prohibidos en la UE.

“El derivado del ajo PTS-O modula la composición de la microbiota intestinal y mejora la digestibilidad de nutrientes en pollos”

¿Ya habían observado algún dato al respecto?

Con anterioridad habíamos descrito los efectos antimicrobianos del derivado del ajo propil propano tiosulfonato (PTS-O) contra Enterobacteriaceae, Escherichia coli, Salmonella spp y Campylobacter jejuni tanto in vitro (Ruiz et al., 2010) como en vivo (Peinado et al., 2012).

¿Qué se midió en esta nueva investigación?

En el presente estudio se evaluaron los efectos de la suplementación alimenticia en dos niveles de PTS-O (dieta de 45 y 90 mg/kg, dieta PTS-O-45 y PTS-O-90, respectivamente).

¿Qué resultados observaron?

El peso corporal de los pollos alimentados con la dieta PTS-O-45 fue más alto ($P < 0,05$) que en el grupo control. Aunque el aditivo no mostró un efecto significativo sobre la ingesta de alimento, las aves alimentadas con PTS-O-45 presentaron mejores índices de transformación del alimento ($P < 0,05$) en comparación con las del grupo control en el día 21 de vida. Se determinó una cantidad menor ($P < 0,05$) de copias de Lactobacilli y E. coli con respecto al grupo control en el contenido de los buches de las aves alimentadas con dietas suplementadas con PTS-O, aunque sólo las aves alimentadas con PTS-O-90 presentaron una cantidad menor de copias de Enterobacteriaceae ($P < 0,05$). En los contenidos del íleon, la alimentación con PTS-O-45 tuvo como resultado una menor cantidad de copias de Clostridium coccoides/Eubacterium rectale y Clostridium leptum ($P < 0,05$). La dieta PTS-O-90 dio lugar a una menor cantidad de Enterobacteriaceae y mayor número de Bacteroides y de bacterias totales. Los contenidos del ciego de las aves del grupo PTS-O-90 mostraron menores niveles de copias de E. coli y Bacteroides, mientras que la cantidad de copias de C. coccoides/E. rectale en los pollos del grupo PTS-O-45 también era menor que en el grupo control ($P < 0,05$). Los niveles de digestibilidad fecal de energía, grasa, FDA y FDN fueron mayores ($P < 0,05$) en las aves alimentadas con la dieta PTS-O-90 que en el grupo control.

¿Cuáles son las principales conclusiones de estos datos?

Estos resultados confirman los datos previos y muestran que el PTS-O modula la composición de la microbiota intestinal y mejora el comportamiento productivo y la digestibilidad de nutrientes en los pollos de engorde.

Referencias:

- Cross DE, McDevitt RM, Acamovic T. Herbs, thyme essential oil and condensed tannin extracts as dietary supplements for broilers, and their effects on performance, digestibility, volatile fatty acids and organoleptic properties. Br Poult Sci 2011; 52: 227-237.
- Peinado MJ, Ruiz R, Echávarri A, Rubio LA. Garlic derivative PTS-O is effective against broiler pathogens in vivo. Poult Sci 2012; 91: 2148-2157.
- Ruiz R, García MP, Lara A, Rubio LA. Garlic derivatives (PTS and PTS-O) differently affect the ecology of swine faecal microbiota in vitro. Vet Microb 2010; 144: 110-117.



NELSON PÉREZ

Departamento de Química Analítica y Alimentaria,
Facultad de Ciencias de Ourense,
Universidad de Vigo

Las propiedades, producción y evaluación de cepas potencialmente probióticas en piensos para lechones centraron la comunicación presentada por Nelson Pérez, de la Facultad de Ciencias de Ourense (Universidad de Vigo). El trabajo también lo firman A. Torrado Agrasar y L. Pastrana Castro, del mismo centro. Además también contó con la participación de J. Méndez Batán, de Cooperativas Orensanas Sociedad Cooperativa Ltda. (COREN).

“Los piensos probióticos procedentes de bacterias lácticas influyen en la ganancia de peso y en la reducción de coliformes en lechones”

¿En qué consistía esta investigación?

En el presente trabajo se realizó una evaluación del potencial probiótico de 3 cepas de bacterias lácticas (*Pediococcus acidilactici* NRRL B-5627, *Lactococcus lactis* CECT 539 y *Enterococcus faecium* CECT 410) para ser utilizadas como sustitutos de los antibióticos en piensos para lechones destetados.

¿Cómo se llevó a cabo?

La producción de cultivos altamente concentrados en células viables y metabolitos de la fermentación (ácidos orgánicos, etanol y bacteriocinas) se llevó a cabo en cultivos realimentados y realcalinizados en suero de leche. Tras la obtención y caracterización de los cultivos, se estudió su efectividad sobre los índices productivos (ganancia de peso corporal, consumo de alimento y eficiencia) y los recuentos de coliformes fecales en lechones destetados, de 21 días de edad.

¿Cuáles fueron los controles?

Se utilizaron dos controles: un pienso sin suplementar y otro suplementado con sulfato de colistina.

¿Qué observaron?

Los cultivos de las tres bacterias lácticas sobrevivieron aceptablemente las condiciones simuladas del tracto gastrointestinal y además durante su almacenamiento con leche descremada a -20°C (durante 3 meses) y en el pienso (durante 7 días). Adicionalmente, las tres cepas produjeron elevados niveles de biomasa y productos de fermentación en un efluente de la industria alimentaria como el suero de leche.

¿Cuáles fueron las principales conclusiones?

En los experimentos con animales, el uso del antibiótico produjo los mejores resultados, sin embargo, los animales alimentados con los piensos probióticos exhibieron un incremento significativo ($P = 0,05$) en la ganancia de peso corporal, en el peso corporal final y en la reducción de coliformes totales ($P < 0,05$) en comparación con los cerdos no tratados.



GASPAR PÉREZ
Instituto de Agroquímica
y Tecnología de los Alimentos
(CSIC)

Gaspar Pérez, del Laboratorio de Bacterias Lácticas y Probióticos del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC) de Valencia, presentó el trabajo titulado “Estudio de la microbiota cecal y expresión génica tras el destete de conejos de granja sanos, con enteropatía mucoide y tratados con antibióticos”, una investigación en la que también han participado M. Carmen Collado, Christine Bäuerl, Manuel Zúñiga y Luis Izquierdo, del mismo centro, junto Enrique Blas, del Grupo de Investigación en Nutrición Animal, Ciencia y Tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia.

“La baja expresión de IL-2 implica muy baja respuesta inmune celular en conejos con EM”

¿Por qué surgió esta investigación?

La Enteropatía Mucoide (EM) es una enfermedad de etiología desconocida que se da en conejos normalmente tras el destete, si bien el tratamiento con antibióticos evita la aparición de la enfermedad.

¿Qué objetivos se proponían?

Este trabajo tenía el doble objetivo de aproximarnos al agente causal de la EM y de identificar bacterias típicas de animales sanos para su evaluación como posibles probióticos, siguiendo las recomendaciones de la FAO para reducir cualquier uso de antibióticos en granjas.

¿Cómo lo llevaron a cabo?

Para ello analizamos las poblaciones bacterianas del contenido cecal de 30 animales (10 sanos, 10 con EM y 10 sanos tratados con antibióticos) por pirosecuenciación del 16S rDNA, obteniendo unas 10000 secuencias identificadas (OTUs) por conejo.

¿Qué resultados observaron?

Se encontró una marcada disbiosis en animales con EM, detectándose bacterias fecales típicas de otros animales y humanas junto a una reducción del número de secuencias de géneros dominantes en sanos como *Alistipes* y *Ruminococcus*. No se hallaron diferencias entre sanos con o sin antibióticos. El análisis transcripcional de mucinas y citoquinas en ciego y apéndice por rt-qPCR, mostró una elevada expresión génica de casi todos los marcadores analizados en animales enfermos (excepto IL2 e IFN). Por análisis de covarianza, se han determinado dos patrones de expresión génica en los animales enfermos, tipo inflamatorio y tipo secretor de mucinas, correlacionados con diferentes grupos bacterianos y posiblemente correspondientes a diferentes fases de enfermedad.

¿Estos datos qué revelan?

Que la baja expresión de IL-2 implica que en los conejos con EM existe muy baja respuesta inmune celular e inducida, así como la definición de dos perfiles o fases bien diferenciadas de la enfermedad.



Patrocinadores:



Secretaría técnica:

